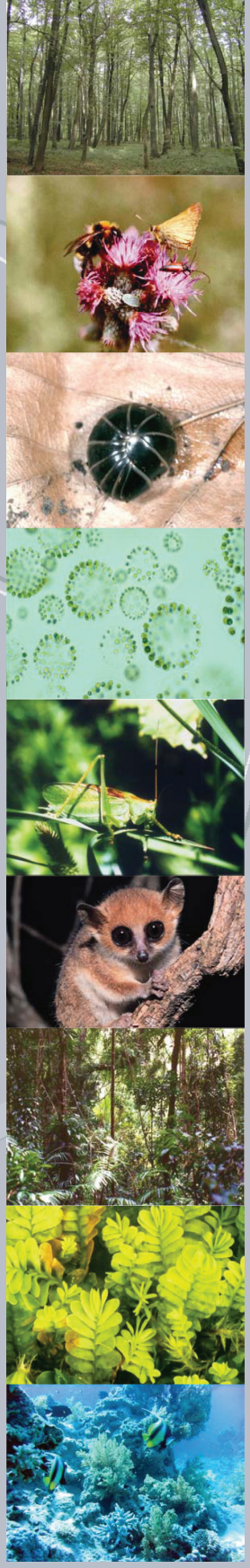
Göttingen Centre for Biodiversity and Ecology

Biodiversity and Ecology Series, A
Band 3

Christian Richter

Evolution isolierter Teilpopulationen der Laubholz-Säbelschrecke *Barbitistes serricauda* (FABRICIUS 1798)



Universitätsverlag Göttingen

Coloured cover images by Göttingen Centre for Biodiversity and Ecology
(legend top to bottom)

1 Mixed deciduous forest in the Hainich region (Central Germany)
2 Different insect taxa on the flowers of a thistle (*Cirsium* sp.)
3 *Glomeris* sp., a member of the decomposing soil fauna in forest ecosystems
4 *Pleodorina californica* (Chlorophyceae), colony-forming freshwater phytoplankton species
5 Grasshopper *Tettigonia cantans*, distributed from the Pyrenees to Northeastern China
6 *Microcebus berthae* (Cheirogaleidae), the smallest extant Primate species (Madagascar)
7 Tropical rain forest (Greater Daintree, Australia)
8 *Lethocolea glossophylla* (Acrobolbaceae), a liverwort of alpine mountain ranges in South America
9 Part of a coral reef in the Red Sea

Christian Richter

Evolution isolierter Teilpopulationen der Laubholz-Säbelschrecke
Barbitistes serricauda (FABRICIUS 1798)

This work is licensed under the
Creative Commons License 2.0 "by-nd",
allowing you to download, distribute and print the
document in a few copies for private or educational
use, given that the document stays unchanged
and the creator is mentioned.
You are not allowed to sell copies of the free version.

erschienen als Band 3 in der Reihe „Biodiversity and Ecology Series, Series A“
des Göttingen Centre for Biodiversity and Ecology
im Universitätsverlag Göttingen 2008

Christian Richter

Evolution isolierter Teilpopulationen der Laubholz-Säbelschrecke *Barbitistes serricauda* (FABRICIUS 1798)

Biodiversity and Ecology Series
Series A
Band 3

Universitätsverlag Göttingen
2008

Bibliographische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliographie; detaillierte bibliographische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Series Editor Dr. rer.nat. Dirk Gansert
Göttingen Centre for Biodiversity and Ecology,
Georg-August-Universität Göttingen,
www.biodiversitaet.gwdg.de

Anschrift des Autors
Christian Richter
e-mail: Richter-Ch@web.de

Dieses Buch ist auch als freie Onlineversion über die Homepage des Verlags sowie über den OPAC der Niedersächsischen Staats- und Universitätsbibliothek (http://www.sub.uni-goettingen.de) erreichbar und darf gelesen, heruntergeladen sowie als Privatkopie ausgedruckt werden. Es gelten die Lizenzbestimmungen der Onlineversion. Es ist nicht gestattet, Kopien oder gedruckte Fassungen der freien Onlineversion zu veräußern.

Satz und Layout: Christian Richter
Umschlaggestaltung: Jutta Pabst
Titelabbildung: privat

© 2008 Universitätsverlag Göttingen
http://univerlag.uni-goettingen.de
ISBN: 978-3-940344-57-1
ISSN: 1863-3935

Jedes legt noch schnell ein Ei,
Und dann kommt der Tod herbei.
Wilhelm Busch

Inhalt

Zusammenfassung IX
1 Einleitung 1
1.1 Stand der Forschung 4
1.2 Arten, Populationen und Individuen als Untersuchungsobjekte kausaler Evolutionsforschung 8
2 Material und Methoden 10
2. 1 Einrichtung der Zucht; Erfassen der Populationsgröße und des Populationsareals. 10
2.1.1 Entnahme der Populationen aus dem Freiland 10
2.1.2 Erfassung der Populationsgröße 10
2.1.3 Einrichtung der Zucht 11
2.1.4 Reproduktion 13
2.2 Überlebenswahrscheinlichkeit 15
2.2.1 Embryonalentwicklung 15
2.2.2 Postembryonale Entwicklung 16
2.3 Morphologische und biometrische Untersuchungen 17
2.4 Zeitintervalle des Werbegesangs 18
2.5 Partnerwahlversuche 19
2.6 Molekulargenetische Untersuchungen 21
2.6.1 Wahl der Analysemethoden 21
2.6.2 Chemikalien und Geräte 21
2.6.3 Untersuchte Tiere 24
2.6.4 DNA-Isolation 25
2.6.5 RAPD-Analyse 27
2.6.5.1RAPD-PCR 27
2.6.5.2 Gelelektrophorese 28
2.6.5.3 Reproduzierbarkeit 29
2.6.6 AFLP-Analyse 29
2.6.6.1 Adapterherstellung 29
2.6.6.2 Restriktionsverdau 30
2.6.6.3 Ligation 30
2.6.6.4 Präamplifikation 31
2.6.6.5 Selektive Amplifikation 33
2.6.7 Auswertung der RAPD-Bandenmuster 35
2.6.8 Auswertung der AFLP-Fragmente 36
2.6.9 Statistische Analysen 37
3 Ergebnisse 39
3.1 Populationsgrößen und Habitate von *B. serricauda* 39
3.1.1 Populationsgrößen 39
3.1.2 Populationsareal und Vegetation 44
3.2 Eiablage und Embryonalentwicklung 47
3.2.1 Reproduktionsraten der Freilandtiere 47
3.2.2 Absterberaten in der Embryonalentwicklung: F_1 48
3.2.3 Absterberaten in der Embryonalentwicklung: F_2 49
3.2.4 Absterberaten in der Embryonalentwicklung: F_3 50
3.2.5 Absterberaten der Inzuchtlinien 51
3.2.6 Absterberaten der Populationshybriden 52

3.2.7 Entwicklungsgeschwindigkeit und Zuchterfolg 53
3.2.8 Entwicklungsgeschwindigkeit in der Embryonalentwicklung einzelner Populationen 55
3.2.9 Entwicklung der Inzuchtlinien 91
3.2.10 Entwicklung der Populationshybriden 93
3.2.11 Entwicklungsgeschwindigkeit und Absterberaten in der Embryonalentwicklung: Parthenogenese 102
3.3 Postembryonalentwicklung 104
3.3.1 Schlupfraten 104
3.3.2 Postembryonale Entwicklung der Inzuchtlinien und Populationshybriden 109
3.3.3 Entwicklungsgeschwindigkeit 110
3.3.4 Entwicklungsgeschwindigkeit der Inzuchtlinien und Populationshybriden 111
3.4 Morphologische und biometrische Untersuchungen 111
3.4.1 Biometrie 111
3.4.2 Morphologie 120
3.5 Partnerwahlversuche 122
3.5.1 Präferenz der Weibchen im Mittel aller Populationen 122
3.5.2 Wahl einzelner Populationen 123
3.6 Untersuchungen zur Bioakustik 128
3.6.1 Bestimmung der Silben- und der Strophenlänge 128
3.6.2 Das Zeitintervall zwischen Silben 131
3.6.3 Das Zeitintervall zwischen Strophen 136
3.7 Molekulargenetische Analysen 141
3.7.1 DNA-Isolation 141
3.7.2 RAPD-PCR 141
3.7.3 Reproduzierbarkeit der RAPD-PCR 142
3.7.4 AFLP-Amplifikation 143
3.7.5 Distanzanalyse: Bandenmuster 145
3.7.6 Intrapopulationsanalyse 154
3.7.7 Distanzanalyse zwischen Populationen: Statistische Analyse 161
4 Diskussion 172
4.1 Populationsgenetik 172
4.1.1 Intrapopulationsanalyse 172
4.1.2 Distanz zwischen Populationen 175
4.1.3 *B. serricauda* und die Beziehung zur Gattung 177
4.1.4 Methodendiskussion zur Populationsgenetik 179
4.2 Embryonalentwicklung 181
4.3 Postembryonalentwicklung 186
4.4 Bioakustik 187
4.5 Partnerwahl 190
4.6 Biometrie und Morphologie 193
4.7 Habitat und Populationsstruktur 195
5 Literatur 205
Danksagung 219
Anhang *A*: 221

Zusammenfassung

Das von der flugunfähigen baumbewohnenden Laubholz-Säbelschrecke *Barbitistes serricauda* (Fabricius 1798) besiedelte Gebiet in Zentraleuropa wurde in prähistorischer Zeit durch die wahrscheinlich anthropogen begünstigte Ansiedlung der Rotbuche fragmentiert. Damit veränderte der Mensch nachhaltig den Lebensraum dieser Art, in der Dauer der Veränderung und ihrer Nachhaltigkeit geologischen Prozessen vergleichbar. Die wenig mobilen Tiere können die Rotbuche als Nahrungspflanze nicht nutzen. Populationen dieser Heuschrecke lassen sich daher nicht auffinden, wo die Rotbuche zur Dominanz gelangt ist. Diese Populationen zeichnen sich durch äußerst geringe Individuendichten – oft weniger als 15 Tiere – aus. Eine solche geringe Individuendichte kann über mehrere Generationen erhalten bleiben. Die populationsgenetische AFLP-Analyse wies für die mittlere Distanz zwischen diesen Populationen einen Wert von FST = 0,2486 auf. Ermittelte genetische Distanzen lagen zwischen einzelnen Populationen auf dem gleichen Niveau wie zwischen anderen *Barbitistes*-Arten; der FST-Wert für die Distanz zwischen *B. yersini* und *B. ocskayi* war 0,2733; die Distanz zwischen zwei *B. serricauda*-Populationen aus dem norddeutschen Raum erreichte einen Wert von 0,385. Zwischen der genetischen und der geographischen Distanz konnte kein Zusammenhang hergestellt werden. Als Ursache hierfür wird genetische Drift in den Populationen angenommen. Für die genetische Diversität innerhalb der Populationen (*hs*) konnte ein Wert von 0,2577 (AFLP-Daten) ermittelt werden. Außerdem wurde eine RAPD-Analyse durchgeführt, die sich als vergleichbar valide erwies. Bei unter standardisierten Bedingungen gezüchteten Filialgenerationen von 20 Populationen konnten signifikant unterschiedliche Beinlängen adulter Tiere gemessen werden, was, wie die Unterschiede im Ablauf der durch maternelle Einflüsse maßgeblich beeinflussten Embryonalentwicklung, auf Differenzierungsprozesse zwischen den lokal isolierten Populationen hindeutet. Die Folgen einer bei kleinen Populationen anzunehmenden Inzucht wurden mit Versuchen zur Überlebenswahrscheinlichkeit abgeschätzt. Dabei zeigten verschiedene Populationen eine sehr unterschiedliche relative Überlebensrate, was darauf schließen lässt, dass lediglich einige, aber nicht alle Populationen, mutmaßlich durch den eingeschränkten genetischen Austausch einem erhöhtem Aussterberisiko ausgesetzt sind, zumal in keiner Population Fehlbildungen in der postembryonalen Entwicklung zu beobachten waren. Unter gleichen Untersuchungsbedingungen wiesen im Labor erzeugte Populationshybriden, deren Eltern aus jeweils unterschiedlichen Teilpopulationen stammten, auf eine zwischen einzelnen Populationen im Entstehen begriffene postzygotische Isolation hin. Zuchtlinien, in denen gezielt Inzucht betrieben wurde, zeigten hingegen keine verminderte Fitness gegenüber den Kontrollzuchten. In Partnerwahlversuchen zum Präferenzverhalten der Weibchen konnte festgestellt werden, dass die Weibchen mehrheitlich das populationsfremde Männchen bevorzugen, d. h. dass die Wahl des Weibchens auf das genetisch andersartige Männchen gefallen ist,

wobei zu beobachten war, dass die eigentliche Auswahl erst bei direktem Kontakt der Tiere stattfand, hier also eine chemische Komponente bestimmend ist. Für einzelne Populationen konnten diesbezüglich unterschiedliche Befunde erhoben werden. Die bioakustischen Untersuchungen der Zeitmuster des Männchengesangs deuteten allerdings nicht auf eine sich entwickelnde präzygotische Isolation in Bezug auf das akustische Partnerfindungssystem zwischen Populationen hin.

Zwar führte die Fragmentierung des Habitats zu einer drastischen Einschränkung des genetischen Austausches zwischen Populationen dieser Heuschreckenart, die für sie günstige Lebensräume in kleinen Subpopulationen mit gelegentlichem genetischen Austausch bewohnt. Doch durch diese Isolation lokaler Vorkommen kam es zu Diversifizierungsprozessen, woraus eine große genetische Vielfalt innerhalb der Art resultiert, die schließlich in Speziation münden kann. Damit kann eine Habitatfragmentierung langfristig einen Beitrag zur Biodiversität liefern, auch wenn einige Populationen lokal aussterben. Eine positive Bewertung anthropogener Habitatfragmentierung ist in Einzelfällen also durchaus möglich, weil diese langfristig die gleichen Auswirkungen haben kann wie natürliche, etwa geologische Prozesse.

Summary

The central European area populated by the ratite bushcricket *Barbitistes serricauda* (Fabricius 1798) has been fragmented in Prehistoric times by the settling of the copper beech, which was presumably promoted by man. The specimen with low mobility cannot use the copper beech as a means of nourishment. Therefore populations of this type of bushcricket can only be found in places where the copper beech does not grow. These populations are characterized by an outstanding poverty in regard of the number of individuals – sometimes less than 15 specimen – that remains constant for any length of time. The AFLP-analysis of population genetics shows a value of FST = 0,2486 regarding the distance between populations. There was no obvious connection between genetical and geographic distance. In regard to the gene diversity between populations (*hs*) a value of 0,2577 (AFLP-Data) has been determined. Additionally a RAPD-analysis was performed, which was equally reliable to the AFLP-method. Filial generations of single populations that were bred under standartized conditions, showed significantly diverse lengths of leg. This indicates processes of differentiation in locally isolated populations, as do the differences in the progress of embryonic development influenced by endogenic factors of maternal origin. The consequences of supposable inbreeding within small populations were estimated by tests evaluating fitness, which disclosed several populations to have a very diverse relative rate of survival. This indicates that some, but not all of the populations live under an heightened threat of extinction, supposedly promoted by limited genetical exchange, since none of the populations examined showed

signs of malformation during postembryonic development. Population hybrids bred in the labratory under identical testing conditions, whose parents derived from different subpopulations, indicated a postzygotic isolation developing between several populations. Deliberately bred lines of inbreeds showed no signs of reduced fitness in comparison to control breeds. This strongly suggests that inbreeding depression within small local populations does not necessarily occur. When testing the females' preferences in mate choice it was observed that a majority of females prefer males alien to their own population, even if there was some diversity in the results concerning the different populations. In addition, tests regarding the specific temporal patterns of male calling songs did not indicate prezygotic isolation between populations.

The fragmentation of the habitat of *Barbitistes serricauda* did indeed lead to a drastic restriction of genetical exchange between single populations, but the isolation of local populations also led to processes of diversification within the population in general and generated a large genetical variation within the species, which in turn might result in speciation. Therefore, any fragmentation of habitat may contribute to biodiversity in the long run, even if some populations extinguish locally. Hence a positive evaluation of anthropogenic fragmentation of habitat is possible in some cases, since it may have the same results as processes of a natural, i. e. geologic kind.

1 Einleitung

Geographisch isolierte Populationen mit geringer Individuendichte sind in der Evolutionsbiologie von zentraler Bedeutung. Während solche Populationen in neuerer Zeit meist mit anthropogen induzierten Aussterbeprozessen in Zusammenhang gebracht werden (z. B. Henle et al. 2004), können sie andererseits auch der Ausgangspunkt allopatrischer Speziation (Mayr 1967) sein.

Durch die wahrscheinlich anthropogen begünstigte Ansiedlung der Rotbuche in Mitteleuropa wurde der Lebensraum der Laubholz-Säbelschrecke *Barbitistes serricauda* (Fabricius 1798), die in einem Verbund kleiner Subpopulationen mit nur gelegentlichem genetischen Austausch für sie günstige Habitate besiedelt, fragmentiert. Da die Rotbuche (*Fagus sylvatica*) von dieser flugunfähigen Laubheuschrecke als Nahrungspflanze nicht verwertet werden kann (Gottwald et al. 2002), kommt die Art überwiegend in lokal abgrenzbaren Subpopulationen mit geringer Individuendichte an Standorten vor, an denen die Rotbuche nicht flächig dominiert. Aufgrund einer geringen Tendenz zur Dispersion sowie oft großen Distanzen zwischen einzelnen, oft nur zwischen zehn und 30 Tiere umfassenden Teilpopulationen besonders in weitgehend geschlossenen Rotbuchenbeständen, kann davon ausgegangen werden, dass es sich um Kleinstpopulationen handelt, deren Individuen sich auf ein bis drei geeignete Nahrungspflanzen konzentrieren. Einige dieser Populationen leben möglicherweise seit vielen Generationen isoliert. Diese Populationen stehen somit im Spannungsfeld zwischen dem Prozess einer evolutionären Diversifizierung durch genetische Drift und der Möglichkeit des lokalen Aussterbens durch Inzuchtdepression (Futuyma 1990). Dass eine Verringerung der Abundanzen in Populationen, die mit einer Verkleinerung des Genpools einhergeht, in vielen Taxa in Zusammenhang gebracht wird mit einer verminderten biologischen Fitness durch Inzuchtdepression, zeigen z. B. Segelbacher et al. (2003) oder Johansson et al. (2007). Andererseits können solche Populationen Ausgangspunkt für Diversifizierungsprozesse sein, die schließlich als Speziationsprozesse angesprochen werden können, wie etwa Finston et al. (2007) oder Ólafsdóttir et al. (2007) beschreiben.

Während eine starke Verringerung der Individuendichte in isolierten Populationen meist nur ein kurzzeitiges geschichtliches Ereignis repräsentiert (Mayr 1967), bleibt bei *B. serricauda* eine geringe Individuendichte einzelner Teilpopulationen offenbar über längere Zeit erhalten. Dadurch muss angenommen werden, dass es zu

einem erheblichen Verlust der genetischen Variabilität in den Populationen kommt (Nei et al. 1975). Isolierte Populationen von *B. serricauda* können im Freiland jedoch anscheinend mit geringen Individuendichten über viele Jahre überleben. Die Konsequenzen, die sich aus dieser zentralen Beobachtung ergeben, wurden in der vorliegenden Arbeit in unterschiedlichen Ansätzen untersucht. Dabei wurde der Untersuchungsschwerpunkt auf Populationen aus dem norddeutschen Raum ausgerichtet. Hier erfolgte die historische Ausbreitung der Rotbuche besonders schnell und flächendeckend (Magri et al. 2006). Die Diversität der Habitate an Standorten, an denen die Rotbuche nicht zur Dominanz gelangt ist, wurde auch in den für die Untersuchung ausgewählten Populationen repräsentiert. Es konnten von Strätz & Schlumprecht (1999) auch für den süddeutschen Raum Vorkommen von *B. serricauda* in isolierten Populationen registriert werden.

Auf der Grundlage des im Freiland beobachteten räumlichen Verteilungsmusters sollte zunächst geklärt werden, ob es bei *B. serricauda* zu langjährig isolierten Subpopulationen gekommen ist. Dazu wurden zum einen die Verwandtschaftsverhältnisse zwischen einzelnen Individuen innerhalb isolierter Teilpopulationen und zum anderen die genetische Divergenz zwischen isolierten Teilpopulationen mittels molekularer DNA-Multilocus-Verfahren analysiert. Hierfür kamen aufgrund fehlender Sequenzinformationen nur anonyme Markersysteme in Frage. Durch die Generierung zweier voneinander unabhängiger Datensätze (durch eine RAPD- und eine AFLP-Analyse) ließen sich Daten zur Intrapopulationsanalyse absichern, deren Erhebung üblicherweise mit codominanten Markersystemen erfolgt. Die Ergebnisse zeigten, dass es unter der vergleichenden Einbeziehung anderer Arten der Gattung *Barbitistes* hinsichtlich ihrer genetischen Differenzen zueinander bei *B. serricauda* zu einem hohen Grad der Isolation einzelner Populationen gekommen ist. Die sich hieraus ergebenden Konsequenzen für Populationen der Art wurden auf verschiedenen Ebenen an Laborzuchten von 20 Populationen untersucht. Bioakustische Untersuchungen an den stridulierenden Männchen sollten zeigen, ob quantifizierbare Unterschiede im Zeitmuster des akustischen Partnerfindungssystems bestehen. Das Zeitmuster besitzt für die reproduktive Isolation besondere Bedeutung. Ergänzend dazu sollte bei einigen Populationen eine Untersuchung zum Präferenzverhalten der Weibchen bei der Partnerwahl über eventuell bereits im Entstehen begriffene prägame Isolationsbarrieren Aufschluss geben. Einer eventuell entstehenden postgamen Isolation wurde ebenso nachgegangen. Dazu wurden Versuche zur relativen Überlebenswahrscheinlichkeit von Populationshybriden im Verhältnis zu gezüchteten Populationen durchgeführt. Die Hypothese, dass Inzuchtdepression zu einer verminderten biologischen Fitness führt, wurde in Versuchen zur relativen Überlebenswahrscheinlichkeit der gezüchteten Populationen unter standardisierten Bedingungen überprüft. Vergleichende Untersuchungen der embryonalen und postembryonalen Entwicklungsgeschwindigkeit, der Repro-

duktionsraten und der Mortalität einzelner Teilpopulationen wurden durchgeführt, um mögliche Diversifizierungsprozesse zwischen den isolierten Populationen zu erfassen. Dazu wurden auch Tiere verschiedener Teilpopulationen, die unter standardisierten Bedingungen im Labor gezüchtet wurden, biometrisch und morphologisch untersucht. Die im Folgenden dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die Isolation zu Speziationsprozessen in Populationen von *B. serricauda* geführt hat.

Evolutionsprozesse in Populationen von *B. serricauda*, wie sie in der vorliegenden Arbeit festgestellt wurden, konnten auch in anderen Taxa, die etwa über einen vergleichbaren Zeitraum isoliert waren, beobachtet werden (Rudh et al. 2007). Dass bei Speziationsprozessen genetische Drift eine bedeutende Rolle spielt, sogar bei Populationen, die nicht durch fortdauernde geographische Barrieren voneinander getrennt sind, konnten Knowles & Richards (2005) zeigen.

Im Vordergrund stehen in dieser Arbeit also nicht die Auswirkungen einer Habitatfragmentierung in Bezug auf die Diversität der vorkommenden Arten (vgl. Watling & Donnelly 2006), sondern die langfristigen autökologischen Auswirkungen einer Habitatfragmentierung auf die Populationen einer Art. Unter der Berücksichtigung dass, wie eingangs erwähnt, diese Fragmentierung wahrscheinlich anthropogenen Ursprungs ist, ergab sich so die Möglichkeit, die Auswirkungen einer in vorgeschichtliche Zeit zurückreichenden menschlichen Veränderung der Umwelt auf eine Art untersuchen zu können. Dies kann die zwar schon umfangreiche Literatur zum Themenkomplex der anthropogenen Habitatfragmentierung sinnvoll ergänzen, da diese bisher nur die relativ kurzfristigen Auswirkungen auf Organismen untersucht (Ewers & Didham 2006).

1.1 Stand der Forschung

Im Folgenden soll ausschließlich der Stand der Forschung zu der untersuchten Art der Gattung *Barbitistes* (Phaneropterinae) zusammengefasst werden. Aus dieser Gattung kommen in Deutschland zwei arborikole Arten vor. Die Laubholz-Säbelschrecke *Barbitistes serricauda* (Fabricius 1798) und die Nadelholz-Säbelschrecke *Barbitistes constrictus* (Brunner Von Wattenwyl 1878). Letztere ist eine osteuropäische Art mit ihrer westlichen Verbreitungsgrenze im Thüringer Wald und im Bayrischen Wald. Köhler (1988) stellt die These auf, dass *B. serricauda* und *B. constrictus* Schwesterarten sind, deren Artaufspaltung ein- bis zwei Mio. Jahre zurückliegt und damit vor dem Pleistozän stattgefunden hat. Alle anderen Arten der Gattung besiedeln Gebiete Südeuropas: In Südwesteuropa schließt sich an das Verbreitungsgebiet von *B. serricauda* das Gebiet von *B. fischeri* an. Südlich des Alpenhauptkamms liegt das Verbreitungsgebiet von *B. obtusus*. Aus den Apenninen wurde 1993 von Galvagni & Fontana (1993) eine weitere Art, *B. vicetinus*, beschrieben. In Südosteuropa kommen schließlich noch *B. yersini*, *B. ocskayi* und *B. kaltenbachi* vor.

Die Laubholz-Säbelschrecke *B. serricauda* hat eine mitteleuropäische Verbreitung mit einem Verbreitungsschwerpunkt in der Bundesrepublik Deutschland (Abb. 1.2-1). Die Art ist in Deutschland weit verbreitet, aber nicht häufig. Meist existieren nur lokale individuenarme Populationen. Die nördliche Verbreitungsgrenze der Art liegt nach Literaturangaben etwa bei Hamburg (Maas et al. 2002). Die Ursachen für die beschriebene Bildung von isolierten Teilpopulationen im stark fragmentierten Lebensraum sind zum einen in der postglazialen Geschichte der Wiederbewaldung Mitteleuropas (**1**) und zum anderen in der Biologie der Art (**2**) zu finden. Die Isolation der Populationen durch starke Einschränkung oder durch Abbruch des genetischen Austausches wenigstens für einige Generationen dürfte als eine Konsequenz hieraus zu betrachten sein (**3**).

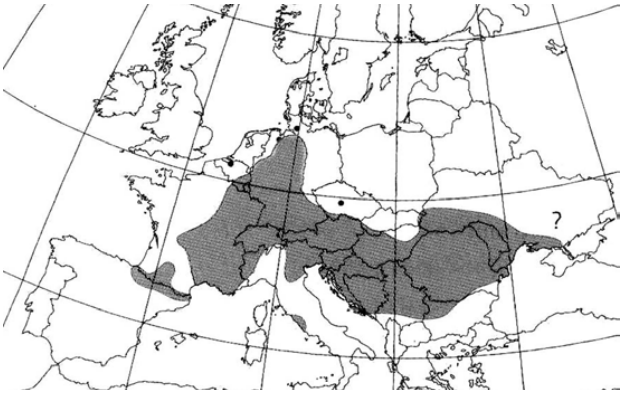


Abb. 1.2-1: Ungefähres Verbreitungsgebiet von *B. serricauda*. Verändert nach Kleukers et al. (1997)

(1) Nachdem gegen Ende des letzten Glazials das Festlandeis vor etwa 20000 Jahren seine größte Ausdehnung erreicht hatte, setzte vor 18000 Jahren ein allmählicher Temperaturanstieg ein. Vor etwa 10000 Jahren war ein Temperaturniveau in Mitteleuropa erreicht, welches dem heutigen vergleichbar ist. Während dieser spätglazialen Erwärmungsphase breiteten sich instabile Kiefern- und Birkenwälder aus. Mit dem Anstieg des Meeresspiegels um mehr als 100 Meter drang der Atlantik nach Osten vor und schnitt England vom Festland ab. Zugleich wurde der Bereich der heutigen Nordsee überflutet. Hierdurch wurden die vorherrschenden kontinentalen Klimaverhältnisse im westlichen Mitteleuropa durch ozeanische abgelöst. Damit einhergehend drang die Haselnuss von West nach Ost bis zu den Karpaten vor. Sie konnte die zuvor von Osten in Mitteleuropa eingewanderte, kontinentales Klima bevorzugende Fichte wieder zurückdrängen. Die Haselnuss, sowie die etwa zeitgleich sich ausbreitenden Eiche, Ulme, Esche und Linde verdrängten die Kiefernwälder (Lang 1994). Vor etwa 7000 Jahren begann die Rotbuche sich vom Südrand der Alpen und von den südlichen Mittelgebirgen nach Norden hin auszubreiten. Zeitgleich wurden die Menschen in diesem Gebiet sesshaft. Die Ausbreitung der Rotbuche wird im Zusammenhang mit den Rodungsaktivitäten des neolithischen Menschen gesehen (Küster 1996), da die Verdrängung anderer Baumarten durch die Rotbuche und die ersten Waldrodungen des Menschen etwa zeitgleich stattfanden. Die Rotbuche besiedelte zwar das Gebiet Mitteleuropas nördlich der Mittelgebirge auch in den Interglazialen des Pleistozäns, trat jedoch in diesen Warmphasen nur sporadisch auf. Im Holozän ist ein bemerkenswert großer zeitlicher Abstand zwischen dem ersten Auftreten der Art und ihrer Massenverbreitung mittels pollenanalytischer Methoden nachzuweisen. Dabei vollzog sich die Besiedlung des Gebietes in Mitteleuropa, besonders Mitteldeutschland, innerhalb eines sehr kurzen Zeitraumes (Magri et al. 2006). Es wird als wahrscheinlich angenommen, dass sich die Rotbuche mittelfristig auf den nach ihrer landwirtschaftlichen Nutzung aufgelassenen Flächen gegenüber den schon vorher in Mitteleuropa heimisch gewordenen Baumarten als konkurrenzstärker erwies (Küster 1996, Pott 2000). Ein anderer Erklärungsansatz sieht allein die klimatischen Bedingungen im Atlantikum als Ursache für die Ausbreitung der Rotbuche (Huntley et al. 1989). Dieser Ansatz steht allerdings im Widerspruch zum rezenten Ausbreitungsverhalten der Rotbuche an ihrer nordwestlichen Arealgrenze (Lang 1994).

Ein weiterer Aspekt, der die Verbreitung der „Wald-Art“ *B. serricauda* beeinflusst hat, ist neben der Rotbuche, deren Verbreitung wiederum sehr wahrscheinlich in unterschiedlicher Weise durch den Menschen beeinflusst wurde, die unterschiedlich intensive Nutzung der Landschaft durch den Menschen in der Zeit. Fortwährende anthropogen bedingte Wald- und Flurveränderungen in der Besiedlungsgeschichte

Mitteleuropas haben mit Sicherheit ebenfalls zur Fragmentierung des Habitats von *B. serricauda* beigetragen.

(2) Die eingangs erwähnte unterschiedliche Verbreitung von *B. serricauda* und *B. constrictus* ist mit Verweis auf die genutzten Nahrungspflanzen sowie die Temperaturpräferenzen der Arten zurückzuführen. Nach Ingrisch (1976, 1979) existiert für *B. serricauda* eine Bindung an Eichen-Hainbuchenwälder, die einerseits aus der Bevorzugung von Eichen- und Hainbuchenblättern als Nahrungspflanzen und andererseits aus der Bevorzugung rissiger Rinde (z. B. Eiche) als Eiablagesubstrat resultiert. Während Braun & Braun (1991) die Wärmebindung der Eichen-Mischwälder und Eichen-Hainbuchen-Mischwälder betonten, stuft Ingrisch (1981) die Bedeutung der Bindung an Waldstandorte für *Barbitistes serricauda* als wichtiger ein als die klimatischen Verhältnisse. Maas et al. (2002) geben als Habitat der Art Wälder, Waldränder, Brachen und gehölzreiche Heiden an, Hafner (1991, 1993) vernässte, lichte Nadelwälder. Asshoff & Amstutz (2004) konnten bei einer Untersuchung der Orthopterenfauna im Kronenbereich eines Mischwaldes *B. serricauda* am häufigsten auf Hainbuche (*Carpinus betulus*), nicht aber auf Rotbuche (*Fagus sylvatica*) nachweisen. Eine Zusammenfassung der Habitatangaben in der Bundesrepublik Deutschland findet sich bei Hafner & Zimmermann (1998), Köhler (2001) und Maas et al. (2002).

Nach Harz (1957) und Köhler (1988) bevorzugt die Art trockene, warme Lagen im Mittelgebirge. Hafner & Zimmermann (1998) beschreiben die Art als heliophile und thermo-mesohygrophile Art. Köhler (2001) bezeichnet *B. serricauda* als xerophil bis leicht mesophil. *B. serricauda* konnte (zumindest mit Blick auf die untersuchten norddeutschen Populationen) von Gottwald et al. (2002) als kühl-stenotherme Art eingestuft werden. Bereits Froehlich (1994) stellte aufgrund unterschiedlicher Angaben zum Wärmebedürfnis der Art fest, dass es sich bei *B. serricauda* möglicherweise um mehrere „Kryptospecies" handelt.

Zur Nahrungswahl von *B. serricauda* liegen mehrere Literaturangaben vor: Die Art ernährt sich beispielsweise von Ahorn-Arten (*Acer spec*), Hainbuche (*Carpinus betulus*), Haselnuss (*Corylus avellana*) und Stiel-Eiche (*Quercus robur*), aber auch von Rauhem Löwenzahn (*Leontodon hispidus*), Berg-Klee (*Trifolium montanum*) und Kleinem Wiesenknopf (*Sanguisorba minor*) (z. B. Bellmann 1993, Ingrisch 1976, Ramme 1920, Hafner & Zimmermann 1998). Gottwald et al. (2002) stellten fest, dass *B. serricauda* stirbt, wenn nur Rotbuche (*Fagus sylvatica*) als Futterpflanze angeboten wird. Krautige Pflanzen und junge Gehölze werden überwiegend von den Entwicklungsstadien gefressen, während die Adulti in der Strauch- und Baumschicht ihre Nahrungsquelle haben. Auch die Nadeln von Koniferen werden von *B. serricauda* als Nahrung akzeptiert (Zimmermann & Hafner 1991 und Zimmermann 1993), wobei

die Reproduktionsrate bei alleiniger Fütterung mit Nadelgehölzen vermindert ist (Richter 2001).

Maas et al. (2002) schätzen das Ausbreitungsverhalten der flugunfähigen Art als „mittel" ein und vermuten, dass die Larven wandern. Gottwald et al. (2002) geben für *Barbitistes serricauda* eine geringe horizontale Ausbreitungsfähigkeit an. Im Laufe der Entwicklung konnte eine vertikale Ortsveränderung bis in die Kronenschicht der Bäume beobachtet werden, während die horizontale Bewegung nur wenige Meter betrug. Ein Wechsel der Futterpflanzen in vertikaler Richtung erfolgt nur, wenn die jeweilige Sitz- und/oder Fraßpflanze zu den eher gemiedenen Arten gehört.

(3) *B. serricauda* ist an äußeren sowie inneren Waldrändern und auf Lichtungen nachzuweisen. Aber auch in Hochwäldern ist die Art zu finden. Die Waldgesellschaften können unterschiedlich zusammengesetzt sein. So wurde die Art in Eichen- Hainbuchenwäldern, in von Rotbuche dominierten Laub- Mischwaldgesellschaften, in Fichtenforsten und in Laub-/Nadel- Mischwäldern gefunden. In Laub-Mischwäldern gelangen die meisten Nachweise; in Rotbuchenwäldern konnten bei Auffinden der Art neben der Rotbuche immer auch andere Laubgehölze registriert werden. Wird die Kronenschicht ausschließlich von der Rotbuche gebildet, fehlt *B. serricauda* in diesem Lebensraum. In Fichtenforsten kam in der Strauchschicht stets auch Brombeere (*Rubus spec.*) vor, wenn *B. serricauda* gefunden wurde. Hecken oder schmale Waldstreifen werden erst nach mehreren Generationen nur von einzelnen Individuen besiedelt. Der Grund hierfür dürfte in der geringen Neigung zur horizontalen Dispersion der Entwicklungsstadien zu suchen sein. Eine Ausbreitung der Art erfolgt im Laufe der Individualentwicklung überwiegend vertikal bis in die Kronenschicht der Bäume, wo sich die meisten adulten Individuen aufhalten. Die Art konnte an einigen Stellen in der Kraut- und Strauchschicht von Hochwäldern oder inneren Waldrändern als einzige Heuschreckenart nachgewiesen werden (Gottwald et al. 2002). Diese Habitate waren stark beschattet und wurden selbst von der in Bezug auf Wärme und Sonneneinstrahlung wenig anspruchsvollen *Pholidoptera griseoaptera*, der Gemeinen Strauchschrecke, gemieden. Im selben Habitat wie *B. serricauda* konnte oft auch *Meconema thalassinum*, die Eichenschrecke, angetroffen werden. Diese Art wird von Ingrisch (1978, 1979) als kühl- stenothermer Reaktionstyp charakterisiert. Neuere Untersuchungen konnten zudem zeigen, dass Individuen dieser Heuschreckenart, anders als bei Gottwald et al. (2002) dargestellt, während der postembryonalen Entwicklung nie der direkten Sonneneinstrahlung ausgesetzt sein müssen. Auch eine Habitatbindung von *B. serricauda* durch die Wahl des Eiablagesubstrats, wie von Ingrisch (1976) beschrieben, konnte nicht bestätigt werden (Gottwald et al. 2002). So kann aufgrund der Biologie von *B. serricauda* angenommen werden, dass einige lokale Gebiete mit Teilpopulationen der Art bereits

seit vielen Generationen isoliert sind. Ein genetischer Austausch zwischen diesen Teilpopulationen scheint aufgrund ihrer Biologie unwahrscheinlich.

Diese isolierten Teilpopulationen von *B. serricauda* sind in den zum Teil verschiedenen Habitaten unterschiedlichen Selektionsprozessen ausgesetzt, verursacht etwa durch die Dominanz bestimmter (Nahrungs-) Pflanzen. Aber auch genetische Drift kann in solchen Kleinstpopulationen schnell zu Veränderungen des Genpools führen (Futuyma 1990). Schon Harz (1969) hebt die morphologische Variabilität von *Barbitistes serricauda* hervor, während Froehlich (1994) eine Vielfalt in den ökologischen Ansprüchen der Art betont.

1.2 Arten, Populationen und Individuen als Untersuchungsobjekte kausaler Evolutionsforschung

Die für das Verständnis von Diversifizierungsprozessen wichtige Frage, welches die Einheit ist, in der Evolution stattfindet, wird kontrovers diskutiert. Diskussionsbeiträge gehen dahin, die Art als die reale, „dingliche" Einheit der Natur zu betrachten, an der sich evolutive Veränderung zeigt (z. B. Willmann 2004). Werden aber die Spezies als selbstständige überindividuelle Einheiten begriffen – was ja beispielsweise die Debatte zur Artenvielfalt nahe legt (Janich & Weingarten 1998) – wird ihnen derselbe Wirklichkeitsgrad zugeschrieben, wie ihn die Individuen der Spezies annehmen. Diese Sichtweise ist jedoch der Untersuchung evolutionärer Abläufe, wie sie in der vorliegenden Arbeit durchgeführt wird, nicht angemessen. Die historische Evolutionsforschung nimmt eine weiträumige Perspektive auf abgeschlossene Prozesse ein und kann daher durchaus Veränderungen an ganzen Arten betrachten. Im Sinne eines Punktualismus (wie ihn etwa Eldredge & Gould 1972 vertreten) mag die Rekonstruktion von stammesgeschichtlichen Zusammenhängen sehr sinnvoll sein, da erst so eine Rekonstruktion der verwandtschaftlichen Verhältnisse der belebten Welt möglich wird. Die kausale Evolutionsforschung hingegen hat gerade kleinste Schritte der Evolution im Blick, die unterhalb der Artebene angesiedelt sind. Die Arten sind dieser Vorstellung folgend „äquivalente[n] Klassen natürlicher Einheiten" (Mahner 1998, Schmitt 1998, Ax 2000). Der evolutionäre Wandel ist ein kontinuierlicher, fließender und permanenter Prozess, also eine graduelle Veränderung von Varietäten (Darwin 1962). Der punktualistischen Sichtweise, dass in der Evolution Phasen der Stasis von Perioden starken Wandels abgelöst werden, kann nicht zugestimmt werden.

Problematisch wird es bei der Betrachtung von Populationen (oder Biopopulationen). Diesen wird von vielen Autoren ein „quasi-dinglicher" Charakter zugesprochen (z. B. Mahner 1998, Ax 2000, Mayr 2003), aber stets ohne dies hinreichend zu begründen. Auch Janich & Weingarten (1999) weisen auf Unklarheiten im Zusam-

menhang mit diesem Begriff hin. Es dürfte allerdings außer Frage stehen, dass sich Individuen mit gleichen Eigenschaften in einer Gruppe zusammenfinden, die dann eine reproduktive Isolation zu anderen im Habitat vorfindlichen Lebewesen aufzeigen kann. Hier wirken bei Betrachtung des Genpools der Population auf die Generationsfolge dieser Individuen dann auch unmittelbar die Mechanismen der Evolution ein. Die Notwendigkeit, hier das populationsgenetische Konzept vom Genpool anzuwenden, weist andererseits darauf hin, dass auch Populationen besser als wissenschaftliche Konzepte begriffen werden. Es steht daher außer Frage, dass Evolution eine Wirkung lediglich an der Generationsfolge der (einzig materiellen) Individuen zeitigt. Nur dies ist zu beobachten und zu analysieren. Wenn der Wissenschaftler von Arten, aber auch von Populationen spricht, verwendet er daher Bezeichnungen für ein kognitives Konzept davon, in welchen Einheiten Lebewesen zusammengefasst werden, die bestimmte Eigenschaften miteinander teilen (vgl. auch Rieppel 2007).

Eine gründlichere theoretische Fundierung dieser Überlegungen wäre sicherlich wünschenswert (hierzu auch Mahner 2005), da diese Frage in der zoologischen Literatur bisher noch wenig Niederschlag gefunden hat, obwohl jede Forschungsarbeit sich ihrer theoretischen Grundlagen bewusst sein muss. Für die vorliegende Arbeit soll das Gesagte aber ausreichen, da das primäre Interesse doch zoologischer und nicht wissenschaftstheoretischer Natur ist. Daneben ist die wiederum umfangreiche Diskussion der verschiedenen Artkonzepte (vgl. bspw. Bock 2003, Lee 2003) von den dargelegten Überlegungen nicht betroffen, da sie eine andere Fragestellung verfolgt.

2 Material und Methoden

2. 1 Einrichtung der Zucht; Erfassen der Populationsgröße und des Populationsareals

2.1.1 Entnahme der Populationen aus dem Freiland

Die Entnahmestandorte der in Zucht genommenen Populationen wurden danach ausgewählt, wo zuverlässig Tiere gefunden werden konnten. Den Untersuchungsschwerpunkt bildete der südniedersächsische Raum. Hier stellt die Rotbuche den dominierenden Laubbaum in den Wäldern dar. Somit sind Populationen von *B. serricauda* auf für die Rotbuche ungünstige Standorte beschränkt. Hierzu vergleichend wurden bekannte Habitate in Nord-, Mittel- und Süddeutschland aufgesucht.

Die ersten Entwicklungsstadien von *B. serricauda* können von etwa Ende April bis Mitte Juni im Freiland entnommen werden, da die Tiere in der Regel nur bis zum vierten_Entwicklungsstadium in der Strauchschicht zu finden sind. Später halten sich die Tiere, wie die Adulti, vorwiegend in den Baumkronen auf. Zwischen Ende April und Ende Mai 2003, sowie im gleichen Zeitraum 2004 erfolgte die Einrichtung von Laborzuchten verschiedener Teilpopulationen von *B. serricauda.* Es wurden insgesamt 20 Populationen in Zucht genommen.

Vergleichend wurden, v. a. für die populationsgenetischen Untersuchungen, noch weitere Tiere anderer *Barbitistes*-Arten gehältert. Tiere einer Population von *B. constrictus* wurden aus dem Thüringer Wald, Luiesentalsperre, in die Untersuchungen vergleichend einbezogen.Die Art *B. yersini* aus Südwestslowenien wurde von Herrn Prof. Dr. Stumpner zur Verfügung gestellt. Es konnte außerdem auf *B. ocskayi* (Nachzucht aus Südwestslowenien) aus der institutseigenen Zucht zurückgegriffen werden.

2.1.2 Erfassung der Populationsgröße

Aussagen bezüglich der Migrationsfähigkeit und Größe von Populationen, also der Möglichkeit eines genetischen Austauschs zwischen und der Diversität innerhalb von Populationen bei dieser die Baumkronen bewohnenden Art, können durch Markierungsversuche, wie sie z. B. bei Heller & v. Helversen (1990) durchgeführt wurden, nicht getroffen werden. Eine derartige „Fang-Wiederfang-Methode“ zur Bestimmung der Populationsgrößen ist bei dieser Art ungeeignet, da eine Markierung nur bei den Entwicklungsstadien praktikabel wäre, aber bei

günstigen (mikro-) klimatischen Bedingungen alle drei bis vier Tage Häutungen erfolgen. Daher war eine Modifizierung dieser „Fang-Wiederfang-Methode“ erforderlich: Da nur die Entwicklungsstadien in der Strauchschicht gefangen werden können, wurden die Tiere intensiv in einem Zeitraum gesucht, in sie sich etwa im zweiten bis vierten Entwicklungsstadium befanden. Bei wiederholten Begehungen wurden alle auffindbaren Tiere gesammelt.

Konnte eine Population in einem Gelände lokalisiert werden, wurde das Areal in einem Radius von 40-50 m um den Fundort auf weitere Tiere abgesucht. Die entsprechenden Areale wurden zur Kontrolle noch mehrmals nach wenigen Tagen wieder aufgesucht, um eventuell übersehene Tiere zu sammeln. Die Begehungen wurden solange wiederholt, bis nach mehreren Begehungen keine Tiere mehr gefunden werden konnten. Im Juli und August wurden die Habitate zudem mithilfe eines Ultraschalldetektors auf stridulierende Männchen verhört, sowie nach Weibchen abgesucht, die sich in Bodennähe aufhielten. Aus Labor- und Freilandbeobachtungen konnte abgeleitet werden, dass bei günstiger Witterung in den frühen Abendstunden alle adulten Männchen stridulieren. Hiermit sollte überprüft werden, ob Tiere übersehen worden sind. Auf diese Weise ließen sich allerdings nicht alle eventuell nicht registrierten Weibchen auffinden. Die Tendenz zur räumlichen Dispersion einer Population konnte auf diese Weise nicht erfasst werden. Hinweise hierauf lieferte die Untersuchung der dem Freiland entnommenen Tiere mittels genetischer Multi-Locus-Verfahren (Abschnitt 2.6).

2.1.3 Einrichtung der Zucht

Die dem Freiland entnommenen Tiere wurden nach ihrem Entnahmeort separiert, bis zum Adultus aufgezogen und verpaart. Die Zuchtpopulationen wurden mit Namen der ihrem Habitat nächstgelegenen Ortschaft oder der Bezeichnung des Geländes belegt. Der Schwerpunkt dieser Untersuchung lag im südniedersächsischen Raum. Die dem Freiland entnommenen Weibchen wurden einzeln gehältert und in jeder Population durchnummeriert. Vor der Ziffer kennzeichnete ein „W“ die Tiere als Wildfänge. Die erste Filialgeneration wurde in Gruppen zu je drei Weibchen gehalten. Diese Gruppen wurden durch ein „G“ vor der Ziffer gekennzeichnet. Die zweite Filialgeneration war durch den Buchstabenzusatz „FG“ zu unterscheiden. Um standardisierte Bedingungen zu schaffen, wurden die Tiere stets mit drei Nahrungspflanzen gefüttert, die zu den von ihnen bevorzugten Fraßpflanzen gehören (Gottwald et al. 2002): Himbeere (*Rubus spec.*), Haselnuss (*Corylus avellana*) und Feld-Ahorn (*Acer campestre*).

Als Zuchtbehälter wurden Aufbewahrungsbehälter vom Typ „Flaj“, Fa. Ikea (Maße: 44 cm x 25 cm x 25 cm) verwendet, die in der feinmechanischen Werkstatt des Zoologischen Instituts modifiziert wurden: Zur Belüftung wurden in die zwei Seitenteile Belüftungsgitter mit Fliegendraht (Maße: 10 cm x 20 cm) und in die Stirnseite als Öffnung ein verschließbares Loch (Ø 8,5 cm) eingearbeitet.

Da sich Zuchten von *B. serricauda* als anfällig für Infektionen durch Mermitiden und Mikrosporidien erwiesen hatten, welche über die als Futter verwendeten Pflanzen bzw. durch infizierte Tiere übertragen wurden, war es notwendig, die Nahrungspflanzen einer seit Jahren infektionsfreien Lokalität zwölf Kilometer nordwestlich von Göttingen (Knutbühren) zu entnehmen. Die Nahrungspflanzen waren im Zuchtbehälter in einem mit Wasser befüllten Gefäß aufgestellt und wurden regelmäßig durch frisches Material ersetzt. Pflanzen und Tiere wurden regelmäßig mit einer handelsüblichen Blumenspritze (Fa. Gardena) vorsichtig mit Wasser besprüht. Abiotische und biotische Parameter des jeweiligen Habitats der Populationen blieben unberücksichtigt, weil die relative biologische Fitness einzelner Populationen untereinander unter standardisierten Laborbedingungen verglichen werden sollte.

Als weitere Vergleichsgrundlage wurden Zuchten mit Populationshybriden etabliert. Für den ersten Zuchtstamm wurden jeweils ein adultes Männchen und ein adultes virginelles Weibchen verschiedener Populationen in einem Zuchtbehältnis zusammengesetzt. Es konnte damit gerechnet werden, dass es bei einer solchen Kombination unter Laborbedingungen zur Verpaarung kommt, da unter identischen Bedingungen auch die Kopulation von *B. constrictus*-Weibchen mit *B. serricauda*-Männchen erreicht werden konnte. Kam es zu einer Kopulation, bildeten die daraus erwachsenden Filialgenerationen eine möglichst heterogene Vergleichsgruppe zu den reinen Populationszuchten (Tab. 2.1-1 zeigt die Herkunftspopulationen der Elterntiere).

Tab. 2.1-1: Herkunft der Tiere, welche die Zuchtstämme der Populationshybriden bildeten.

Bezeichnung der F1-Populationshybriden	Herkunftspopulation des Weibchens	Herkunftspopulation des Männchens
Hybride 1	Bad Laer	Knutbühren
Hybride 2	Scheden	Hildesheim
Hybride 3	Weißwassertal	Ossenfeld I
Hybride 4	Groß-Ellershausen	Knutbühren
Hybride 5	Ludolfshausen	Bremke
Hybride 6	Ludolfshausen	Scheden
Hybride 7	Ebersberg	Oberkatzbach
Hybride 8	Oberkatzbach	Moosach
Hybride 9	Göttinger Wald	Oberkatzbach
Hybride 10	Ebersberg	Bad Laer
Hybride 11	Bad Lauterberg	Hasbruch
Hybride 12	Oberkatzbach	Bad Lauterberg
Hybride 13	Weißwassertal	Kaufunger Wald
Hybride 14	Oberkatzbach	Ludolfshausen
Hybride 15	Kaufunger Wald	Scheden

Die zweite und dritte Filialgeneration der Hybriden wurde, abhängig vom Zuchterfolg, wiederum untereinander gepaart, um die genetische Vielfalt zu erhöhen.

Die Populationshybriden, die aus den Partnerwahlversuchen hervorgegangen sind, wurden ebenfalls, allerdings nur zum Teil, bis zur zweiten Filialgeneration weitergezüchtet. Hier wurde auf eine erneute Einkreuzung anderer Populationshybride verzichtet.

Daraus ergab sich zum einen ein Zuchtstamm von Populationshybriden, die mit einer größtmöglichen genetischen Heterogenität Hinweise auf die relative Fitness der dazu im Verhältnis stark ingezüchteten reinen Populationszuchten liefern sollten. Dem gegenüber standen zum anderen einige hybride Nachkommen von Tieren unterschiedlicher Populationen, die innerhalb ihrer Population, allerdings ohne die gleichen Elterntiere zu haben, weitergezüchtet wurden. Dieser zweite Hybridenzuchtstamm sollte Hinweise auf die relative Fitness zu den genetisch homogenen reinen Populationen einerseits und den – oben beschriebenen – sehr heterogenen hybriden Population andererseits liefern. Insbesondere aber sollten hier exemplarisch mögliche Folgen des Zusammentreffens von Populationen, die möglicherweise längere Zeit räumlich getrennt waren, abgeschätzt werden. Darüber sollte die Reproduktionsfähigkeit der ersten Filialgeneration Aufschluss geben; der oben beschriebene erste Hybridenzuchtstamm war für eine diesbezügliche Untersuchung nur begrenzt geeignet, da in den Folgegenerationen die Linien der verschiedenen Populationshybriden miteinander gekreuzt wurden, um die Diversität mit jeder Filialgeneration zu erhöhen.

Neben den Populationshybriden wurden mit Tieren der Populationen *Groß-Ellershausen*, *Ludolfshausen*, *Knutbühren*, *Scheden* und *Bad Laer* auch Inzuchtlinien etabliert. Hier bildeten stets ein männliches und ein weibliches Tier, die von den gleichen Elterntieren abstammten, die Filialgeneration. Von der Art kann angenommen werden, dass es in Freilandpopulationen zu derartigen Inzuchtereignissen kommt, sodass diese Zuchtlinien Hinweise darauf liefern sollten, ob strikte Inzucht die relative Überlebenswahrscheinlichkeit von Populationen dieser Art im Vergleich zu den reinen Zuchten und den Populationshybriden reduziert.

2.1.4 Reproduktion

Den Weibchen stand als Eiablagesubstrat ein Styroporklotz zur Verfügung (Gottwald et al. 2002). Dieser Klotz wurde jeden Tag auf abgelegte Eier untersucht. Die Terrarien wurden ebenfalls täglich inspiziert, um auch eventuell anderweitig abgelegte Eier zu erfassen. Die Eier wurden in Petrischalen (Ø 14 cm, Fa. Greiner) nach ihrem Ablagetag sortiert und in entsprechende Felder in den Petrischalen eingeordnet. Dazu waren diese mittels einer kleineren Schale in ihrer Mitte und daran befestigten Styroporstreifen in acht etwa gleich große Felder unterteilt. Abgelegte Eier wurden zunächst aus dem Styropor, mit dem sie in der Regel mit einem Sekret vom Weibchen verklebt waren, vorsichtig heraus gebrochen und mit den noch anhaftenden Styroporresten in den Schalen in feuchtes Vermiculit gedrückt. Anschließend wurden die Eier in einer auf 25 °±1 °C temperierten Thermokammer gelagert. Die Feuchtigkeit konnte dann anhaftendes

Styropor ablösen, sodass es sich vor der Winterabkühlung entfernen ließ ohne die Eier zu beschädigen. Dabei wurden die Eier in eine vorbereitete Petrischale gegeben, deren Boden mit einer Schicht Vermiculit bedeckt war, auf die ein Filterpapier (MN 615, Fa. Macherey-Nagel) gelegt wurde. Die derart präparierten Aufbewahrungsbehältnisse (Abb: 2.1-1) wurden regelmäßig befeuchtet, da die Eier Wasser nur im direkten Kontakt aufnehmen können und nicht über die Luftfeuchtigkeit (Ingrisch 1986b). Sämtliche Eier wurden im wöchentlichen Abstand auf Verpilzung kontrolliert. Abgestorbene Eier wurden protokolliert und entfernt. Nötigenfalls wurden das darunter liegende Filterpapier und das Vermiculit ausgetauscht. Alle Eier wurden jedes Jahr Anfang Dezember mittels Binokular (Fa. Wild) auf ihren Entwicklungsstand untersucht, im jeweiligen Jahr abgelegte Eier mit einem Messokular vermessen.

Abb. 2.1-1: Für die langfristige Aufbewahrung der Eier vorbereitetes Behältnis.

Sowohl die Eier von Tieren einzelner Teilpopulationen als auch die bei Partnerwahlversuchen (Abschnitt 2.5) abgelegten Eier wurden jeweils in gekennzeichneten Gefäßen gesondert aufbewahrt. Nach der Ablage wurden zunächst die − in der Regel 30-50 − Eier eines Weibchens zur Beschleunigung der Embryonalentwicklung (welche im Freiland mindestens zwei bis drei Jahre dauert) bei 25 °±1 °C in einer Thermokammer gelagert. Ab Ende November bis etwa Ende April des folgenden Jahres wurde die Temperatur in der Thermokammer auf 4 °±1 °C abgesenkt. Zum Beginn der Vegetationsperiode, sobald die Vegetation soweit fortgeschritten war, dass genügend Futterpflanzen beschafft werden konnten, wurden die Eier dann eine Woche bei 15 °±1 °C in einer entsprechend temperierten Thermokammer gelagert. Danach schlüpften etwa eine Woche später bei Zimmertemperatur die Entwicklungsstadien. Die Individuen der Filialgenerationen wurden zu jeweils drei Weibchen pro Versuchsansatz zusammengefasst. Die abgelegten Eier konnten deshalb nicht einzelnen Individuen zugeord-

net werden. Hierdurch war es nicht möglich, die Reproduktionsraten, repräsentiert durch die Anzahl abgelegter Eier je Individuum, zu erfassen.

2.2 Überlebenswahrscheinlichkeit

2.2.1 Embryonalentwicklung

Die Hälterung der Eier erfolgte wie unter dem Punkt 2.1.3 beschrieben. So konnten weitgehend konstante mikroklimatische Bedingungen gewährleistet werden. Sowohl die isolierten Teilpopulationen untereinander als auch die Populationshybriden wurden bezüglich ihrer Embryonalentwicklung vergleichend betrachtet, um einerseits Hinweise für eine mögliche Inzuchtdepression (bzw. postzygotische Isolation bei den Populationshybriden) in einzelnen Teilpopulationen zu liefern. Zum anderen sollten die Populationen auf Unterschiede in Bezug auf die Embryonalentwicklung untersucht werden, um zu überprüfen, ob Indizien für eine Diversifikation vorlagen.

Die Zuchten der Teilpopulationen wurden hinsichtlich der pro Weibchen gelegten Eier (nur dem Freiland entnommene, separiert gehaltene Tiere), der Absterbe- und Schlupfraten unter standardisierten Bedingungen untersucht. Absterbe- und Schlupfraten wurden für jedes Untersuchungsjahr ins Verhältnis zur Gesamtzahl der abgelegten Eier gesetzt. Abgestorbene Eier ließen sich durch den Verlust der Osmoregulation und einsetzende Verpilzung im Inneren erkennen.

Die Entwicklungsgeschwindigkeit wurde zum einen anhand der Quote von in unterschiedlichen Stadien diapausierenden Embryonen bis zur ersten Abkühlungsperiode gemessen. Hier ließ sich der Einfluss des Ablagedatums auf die Entwicklungsgeschwindigkeit der Embryonen überprüfen. Zum anderen wurden die Anteile der unterschiedlichen Entwicklungsstadien bis zu drei Jahre nach Ablage der Eier protokolliert, um die Entwicklung der Embryonen zu erfassen, die mehrere Abkühlungsperioden bis zum Schlupf benötigen.

Der Entwicklungsstand der Embryonen lässt sich bei *B. serricauda* anhand des durch das Chorion hindurch scheinenden Augenflecks verfolgen. Die Eier der Zuchten wurden jedes Jahr während der Abkühlungsperiode untersucht. Hierzu wurde ein Binokular der Fa. Wild eingesetzt. Die Klassifikation des Entwicklungsstandes bzw. der Diapausestadien (Abb. 2.2-1) erfolgte nach Ingrisch (1984) und Hartley (1990).

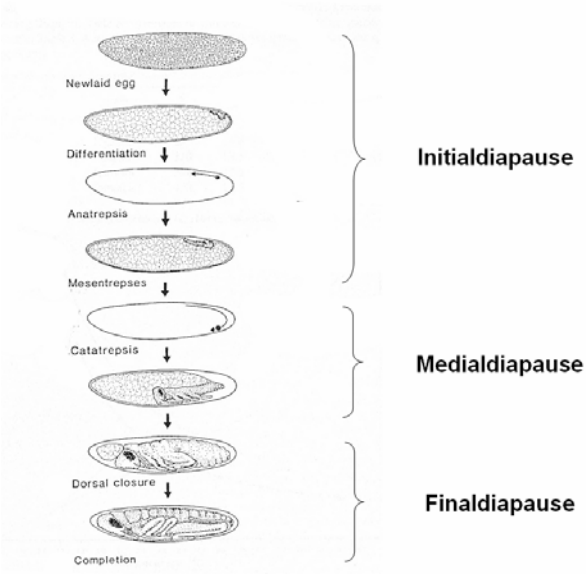


Abb. 2.2-1: Einteilung der Diapausestadien. Darstellung verändert nach Hartley (1990).

Da auch bei identischen Haltungsbedingungen der Eier im Labor nicht alle Embryonen ihre Entwicklung nach der ersten Abkühlungsperiode abgeschlossen haben und somit einen zwei- oder drei- jährigen Entwicklungszyklus benötigen, wurde auch hier die Entwicklung der nicht geschlüpften Embryonen in regelmäßigen Abständen bis zu drei Jahre lang nach Ablage der Eier kontrolliert.

In einigen Populationen wurde die Möglichkeit parthenogenetischer Reproduktion getestet, da angenommen wird, dass *B. serricauda*-Populationen sich durch sehr geringe Individuendichten auszeichnen und es denkbar wäre, in diesem Reproduktionsweg eine Option für sehr kleine Populationen zu sehen. Hierzu wurden Weibchen vor der Häutung zum Adultus separiert und bis zu ihrem Tode ohne Kontakt zu männlichen Tieren gehältert. Sämtliche Haltungsbedingungen entsprachen denen der anderen Populationszuchten.

2.2.2 Postembryonale Entwicklung

Neben einer vergleichenden Untersuchung der embryonalen Entwicklung wurden auch die postembryonale Entwicklungsgeschwindigkeit und die Überlebensraten nach dem Schlupf von Tieren einzelner Teilpopulationen vergleichend untersucht. Die Erfassung von Reproduktionsraten der dem Freiland entnommenen und einzeln gehälterten Tiere, sowie die Mortalität der Folgegenerationen sollten Aufschluss geben über die relative biologische Fitness der in Zucht genommenen Populationen. Die gleichen Untersuchungen wurden bei den experimentell erzeugten Populationshybriden durchgeführt.

Mit Beginn der Vegetationsperiode wurden unter standardisierten Bedingungen die F_1-Generation der im Vorjahr in Zucht genommenen Teilpopulationen sowie die erzeugten Populationshybriden auf die Überlebenswahrscheinlichkeit der Entwicklungsstadien hin überprüft. Hierzu wurde ein Aufzuchtbehälter (siehe Kapitel 2.1.3) mit der Nachkommenschaft eines jeden weiblichen Individuums der unterschiedlichen Teilpopulationen (bzw. der populationshybriden Nachkommen) besetzt; Sterbefälle wurden registriert. Kurz vor der Häutung zum Adultus wurden die Tiere nach Geschlechtern getrennt. Eine Woche nach der letzten Häutung wurden die Geschlechter für vier Tage zusammengesetzt. Voruntersuchungen hatten ergeben, dass bei beiden Geschlechtern ein Zeitraum von mindestens vier Tagen vergehen muss, bis es zu einer Kopulation kommen kann. Daher ist davon auszugehen, dass sich jedes Individuum in den vier Tagen des Zusammensetzens nur einmal verpaarte, es aber auch bedingt durch die vorherige Separation zu ausreichenden Verpaarungen kam, um bis zur folgenden Generation züchten zu können.

Nur in Populationen, in denen ausreichend Tiere zur Verfügung standen, wurde parallel zu den Versuchslinien zur relativen Überlebenswahrscheinlichkeit eine Gruppe mit jeweils einem männlichen und weiblichen Nachkommen von demselben Elternpaar als Inzuchtlinie gebildet.

Die Tiere wurden jährlich hinsichtlich ihrer Absterberaten bis zur Adulthäutung miteinander verglichen. Ähnliche Versuchsreihen wurden zur Überprüfung einer möglichen Inzuchtdepression beispielsweise auch von Saccheri et al. (1998) und Boake et al. (2003) durchgeführt. Aussagen zur absoluten Lebensspanne einzelner Individuen sind nicht möglich, weil durch die Haltung in Gruppen verendeten Tieren kein Schlupfdatum zugeordnet werden konnte.

In den Folgejahren erfolgte die Aufzucht der F_2- und F_3-Generationen der erfolgreich in Zucht genommenen Teilpopulationen (bzw. der Populationshybriden-Generation vom Vorjahr), sowie die Untersuchung dieser Tiere hinsichtlich ihrer biologischen Fitness. Nur bei einigen Populationen wurde die Zucht bis zur F_3-Generation fortgeführt, um die zu Vergleichszwecken gezüchtete Inzuchtlinie hinsichtlich ihrer biologischen Fitness bewerten zu können.

2.3 Morphologische und biometrische Untersuchungen

Die Erhebung biometrischer Daten von Tieren verschiedener Teilpopulationen von *B. serricauda* erfolgte an Tieren der unter standardisierten Bedingungen aufgezogenen F1-, F2-und F3-Generationen. Vermessen wurden nur Individuen aus den Versuchsansätzen zur Überlebenswahrscheinlichkeit der gezüchteten Populationen. Da die Tiere stets bis zu ihrem natürlichen Tode gehalten wurden, konnten in die biometrischen Untersuchungen nur solche Individuen einbezogen werden, deren Erhaltungszustand dies erlaubte, d. h. nicht alle gezüchteten Tiere konnten vermessen oder morphologisch untersucht werden. Die

Daten wurden mit einem Binokular der Fa. Wild, welches über ein Okular verfügt, das mit einer Messplatte ausgerüstet ist, erhoben.

Ein optisches Vermessen des Pronotums, der männlichen Cerci und des weiblichen Ovipositors wurde aufgrund der großen Messungenauigkeiten nicht durchgeführt. Diese Organe sind bei den Tieren individuell mehr oder weniger stark gekrümmt. Daher wurde die Erhebung biometrischer Daten von adulten Tieren der Zuchten auf das Ausmessen von Postfemur und -tibia beschränkt. Die zu vermessenden Körperteile wurden von den tiefgekühlt gelagerten Tieren zuvor abpräpariert und auf einer ebenen Platte ausgerichtet. So war eine eindeutige Längenbestimmung mit minimalen Messfehlern möglich.
Da eine Registrierung des Eigewichtes aufgrund anhaftender Reste des Ablagesubstrates nicht möglich ist, wurden die Eier ebenfalls optisch vermessen.

Die ermittelten Daten wurden in eine Tabelle (Excel XP, Fa. Microsoft) übertragen und mit einem zuvor ermittelten Umrechnungsfaktor wurde die tatsächliche Länge ermittelt. Alle gemessenen Daten gingen in die Berechnungen ein. Mithilfe des statistischen Programmpakets ANOVA wurde mittels einfaktorieller Varianzanalyse sowie dem Chi-Quadrat-Test eine statistische Auswertung der Messergebnisse vorgenommen. Das Signifikanzniveau wurde für alle statistischen Tests mittels einfaktorieller Varianzanalyse auf 0,01 festgesetzt. Den Tests lagen die Maßeinheiten der Messplatte zugrunde.

An den Tieren der erfolgreich in Zucht genommenen F1-Generation von *B. serricauda* erfolgten außerdem vergleichende Untersuchungen zur Morphologie, um zu überprüfen, ob Anzeichen einer morphologischen Diversifizierung zwischen isolierten Teilpopulationen feststellbar sind. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf Unterschiede in der Ausbildung der Subgenitalplatte, den Cerci des Männchens, den Thorakalsterniten und dem Pronotum gerichtet. Hierzu wurden Zeichnungen mithilfe des Zeiss Binokulars angefertigt.

2.4 Zeitintervalle des Werbegesangs

Im Sommer 2006 erfolgten Gesangsaufnahmen von nachgezüchteten Männchen verschiedener Teilpopulationen von *B. serricauda*. Ziel der Untersuchungen war es zu prüfen, ob quantifizierbare Unterschiede im Zeitmuster des Gesangs zwischen Individuen verschiedener Populationen größer sind als innerhalb einer Teilpopulation.

Zur Erfassung des zeitlichen Gesangsmusters diente das „Ultravox"-System der Firma Noldus Information Technology, welches aus den Hauptkomponenten Ultraschallfrequenzmodulator, Verstärker und PC-Software bestand.

Die zur Aufnahme des Gesangs ausgewählten Männchen wurden zunächst in einem auch zur Zucht verwendeten Behältnis separiert. Die Temperatur wurde dokumentiert. In dem Käfig befand sich als Sitzgelegenheit ein in einem Wassergefäß aufgestelltes Himbeerblatt. Der Käfig wurde von anderen Schallquellen weitestgehend abgeschirmt. In dem Käfig wurde der vordere Abschnitt vom

Schalltrichter des im „Ultravox"-System enthaltenen Ultraschallfrequenzmodulators fixiert. Die Signale des Geräts wurden über den Noldus-Verstärker direkt in einen PC eingespeist und mithilfe des Noldus-Programms aufgezeichnet und archiviert. Hierbei wurde jeweils die Zeitperiode vom Beginn eines akustischen Ereignisses bis zum Beginn des darauf folgenden akustischen Ereignisses in Millisekunden (ms) registriert. Die Dauer des akustischen Signals blieb unberücksichtigt.

Sobald ein separiertes Tier anfing zu singen, wurde die Aufnahme gestartet. Die Umgebungstemperatur wurde gemessen und mit den aufgenommenen Daten gespeichert. Die Daten konnten als Tabellen direkt in das Programm Excel zur weiteren Auswertung importiert werden. Von den Daten wurden Histogramme erstellt. Hierzu wurde eine Einteilung der aufgenommenen Daten in 40 Größenklassen bis zu 1000 ms festgelegt. Die Klassen waren in 25 ms Schritten gestaffelt. Dies gestattete eine graphische Darstellung der Ergebnisse sowohl für die Silben-, als auch für die Strophenintervalle in einem Histogramm. Da eine ausreichende Menge von Intervallen für eine quantifizierbare Auswertung protokolliert werden konnte, konnte die Auswertung durch die Berechnung der relativen Strophen- und Silbenintervalle erfolgen. Die Strophenintervalle wurden dann untereinander verglichen. Mit den Silbenintervallen wurde ebenso verfahren. Dadurch ließen sich Individuen und Populationen untereinander und miteinander vergleichen. Aufgenommen wurden nur Tiere der erfolgreich in Zucht genommenen Populationen.

Durch die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) wurde der Unterschied der für die untersuchten Populationen jeweils gemittelten Zeitintervalle mit einem Signifikanzniveau von 0.01 getestet.

2.5 Partnerwahlversuche

Die Partnerwahlversuche wurden mit Individuen ausgewählter Populationen durchgeführt. Grundlage für die Auswahl der Versuchskonstellationen bildeten zum einen die Ergebnisse der molekulargenetischen RAPD-Analyse, die im Vorfeld der AFLP-Analyse durchgeführt wurde. Zum anderen war allerdings die Anzahl möglicher Versuchskonstellationen durch die Verfügbarkeit einer ausreichenden Menge von Tieren der jeweiligen Nachzuchtpopulationen limitiert.

Es sollte überprüft werden, ob a) eine größere genetische Distanz oder b) eine größere räumliche Distanz der Herkunftsgebiete einen Einfluss auf das Präferenzverhalten des Weibchens bei der Partnerwahl hat und ob die Weibchen das Männchen der eigenen Population bevorzugt auswählen.

Das Paarungsverhalten von *Barbitistes serricauda* wird von Harz (1956, 1957) ausführlich beschrieben. Bei *B. serricauda* tritt, ähnlich wie bei anderen Phaneropteriden, bei den adulten Männchen ein Sekret aus einer Drüse dorsal im 2. Abdominalsegment aus, das während der Kopulation vom Weibchen gefressen wird. Jedoch konnte wiederholt beobachtet werden, dass Weibchen auch von

dem Sekret fraßen, ohne dass es hinterher zu einer Kopulation kam. Daher wurde es zur Gewinnung valider Daten als unerlässlich erachtet, den Tieren bei der Durchführung der Versuche den direkten Kontakt zu ermöglichen und die Untersuchung nicht darauf zu beschränken, auf welche akustischen Signale von zwei zur Auswahl stehenden Männchen ein Weibchen reagiert.

Die Weibchen wurden hierzu vor der Adulthäutung von den Männchen separiert, um sicherzustellen, dass keine bereits verpaarten Weibchen in diese Versuche einbezogen wurden. Grundsätzlich muss festgestellt werden, dass weibliche Tiere erst etwa eine Woche nach ihrer Häutung zum Adultus paarungsbereit sind. Zum Ende ihrer Lebensspanne nimmt die Paarungsbereitschaft wieder ab.

Kam es in einer Versuchsanordnung zu einer Verpaarung, wurde das Weibchen markiert und je nach ihrem gewählten Kopulationspartner in einem gesonderten Behältnis zur Eiablage (Abschnitt 2.1.4) gehältert. Da sich die Tiere selten ein zweites und nur ausnahmsweise ein drittes Mal verpaaren, war nach erfolgter Paarung ein weiterer Einsatz des Weibchens nicht sinnvoll. Versuchsweise wurden dennoch auch einige Weibchen nach etwa zwei Wochen wiederholt in eine vergleichbare Versuchsanordnung gesetzt. Dies sollte zeigen, ob gegebenenfalls das Individuum seine Wahl wiederholt.

Einem Weibchen wurden in einem etwa 30 Liter fassenden Behältnis, welches denen in der Zucht eingesetzten entsprach und mit einem in einem Wassergefäß aufgestellten Himbeerblatt eingerichtet war, zwei Männchen als Kopulationspartner angeboten. Eines der Männchen stammte aus derselben Teilpopulation wie das Weibchen, das andere aus einer geographisch entfernten. Die Männchen wurden ihrer Herkunftspopulation entsprechend markiert und vor jedem Versuch mit einer Feinwaage gewogen. Hierzu wurden die Tiere in zuvor gewogene 50 ml Schnappdeckelgläser gesetzt. Aus der Differenz von Gesamtgewicht und Glasgewicht ergab sich das Gewicht des gewogenen Tieres.

Die Verpaarung verlief selten direkt nach dem Zusammensetzen der Tiere, sondern zumeist über Nacht. Da der Spermatophylax, den das Weibchen nach der erfolgten Verpaarung zu fressen beginnt, mindestens zwölf Stunden am Weibchen angeheftet bleibt, konnte am Morgen des nächsten Tages die Kopulation registriert werden. Die Männchen in den Versuchsansätzen wurden in jedem Fall gewogen, auch wenn keine sichtbaren Anzeichen für eine erfolgte Verpaarung vorlagen. Grundlage der Auswertung bildeten allerdings nur Kopulationen, die zweifelsfrei feststellbar waren. Nach einer erfolgreichen Kopulation wurde der Geschlechtspartner des Weibchens über die Gewichtsdifferenz ermittelt, was aufgrund der Spermatophorengröße (bei *B. serricauda* etwa 10-15 % des Körpergewichts) möglich ist (Heller & v. Helversen 1991).

Die Partnerwahlversuche wurden nur mit Tieren der Populationen durchgeführt, deren Zucht so erfolgreich verlief, dass für diese Versuche Tiere in ausreichender Menge zur Verfügung standen. Es wurde angestrebt, Tiere aus Populationen derart in die Versuchsanordnung einzubringen, dass sich Kombinationen mit in der RAPD-Analyse errechneten genetischen Distanzen ergaben, deren

Wert höher als 0,16 lag. Ein Zusammenhang zwischen den Merkmalen Herkunftspopulation des Weibchens und Herkunftspopulation des Männchens in Bezug auf eine erfolgte Partnerwahl wurde mit dem Chi-Quadrat-Test überprüft.

2.6 Molekulargenetische Untersuchungen

2.6.1 Wahl der Analysemethoden

Da keine Informationen bezüglich des Erbgutes von *B. serricauda* vorliegen, konnten nur DNA-analytische Methoden eingesetzt werden, die kein Vorwissen über das Genom des Untersuchungsobjektes voraussetzen. Der Terminus „Fingerprint" für derartige Markersysteme wurde erstmals von Jeffrey et al. (1985) eingeführt.

Als Untersuchungsmethode wurde zunächst die RAPD-Analyse (Williams et al. 1990) gewählt. Diese kostengünstige Methode ist verhältnismäßig einfach durchzuführen. Sie beruht auf der Vervielfältigung (Amplifizierung) von Fragmenten des Genoms durch kurze Primer mit (meist) zehn Basenpaaren (bp) mittels PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Die Sequenz dieser Primer wird willkürlich gewählt; die Sequenzinformation der amplifizierten Fragmente ist unbekannt.

In einer erweiterten Erhebung erfolgte schließlich die Untersuchung des Genoms von *B. serricauda* mit der AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)-Analyse-Methode. Dieses von Vos et al. (1995) entwickelte Verfahren ist inzwischen eine bei Insekten etablierte Methode zur Untersuchung genetischer Unterschiede zwischen Teilpopulationen (z. B. David 2001, Reineke et al. 1999, Hawthorne & Via 2001). Die positiven Eigenschaften (hohe Reproduzierbarkeit) des RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*)-Analyseverfahrens, welches hier aufgrund der geringen Menge der Ausgangs-DNA der Heuschrecken nicht gewählt werden konnte und der RAPD-Analyse (Vervielfältigung mittels PCR-Verfahren) werden hier verbunden (Zebitz & Reineke 1999, Bensch & Åkesson 2005). Hinzu kommt, dass mittels AFLP-Analyse erhobene Daten an Aussagekraft bezüglich verwandtschaftlicher Verhältnisse auf Populationsebene vergleichbar sind mit den Daten eines erheblich aufwendigeren Vergleichs mithilfe des Mikrosatelliten-Verfahrens (Campbell et al. 2003), welches jedoch bei dieser Untersuchung aufgrund fehlender Sequenzinformationen nicht zur Anwendung kommen konnte.

2.6.2 Chemikalien und Geräte

Die molekularbiologischen Untersuchungen erfolgten am Tierärztlichen Institut der Universität Göttingen, Abteilung Molekularbiologie der Nutztiere.

Die für die DNA-Isolierung, die Gelelektrophorese und die molekulargenetischen Analysen eingesetzten Chemikalien sind in Tab. 2.6-1 aufgeführt. Alle verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien gehen aus Tab. 2.6-2 hervor.

Tab. 2.6-1: Verwendete Chemikalien

Reagenz	**Hersteller**
Tris	Roth, Karlsruhe
EDTA	Roth, Karlsruhe
NaCL	Roth, Karlsruhe
SDS	Roth, Karlsruhe
HCL	Merk, Darmstadt
Proteinase K	Appligene, Illkirch
Phenol	Roth, Karlsruhe
Chlorophorm	Roth, Karlsruhe
Ethanol	Roth, Karlsruhe
Agarose: Sea Kem LE	Biozym, Hessisch Oldendorf
Leiter	Invitrogen, Carlsbad
Glycerol	Merk, Darmstadt
Bromphenolblau	Merk, Darmstadt
Xylencyanol	Merk, Darmstadt
Ethidiumbromid	Serva, Heidelberg
Beads	Amersham Biosciences: PuRe Taq Ready-To-Go PCR Beads, Piscataway
Wasser	Delta Select: qua ad injectabilia, Dreieich
Standard für DNA-Sequenzierers	Applied Biosystems: ROX 500 Standard, Forster City
Formamid	Sigma, Deisenhofen
RAPD-Primer	MWG Biotech, Ebersberg
Emzyme	NEB, Ipswich
Taq, PCR-Puffer, BSA	Qiagen, Hilden
dNTP-Set	Qiagen, Hilden
T4 DNA Ligase, T4 DNA Ligase Puffer	NEB, Ipswich
AFLP-Adapteren	MWG Biotech, Ebersberg
AFLP-Primer	MWG Biotech, Ebersberg

Für die DNA-Isolierung und die Gelelektrophorese wurden Puffer in folgender Zusammensetzung eingesetzt:

Gewebelysispuffer:	10 mM Tris-HCL pH 7,5, 1 mM EDTA pH 8,0, 5 mM NaCl, 10 % SDS
10x TE Puffer:	100 mM Tris-HCL, 10 mM EDTA pH 8,0
10x TBE Puffer:	890 mM Tris-HCL, 890 mM Borsäure, 25 mM EDTA pH 8,3
Ladepuffer:	50 % Glycerol, 50 % 1x TBE, 0,25 % Bromphenolblau, 0,25 % Xylencyanol
Als DNA-Leiter wurde verwendet:	1000 µl Invitrogen Stock Loading dye 6x , 8000 µl 1x TE pH

Das für die Gelelektrophorese und den auf 1x verdünnten TBE-Puffer eingesetzte Wasser war ultrafiltriert und entmineralisiert.

Tab. 2.6-2: Geräte und Verbrauchsmaterialien

Gerät	**Hersteller und Ort**
DNA-Sequenzierer	Applied Biosystems: ABI 3100, Forster City
PCR-Gerät	Biometra: T Gradient, Biometra: T 3000, Göttingen
PCR-Gerät	Stratagene: Robo–Cycler Gradient 96, Cedar Creek
Photometer	Genequant (Biochrome): Pro DNA / RNA Calculator, Cambridge
Photometer	Nanodrop Technologies: ND-1000 Spectrometer, Wilmington
Zentrifuge	Eppendorf: 5417 C, Hamburg
Elektrophoresekammern	MWG Biotech, Ebersberg
Transformator	Pharmacia Fine Chemicals (Pfizer): Electrophoresis Constant Power Supply, ELPS 3000/150, Wien
Geldokumentationssystem	Stratagene: Eagle-Eye II, Cedar Creek
Autoklav	Schütt: Bioklav, Göttingen
Rührer	IKA Werke: RTC basic; Staufen
Durchmischungsgerät	Scientific Industries:Vortex Genie II, Bohemia
Waage	Satorius: BP-1200 Feinwaage, Göttingen
Wasserbad	GFL: 1083, Burgwedel
Kühlschrank	Siemens, München
Pipettenspitzen	Greiner bio-one: 0,1-2,5; 2-20; 20-200; 200-1000 µl, Kremsmünster
PCR-Reaktions-Einzelgefäße	VWR International/Nerbe Plus: 200 µl, 500 µl, 1,5ml, 2ml, Darmstadt
Mikrowelle	Panasonic Deutschl., Wiesbaden
Nitril Untersuchungshandschuhe	Kleiser medical Service: „Yellow Stile“, Meßkirch

2.6.3 Untersuchte Tiere

Ausgangsmaterial waren Wildfänge von *B. serricauda*, die auch die Laborzuchten begründeten. Während der Etablierungsphase wurde mit Tieren der Nachzucht gearbeitet. Die untersuchten Tiere der Art *B. serricauda* wurden unterschiedlichen lokalen Populationen entnommen. In der RAPD-Analyse wurden 124 Individuen beiderlei Geschlechts untersucht. Darunter waren 113 Individuen der Art *B. serricauda*, die 20 lokalen Populationen entnommen wurden. Zehn Populationen davon waren aus dem südniedersächsischen Raum, dazu kamen fünf weitere Populationen aus dem nord- und mitteldeutschen Raum, sowie fünf Populationen aus dem süddeutschen Raum. Weiterhin wurden fünf Individuen der Art *B. constrictus*, vier Individuen der Art *B. ocskayi* und zwei Individuen der Art *B. obtusus* in die Untersuchungen einbezogen, um errechnete Distanzwerte zwischen Populationen von *B. serricauda* anhand von Distanzwerten der Populationen zu anderen Arten der Gattung bewerten zu können.

In der AFLP-Analyse wurde der Pool der untersuchten Tiere auf insgesamt 208 Tiere erweitert. Es wurden 188 Tiere der Art *B. serricauda* aus 21 Populationen, drei Tiere der Art *B. obtusus*, fünf Tiere der Art *B. constrictus*, fünf Tiere der

Art *B. ocskayi*, sechs Tiere der Art *B. yersini* und ein Tier der Art *B. fischeri* herangezogen (Tab. 2.6-3). Neben den tabellarisch aufgeführten Tieren wurden noch insgesamt 20 Tiere aus Laborzuchten analysiert.

Tab. 2.6-3: Anzahl und Entnahmeort untersuchter Individuen in der RAPD-Analyse. Die Zahlen in Klammern geben die Gesamtzahl der Tiere an, falls in der AFLP-Analyse Tiere hinzugenommen wurden.

Population	**Individuenzahl n**
Bad Laer	5
Bad Lauterberg	4 (11)
Bremke	4 (10)
Göttinger Wald	7
Groß-Ellershausen	6
Hasbruch	7 (14)
Hildesheim	7
Kaufunger Wald	8
Knutbühren Bank	7(20)
Knutbühren Kreuzung	0 (13)
Ludolfshausen	6
Zwölfgehren	5
Ossenfeld I	5

Population	**Individuenzahl n**
Ossenfeld II	3 (4)
Scheden	8
Weißwassertal	7
Ebersberg Weg	5 (6)
Ebersberg Weiher	3
Moosach I	3
Moosach II	2
Oberkatzbach	8 (9)
Außerdem:	
B. constrictus	5 (9)
B. yersini	0 (6)
B. fischeri	0 (1)
B. obtusus	2 (3)
B. ocskayi	4 (6)

2.6.4 DNA-Isolation

Zur genetischen Analyse wurde nur Gewebe von Tieren verwendet, die zuvor den ausgewählten/untersuchten Habitaten im Freiland entnommen wurden. Eine Ausnahme bildeten hier die nur in der AFLP-Analyse untersuchten Tiere des F3-Inzuchtansatzes *Ludolfshausen*.

Die Heuschrecken wurden im Frühjahr als Entwicklungsstadien gesammelt und im Labor in separaten Aufzuchtbehältern (Abschnitt 2.1.3) zu Adulti herangezogen. Da diese Tiere den Grundstock für den Aufbau der Laborzucht bildeten, wurde das Gewebe erst nach deren natürlichem Tod entnommen. Sobald Tiere tot in den täglich kontrollierten Behältern aufgefunden wurden, wurden sie bei -20 °C tiefgefroren (einige Individuen wurden auch alternativ in 98,99 % unvergälltem Alkohol konserviert). Zur DNA-Extraktion diente, weil die Untersuchungen zur Biometrie bei den meisten Individuen noch nicht erfolgt war, der Kopf. Andernfalls wurde aus einem Postfemur die Muskulatur verwendet. Die abgetrennten Gewebeproben wurden in 2 ml-Reaktionsgefäße (alle im Folgenden verwendeten Reaktionsgefäße: Fa. VWR; Reaktionsgefäße, Pipettenspitzen:

Fa. Greiner bio-one) gegeben und mit einem Code versehen, der aus einer maximal dreistelligen Zahlen-/Buchstabenkombination besteht (Tab. 2.6*A*-1 für die RAPD-Analyse und 2.6*A*-2 für die AFLP-Analyse; Anhang *A*). Dies sollte verhindern, dass es durch undeutliche Beschriftung (etwa der kleinen 200 µl-Reaktionsgefäße) zu Verwechselungen kam. Mit diesem Code wurden vorbereitend zu jedem Arbeitsschritt Reaktionsgefäße entsprechend markiert. Wurde der Kopf für die Untersuchungen verwendet, wurde nach dem Abtrennen vom Rumpf zunächst der Proventriculus entfernt, um sicherzustellen, dass keine Fremd-DNA in den Aufreinigungsprozess eingeht. Von dem Femur konnte das Muskelgewebe am einfachsten entfernt werden, indem der proximale Teil des Postfemurs aufgetrennt wurde. Anschließend konnte das Gewebe schabend herausgedrückt werden. Kopf und Femurmuskulatur wurden auf einer Petrischale mit einem Skalpell unter sterilen Bedingungen zerkleinert. Die zerstoßene Gewebeprobe, die jeweils ein Gewicht von 10-20 µg aufwies, wurde in ein 1,5 ml-Reaktionsgefäß gegeben. Reaktionsgefäße und Pipettenspitzen wurden vor ihrem Einsatz autoklaviert (Autoklav: Bioklav, Fa. Schütt). Die Isolation der DNA erfolgte nach einem modifizierten Protokoll von Blin & Stafford (1976). Zu dem Gewebe wurden anschließend 350 µl Gewebelysispuffer und 100 µl Proteinase K (10 mg/ml) hinzugefügt. Der Ansatz inkubierte über Nacht bei 56 °C im Wasserbad (1083, Fa. GFL). Am folgenden Tag wurde jede Probe jeweils ein Reaktionsgefäß mit 500 µl Chlorophorm und ein Reaktionsgefäß mit 96 % unvergälltem Alkohol vorbereitet. Zum gelösten Gewebe wurden dann 500 µl Phenol hinzugegeben. Die Proben wurden anschließend durchmischt (Gerät: Vortex Genie II) und fünf min bei 14000 U/min zentrifugiert (Eppendorf 5417 C). Nun waren zwei Phasen deutlich voneinander getrennt. Die obere Phase wurde in das jeweils mit 500 µl Chlorophorm vorbereitete Reaktionsgefäß gegeben. Die Probe wurde durchmischt und fünf min bei 14000 U/min zentrifugiert. Anschließend wurde die nun sichtbare obere Phase in das mit Ethanol vorbereitete Reaktionsgefäß gegeben und vermischt. Hierauf fällt die in der Lösung befindliche DNA aus. Nach abermaligem Zentrifugieren der Probe bei 14000 U/min setzt sich die DNA am Boden des Gefäßes als Pellet ab. Das Ethanol konnte nun verworfen werden und die isolierte Erbsubstanz wurde an der Luft getrocknet bevor sie in 50 µl TE (Tris-EDTA) gelöst wurde. Mit einem Photometer wurde die DNA-Konzentration und der Grad der Verunreinigung (Quotient der gemessenen Wellenlänge λ bei 260 zu 280 nm) bestimmt, um zu ermitteln, welche Menge TE hinzu gegeben werden musste, um in jeder Probe eine Konzentration von etwa 100 ng/µl zu erhalten (Tabelle 3.7*A*-1; Anhang). Nach Verdünnung der DNA-Lösung wurde eine erneute Messung durchgeführt. Diese diente zur Überprüfung, ob die Konzentration etwa 100 ng/µl betrug. Die gelöste und verdünnte DNA wurde in einem handelsüblichen Kühlschrank bei etwa 4±1 °C über kürzere Zeiträume, sowie in einer Thermokammer bei – 20 °C über längere Zeiträume aufbewahrt.

2.6.5 RAPD-Analyse

2.6.5.1RAPD-PCR

Die PCR wurde in 200 µl-Reaktionsgefäßen durchgeführt und mit Beads (PuRe Taq Ready-To-Go PCR Beads, Amersham Biosciences) optimiert. Die Beads sind bestimmt für einen Lösungsansatz von 25 µl. Durch Halbierung der ursprünglich vorgesehenen Mengen konnte jedoch ein Gesamtvolumen des PCR-Ansatzes von 12,5 µl realisiert werden, ohne Einbußen in der Qualität hinnehmen zu müssen. Dazu wurde ein Master-Mix mit jeweils ½ Bead (als Berechnungsgrundlage), 11 µl Wasser (aqua ad injectabilia, Delta Select, Injektionsflasche zu 50 ml, Delta Select GmbH), 1 µl Primer (100 pmol) und 0,5 µl verdünnter DNA (50 ng) eingesetzt. Wurden zwei verschiedene Primer in einem Master-Mix eingesetzt, wurden von jedem Primer entsprechend 0,5 µl (50 pmol) verwendet.

Der PCR–Ansatz setzte sich bei der Verwendung nur eines Primers wie folgt für ein Tier zusammen:

1 µl Primer (100 pmol)
0,5 µl DNA (~ 50 ng)
½ Bead
11 µl Wasser

Bei der Verwendung von zwei Primern wurde der Ansatz dementsprechend abgewandelt:

0,5 µl Primer (50 pmol)
0,5 µl Primer (50 pmol)
0,5 µl DNA (~ 50 ng)
½ Bead
11 µl Wasser

Für die zu untersuchenden Tiere wurde ein Master-Mix hergestellt und auf zerstoßenem Eis bis zur vollständigen Auflösung der Beads gekühlt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz auf zuvor individuell gekennzeichnete und im Folgenden ebenfalls gekühlte Reaktionsgefäße mit dem Volumen von 200 µl verteilt. Diese wurden bis zum Einsetzen in das PCR-Gerät ebenfalls mit zerstoßenem Eis gekühlt. Anschließend wurde in jedes mit dem entsprechenden Code versehene Reaktionsgefäß 0,5 µl isolierte DNA hinzugegeben.

Als PCR-Gerät kam der Robo–Cycler Gradient 96, Stratagene zum Einsatz, auf dem das Verfahren optimiert wurde. Es wurde das nachfolgend aufgelistete Zeitprotokoll verwendet:

92 °C – 3 min
92 °C – 30 sec
35 °C – 60 sec } 34 Zyklen
72 °C – 60 sec
92 °C – 30 sec
35 °C – 60 sec
72 °C – 10 min

Während der Optimierungsphase wurden 15 Primer (Fa. MWG-Biotech) getestet, von denen neun Primer aufgrund der ausreichend großen Anzahl auswertbarer polymorpher Marker für die Untersuchung ausgewählt wurden (Tab. 2.6-4). Die Primer wurden einzeln, aber auch jeweils in Zweier-Kombinationen verwendet.

Tab. 2.6-4: In der RAPD-Analyse eingesetzte Primer

Name d. Primers (Fa. MWG)	Primersequenz (5´ - 3´)
GMS 1	AGC AAG CCG G
GMS 7	CAC GGC TGC G
GMS 13	TCG GCA CGC A
GMS 3	AAG CGT GCA A
GMS 12	ACC ACC CAC C
GMS 4	TTG CTG GGC G
GMS 5	CTG AGG TCT C
Cr1	GTG CAA TAC T
Cr2	ACT GCT GGT G

2.6.5.2 Gelelektrophorese

Das PCR-Produkt wurde auf ein Agarose-Gel (Agarose: Sea Kem LE, Fa. Biozym) mit einer 2 %igen Konzentration in 150 ml Volumen aufgetragen. In das noch flüssige Gel wurden, unmittelbar nach dem Aufkochen in einer handelsüblichen Mikrowelle, 5 µl Ethidiumbromid (10 µg/µl) zum Anfärben der DNA hinzugegeben. Auf ein Gel, welches stets mit einem Kamm für 20 Taschen gegossen wurde, sind nach dem Einbringen in die Elektrophoresekammer (Fa. MWG-Biotech; befüllt mit 1x TBE, Tris-Bohrsäure-EDTA) die äußere linke Tasche mit einer 100bp-Leiter (3,5 µl; Konzentration: 100 µg/µl), die äußere rechte Tasche mit einer 1kb-Leiter (Invitrogen) befüllt worden. Das PCR-Produkt (12,5 µl) wurde vor dem Auftragen mit 3 µl Ladepuffer beschwert und mit Hilfe einer Gilson-Pipette (2 – 20 µl) vermengt. Auf ein Gel wurden 13 µl je Probe aufgebracht. Die Proben wurden nach einem zuvor schriftlich fixierten Schema aufgetragen. Hierbei wurden die PCR-Produkte, welche durch den auf den verschließbaren Einzelreaktionsgefäßen angebrachten Buchstaben-/Zahlencode erkennbar jeweils die isolierte DNA eines Individuums repräsentieren, vor und nach dem

Aufbringen auf das Agarose-Gel abgeglichen. So konnte die Gefahr einer Verwechselung durch ständige Kontrollen minimiert werden. Nachdem das Agarose-Gel beladen war, wurde zunächst eine Spannung von 80 Volt (78 mA, 6 W) angelegt, um die Proben in das Gel hineinlaufen zu lassen (Transformator: Electrophoresis Constant Power Supply, ELPS 3000/150, Fa. Pharmacia Fine Chemicals). Nach zehn Minuten (min) wurde zur Beschleunigung des Vorgangs die Spannung auf 120 Volt (130 mA, 10 W) erhöht. Die Gesamtlaufzeit betrug jeweils etwa 2½ Stunden. Das Agarose-Gel wurde anschließend auf dem UV-Schirm eines Gelelektrophorese-Dokumentationsapparats (Eagle-Eye II, Fa. Stratagene) kontrolliert und fotografiert. Hier bestand die Möglichkeit, das Bild außerdem in digitalisierter Form abzuspeichern. Waren die Banden nicht klar zu erkennen, wurde das Gel für eine halbe Stunde in einem Ethidiumbromid (250 µg)-1x TBE-Bad nachgefärbt und vor dem Kontrollieren auf dem UV-Schirm nochmals etwa 20 min in 1x TBE gewaschen. Fotografierte und gespeicherte Gele erhielten einen Code, der sich aus der Nummer des am jeweiligen Tage fotografierten Gels, des verwendeten Primers und des Datums zusammensetzte. Die Beschriftung der Fotografien wurde mit dem Programm Microsoft Paint vorgenommen. Eine darüber hinausgehende Bearbeitung der Bilder erfolgte nicht.

2.6.5.3 Reproduzierbarkeit

Da in der Literatur mehrfach Bedenken bezüglich der Reproduzierbarkeit von RAPD-Bandenmustern (z. B. Behura 2006) geäußert werden, wurden Tests zur Reproduzierbarkeit der Fingerprints durchgeführt. Hierbei kamen neben dem Robo-Cycler Gradient 96, Stratagene noch T Gradient, Biometra und Biometra T 3000 zum Einsatz. Das Stratagene Gerät unterscheidet sich von den Biometra Geräten grundsätzlich in der Funktionsweise. Die Zeitintervalle zwischen den Zyklen und die Berechnung der einzelnen Reaktionsschritte unterscheiden sich maßgeblich. Dies führt bei dem Stratagene-Geräten zu einer wesentlich schnelleren Bewältigung des Gesamtprotokolls gegenüber den Geräten der Fa. Biometra. In allen Thermocyclern kam das gleiche o. g. Zeitprotokoll zum Einsatz. Es wurden außerdem Reaktionsgefäße unterschiedlicher Hersteller benutzt.

2.6.6 AFLP-Analyse

2.6.6.1 Adapterherstellung

In der AFLP-Analyse wurde zum Teil mit Beständen der DNA gearbeitet, die auch schon für die RAPD-Untersuchungen verwendet wurden. Zusätzlich wurden noch weitere Tiere in die Untersuchungen einbezogen.

Vorbereitend wurden im weiteren Verlauf benötigte Verdünnungen angesetzt:

Das in der Konzentration 1x vorliegende TE wurde auf 0,1x (=1:9) verdünnt. Die Adapteren (Fa. MWG; Tab. 2.5-5) mussten hergestellt werden. Da sie 1-

strängig vorliegen, wurden sie in einer „Touch-down-PCR“ zu doppelsträngigen Adapteren synthetisiert. Der vorbereitete Lösungsansatz wurde vor der PCR 30 min bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Das PCR-Protokoll zur Erstellung der doppelsträngigen Adapteren lautet:

95 °C
85 °C
65 °C
55 °C } je 10 min
45 °C
35 °C
25 °C
20 °C – 30 min

Die Konzentration wurde auf 100 pmol eingestellt. Schließlich wurde der Ansatz des EcoR1-Adapters auf 5 pmol und des Mse1-Adapters auf 50 pmol je Probe verdünnt.

Tab. 2.6-5: Sequenzen der Primer für die präselektive PCR

Adapter (Fa. MWG)	Sequenz (5´- 3´)
EcoRI-Adapter I	ATT TGG TAC GCA GTC
EcoRI-Adapter II	CTC GTA GAC TGC GTA CC
MSE-Adapter I	GAC GAT GAG TCC TGA
MSE-Adapter II	TAC TCA GGA CTC AT

2.6.6.2 Restriktionsverdau
Der Restriktionsverdau (Enzyme: Fa. NEB) erfolgte in einem Thermocycler T 3000 für 3 h bei 37 °C. Ansatz je Probe:

13 µl Wasser
2,5 µl EcoR1 Puffer 10x
2,5 µl BSA 10x (ggf. verdünnt)
1 µl EcoR1 (20 U)
1 µl Mse1 (10 U)
5 µl DNA (~ 500 ng)
∑ 25 µl

Die Enzymaktivität wurde anschließend bei 70 °C (15 min) gestoppt.

2.6.6.3 Ligation
Zum Restriktionsverdau wurden die vorbereitend angesetzten und auf die o. g. Konzentrationen eingestellten Adapteren in folgenden Lösungsansatz gegeben:

25 µl DNA-Verdau
1 µl Mse1-Adapter (50 pmol)
1 µl EcoR1-Adapter (5 pmol)
5µl T4 DNA Ligase Puffer (10x)
1 µl T4 DNA Ligase (400 U)
17 µl Wasser
∑ 50 µl

Der Ligationsansatz wurde bei 16 °±1 °C über Nacht inkubiert. Anschließend wurden 8 µl der Lösung entnommen und mit 2 µl Loading dye (Zusammensetzung vgl. RAPD-Analyse) vermischt. 8,5 µl der Lösung wurden auf ein 1 %-Agarose-Gel, welches mit 2,5 µl Ethidiumbromid (10 µg/µl) versetzt war, aufgetragen. Die verbliebenen 42 µl wurden, falls auf dem Agarose-Gel ein erfolgreicher Restriktionsverdau sichtbar war (Abb. 2.6-1), im Verhältnis 1:9 mit 0,1x TE verdünnt.

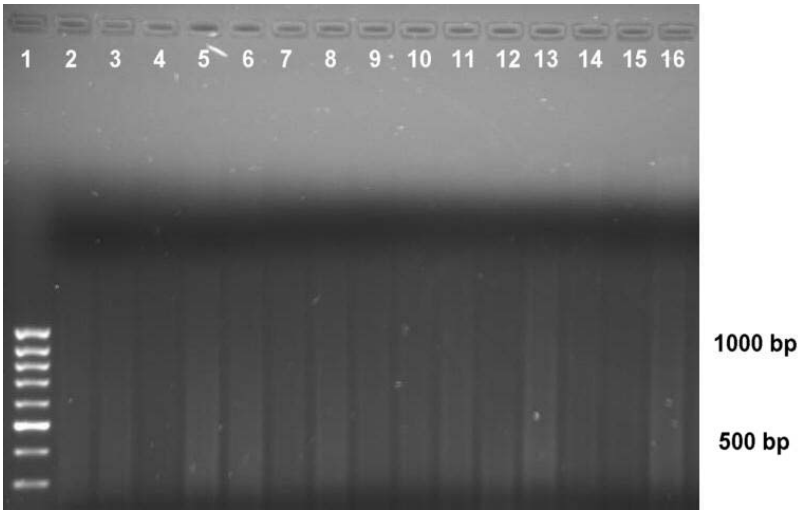


Abb. 2.6-1: Beispiel eines erfolgreichen Restriktionsverdaus bei Proben von Tieren der Populationen Hasbruch und Groß-Ellershausen. Unbearbeitete Gel-Elektrophorese-Fotografie:

Spur 1: 100 bp DNA-Größenmarker
Spuren 2-15: Individuen der Population *Hasbruch*
Spur 16: Individuum der Population *Groß-Ellershausen*.

2.6.6.4 Präamplifikation

Die Präamplifikation wurde in einem Gesamt-Reaktionsansatz von 50 µl auf zerstoßenem Eis angesetzt. Die verwendeten Primer (Tab. 2.6-6; jeweils als zusätzliche Base Cytosin) wurden in der Konzentration 100 pmol/µl eingesetzt.

Ansatz je Probe:

27,5 µl Wasser
10 µl Q-Solution
5 µl PCR-Puffer
1,5 µl dNTP (200 mmol)
0,25 µl EcoR1-core (25 pmol)
0,25 µl Mse1-core (25 pmol)
0,5 µl Taq-Polymerase (2,5 U, Fa. Qiagen)
5 µl DNA Ligationsansatz
∑ 50 µl

Tab. 2.6-6: Primer der präselektiven Amplifikation:

Primer (Fa. MWG)	Sequenz (5´- 3´)
EcoRI-core	GAC TGC GTA CAA ATT C
MSE-core	GAT GAG TCC TGA GTA AC

Das PCR-Protokoll der präselektiven Amplifikation lautet:

94 °C – 30 sec
56 °C – 30 sec } 20 Zyklen
72 °C – 60 sec

Nachdem die PCR beendet war, wurde der Ansatz auf 4 °C abgekühlt und anschließend im Kühlschrank bei 4 °±1 °C aufbewahrt. 10 µl des Ansatzes wurden abermals zu Kontrollzwecken auf ein 1 %-Agarose-Gel aufgetragen. Waren auf dem Agarose-Gel Amplifikate sichtbar (Abb. 2.6-2), wurden die verbleibenden 40 µl des PCR-Produkts mit 0,1x TE im Verhältnis 1:9 auf ein Endvolumen von insgesamt 400 µl verdünnt.

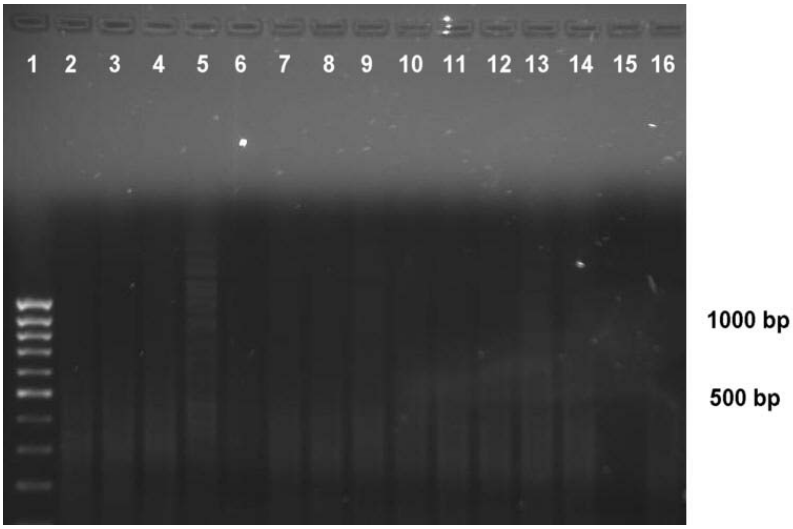


Abb. 2.6-2: Beispiel für eine erfolgreiche Präamplifikation isolierter DNA von Tieren der Populationen Göttingen und Groß-Ellershausen. Unbearbeitete Gel-Elektrophorese-Fotografie:

Spur 1: 100 bp DNA-Größenmarker
Spuren 2-8: Individuen der Population *Göttinger Wald*
Spuren 9-14: Individuen der Population *Groß-Ellershausen*
Spuren 15-16: Individuen der Population *Ludolfshausen.*

2.6.6.5 Selektive Amplifikation

In der selektiven Amplifikation wurden ausgewählte Fragmente der zuvor verdünnten DNA vervielfältigt. Die fluoreszenzmarkierten EcoR1+n Primer kamen in einer Konzentration von 5 pmol, die Mse1+n Primer in einer Konzentration von 25 pmol zum Einsatz. Die Reagenzien wurden während der Vorbereitungsphase auf Eis gekühlt.

Ansatz je Probe:

5 µl Wasser
4 µl Q-Solution
2 µl PCR-Puffer
1,5 µl dNTP (200 mmol)
1 µl EcoR1+n Primer (5 pmol)
1 µl Mse1+n Primer (25 pmol)
0,5µl Taq-Polymerase (2,5 U, Fa. Qiagen)
5 µl DNA Präselektive Amplifikation
∑ 20 µl

Das PCR-Protokoll der selektiven Amplifikation lautet:

94 °C – 30 sec 65 °C – 30 sec 72 °C – 60 sec	13 Zyklen; Reduktion der Annealing-Temperatur um 0,7 °C je Zyklus
94 °C – 30 sec 56 °C – 30 sec 72 °C – 60 sec	23 Zyklen

Zum Austesten der möglichen Primerkombinationen in der selektiven Amplifikation, die die höchste Anzahl an polymorphen Fragmenten ergab, wurden jeweils sechs Tiere unterschiedlicher Herkunft mit sechs fluoreszenzmarkierten EcoRI-Primern und zwölf MSE-Primern in insgesamt 36 Kombinationen (eingesetzte Primer: Tabelle 2.6-7) eingesetzt.

Um die Fragmentlängenmessung im DNA-Sequenzgerät durchführen zu können, musste vorbereitend das Lösungsmedium angesetzt werden. Hierzu wurden 1052 µl Formamid mit 48 µl Rox-500-Standard (Fa. Applied Biosystems) gemischt. Der Ansatz ist ausreichend, um in jeder Vertiefung der Trägerplatte 12,5 µl aufzunehmen. Von dem Amplifikat wurden nun dem Lösungsmedium zunächst 1,5-2,5 µl hinzugegeben und mit der Pipette vermischt. Nachdem alle Proben aufgebracht waren, wurde die Platte kurz zentrifugiert. Dann wurden die Proben zwei min bei 94 °C in einem Thermocycler (T Gradient, Fa. Biometra) denaturiert und sofort auf Eis abgekühlt, um ein erneutes Zusammenlagern der nun einzelsträngig vorliegenden DNA zu verhindern. Schließlich wurden die Fragmentlängen durch das automatische DNA-Sequenzgerät ABI 3100 (Fa. Applied Biosystems) ermittelt.

Mit den geeigneten Primerkombinationen (Tab. 2.6-8) wurde schließlich eine Fragmentlängenmessung für alle Tiere nach dem oben genannten Protokoll durchgeführt. Das PCR-Produkt wurde in der im vorhergehenden Test ermittelten günstigsten Konzentration zur Bestimmung der Fragmentlängenpolymorphismen eingesetzt.

Tab. 2.6-7: Getestete Primer in der selektiven PCR

Primer	Fluoreszenzmarkierung	Sequenz (5´- 3´)
EcoRI + 4	FAM	GAC TGC GTA CCA ATT CAG A
EcoRI + 3	HEX	GAC TGC GTA CCA ATT CAG
EcoRI + 2	FAM	GAC TGC GTA CCA ATT CA
EcoRI + 2	FAM	GAC TGC GTA CCA ATT CC
EcoRI + 2	HEX	GAC TGC GTA CCA ATT CG
EcoRI + 2	FAM	GAC TGC GTA CCA ATT CT
MSE + 4	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACA AG
MSE + 4	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACT GG
MSE + 4	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACG TC
MSE + 4	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACC TG
MSE + 3	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACT C
MSE + 3	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACA G
MSE + 3	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACA T
MSE + 3	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACC T
MSE + 2	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACG
MSE + 2	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACA
MSE + 2	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACT
MSE + 2	—	GAT GAG TCC TGA GTA ACC

Tab. 2.6-8: Ausgewählte Primerkombinationen in der selektiven PCR

EcoR1-Primer	Mse1-Primer	Kürzel der Kombination	Menge eingesetztes PCR-Produkt in µl	Anzahl auswertbarer Banden
-CAG	-CTGG	t	2,5	10
-CAG	-CAT	x	2,5	3
-CAG	-CA	z	1,5	7
-CA	-CTGG	k	1,5	18
-CA	-CGTC	l	1,5	29
-CA	-CG	p	2,5	6
-CG	-CTGG	a	2,5	14
-CG	-CAAG	b	2,5	2
-CC	-CAT	e	2,5	7
-CG	-CTC	d	2,5	5
-CG	-CGTC	c	2,5	5

2.6.7 Auswertung der RAPD-Bandenmuster

Die Auswertung der RAPD-Bandenmuster erfolgte manuell. Zunächst wurde geprüft, ob bei der eingesetzten Primerkombination (bzw. dem eingesetzten Primer) eine Amplifikation polymorpher Marker erreicht werden konnte. Die Fragmentgrößen wurden mit Hilfe der auf das Gel aufgetragenen Referenzgrößen abgeschätzt. Da die digitalisierten Fotos der Agarose-Gele ebenfalls (wie die darauf aufgebrachten Proben) chiffriert waren, war es nicht möglich, ein abgebildetes Bandenmuster einem Tier zuzuordnen, ohne die hierzu erforderlichen

Aufzeichnungen zu den Codierungen zu verwenden. Dies ermöglichte eine zunächst anonymisierte Auswertung der Bandenmuster. Die Daten wurden erhoben, indem das digitalisierte Bild mit dem Programm „Paint“ (Fa. Microsoft) zunächst auf einem 17“-Monitor vergrößert wurde. Hier wurden die Banden nach einem binären Schema in eine vorbereitete Tabelle auf ein Blatt Papier übertragen. Bei Bedarf wurde das Bild in der Helligkeit geändert. Die mit den Daten zu erstellende Tabelle (Programm „Excel“, Fa. Microsoft) enthielt zunächst nur die Angaben zum verwendeten Primer und die Nummer des ausgewerteten Gels. Sobald alle Gele vollständig ausgewertet waren, wurden die Daten für jede Spur den untersuchten Individuen zugeordnet. Diese Daten wurden zuerst in eine Tabelle des Programms „Excel XP“ übertragen. Dort wurden die Rohdaten dann so bearbeitet, dass sie mit entsprechenden Statistikprogrammen (Abschnitt 2.6.9) weiterverarbeitet werden konnten.

2.6.8 Auswertung der AFLP-Fragmente

Die Auftrennung der AFLP-Fragmente erfolgte mit dem ABI-Sequencer 3100 (Fa. Applied Biosystems). Mit den dazugehörigen Programmen „GeneScan“ und „Genotyper 3.7“ wurde die Auswertung der Daten durchgeführt.

Die einzelnen Primerkombinationen produzierten im Längenbereich von 50 bis 400 Basenpaaren bis zu 100 Fragmente, die durch das Programm Genotyper als „Plots“ visualisiert werden konnten (die im folgenden abgebildeten Läufe sind nicht nachträglich bearbeitete „screenshots“). Für die jeweiligen Primerkombinationen wurden Fragmentgrößenbereiche mit deutlich voneinander differenzierten polymorphen Fragmenten ausgewählt. In diesem Bereich wurden zunächst alle vorhandenen Fragmente mit einer automatischen Funktion des Programms durch Anzeigen ihrer Größe markiert. Dann wurde im Programm eine Tabelle vorhandener Fragmente für jedes untersuchte Individuum erstellt. Diese Tabelle konnte anschließend zur weiteren Verarbeitung in das Microsoft-Programm „Excel“ importiert werden. Die Werte wurden hier zunächst unter Zuhilfenahme eines Makros spaltenweise nach ihrer Größe sortiert und schließlich in eine binäre Matrix umgewandelt. Diese Matrix wurde dann wiederum mit der graphischen Darstellung der Bandenmuster durch das Programm „Genotyper“ verglichen. Dabei wurden Rundungsfehler beseitigt und Daten von Fragmenten, die sich als nicht polymorph erwiesen, aus der Tabelle entfernt. Schließlich wurden die Daten der Tiere, die für die Laboruntersuchungen codiert wurden, den entsprechenden Tieren und den dazugehörigen Populationen zugeordnet. Die so entstandene Datenmatrix bildete die Ausgangsbasis für die anschließenden statistischen Untersuchungen. Hierzu wurde die Datentabelle jeweils den Erfordernissen der weiter verwendeten Programme angepasst. Dazu mussten die Daten in die jeweils entsprechenden „Input files“ umgewandelt werden.

2.6.9 Statistische Analysen

Mit dem Programm „AFLP-SURV 1.0“ (Vekemans 2002) wurden Distanzwerte zwischen den untersuchten Populationen ermittelt. Zur Bewertung der erhaltenen Distanzwerte wurden in die Untersuchung Tiere anderer *Barbitistes*-Arten einbezogen. Kalkuliert wurden Distanzen nach Nei (Genetische Distanz), sowie die F_{ST}-Distanzen („Wright's fixation index“) mit einer 1000-fachen Permutationsrate.

Da bisher keine Informationen aus der Untersuchung mit codominanten Markersystemen vorliegen, wurde zur Ermittelung der genetischen Distanzen zwischen Populationen angenommen, dass sich diese im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befinden. Es wurden Distanzmatrizen mit 1000 Wiederholungen durch das „Bootstrapping“-Verfahren erstellt.

Da das Programm „AFLP-SURV 1.0“ als Betaversion angeboten wird, erfolgte eine Überprüfung der Ergebnisse durch einen zusätzlichen Testlauf der Ausgangsdaten mit dem Programm TFPGA (Miller 1997).

Die Daten aus dem Programm „AFLP-SURV 1.0“ wurden mit Programmen aus dem Programmpaket „Phylip 3.66“ (Felsenstein 2004) weiterbearbeitet. Zunächst wurden aus den Bootstrap-Datenmatrizen mit dem Programm „neighbor“ Dendrogramme erstellt. Mit dem Programm „consense“ wurde schließlich eine graphische Darstellung der errechneten Distanzwerte mit Bootstrap-Werten an den Verzweigungen der Äste desjenigen Baumes erreicht, der sich als Dendrogramm aus den häufigsten Verzweigungen der Testtopologien ergab.

Zur graphischen Darstellung von Distanzwerten zwischen Populationen wurden die jeweiligen Original-Datensätze als Matrizen mit dem Programm „MEGA 3.1“ (Kumar et al. 2004) aufbereitet. Dieses Programm ermöglicht die automatisierte Erstellung von Dendrogrammen auf der Basis eines „UPGMA“-, „Neighbour-Joining“- oder „Minimum Evolution“-Algorithmus.

Die Bewertung der Strukturen innerhalb von Populationen erfolgte mithilfe der Programme „Popgene 1.31“ (Yeh et al. 1997) und „Hickory 1.04“ (Holsinger & Lewis 2004).

Mit diesen Programmen wurden die Diversitätsindizes für Populationen von *B. serricauda* errechnet, von denen mehr als fünf Individuen in der Auswertung betrachtet wurden.

Da mit Programmen, die auf non-bayesianischer Statistik beruhen (wie z. B. „Popgene 1.31“), keine Kalkulation eines Inzuchtkoeffizienten in der Intrapopulationsanalyse basierend auf Daten, die durch dominante Markersysteme gewonnen wurden, möglich ist, wurde hierzu das auf der Grundlage bayesianischer Statistik arbeitende Programm „Hickory 1.04“ eingesetzt. Dieses Programm ermöglicht die Kalkulation eines Inzuchtkoeffizienten f (der Wrights F_{IS} entspricht) und von Theta-Werten (θ) entsprechend Neis genetischer Diversität *hs* innerhalb von Populationen. Über die Verlässlichkeit der gewonnenen f- und θ-Werte gibt der ebenfalls im Programm errechnete DIC (Deviance Information Criterion)-Wert Auskunft (Spiegelhalter et al. 2002). Die Statistik wurde mit den vorge-

schlagenen Ersatzwerten im Hickory-Block errechnet (set alphaF = 1.0 betaF = 1.0; set alphaTheta = 1.0 betaTheta = 1.0; set alphaPi = 1.0 betaPi = 1.0; set nBurn-in = 5000; set nSample = 25000; set thin = 5). Die Rechengänge wurden zur Konsistenzüberprüfung der Ergebnisse mehrfach wiederholt.

Um Rückschlüsse auf die Auswirkungen einer möglichen Inzucht bezüglich der Distanzwerte zwischen den Populationen ziehen zu können, wurde eine vergleichende Berechnung mit der Annahme angestellt, dass sich die untersuchten Populationen nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befinden. Zugrunde gelegt wurde hierbei der mit dem Programm „Hickory 1.04“ errechnete Inzuchtkoeffizient f.

3 Ergebnisse

3.1 Populationsgrößen und Habitate von *B. serricauda*

3.1.1 Populationsgrößen

Die Bestimmung der Populationsgrößen erfolgte jeweils im Frühjahr der Jahre 2003 bis 2007 durch wiederholte Begehungen bekannter Habitate und das Absammeln der aufgefundenen Individuen.

Selten konnten dabei mehr als 15 Exemplare pro Teilpopulation aufgefunden werden (Tab. 3.1-1; Tiere, die nicht als Entwicklungsstadien dem Habitat entnommen wurden, sind separat aufgeführt). Sämtliche Tiere befanden sich in einem Umkreis von wenigen Metern, oft auf ein oder zwei Holzgewächsen verteilt.

Die Habitatstruktur hat vermutlich einen Einfluss auf Populationsgröße und Verteilung (eine Kurzbeschreibung der Habitate: s.u.). Beispielsweise zeichneten sich die Fundorte *Hildesheim*, *Knutbühren* und *Scheden* durch eine schwach ausgebildete Krautschicht aus, die Fundorte *Göttinger Wald*, *Weißwassertal* und *Oberkatzbach* wiesen hingegen einen üppigen Krautschichtsaum vor den Gehölzen auf. Während bei den erstgenannten Fundorten die Tiere lediglich auf einer Fläche von etwa 4 – 5 m² zu finden waren, welche von zwei bis drei benachbarten Sträuchern (oft: Haselnuss, Feldahorn, Pfaffenhütchen) bestanden war, saßen bei den letztgenannten Fundorten die Tiere in der Krautschicht und waren hier aufgrund der fehlenden Sträucher etwas flächiger in der Krautschicht – v. a. Brennnessel – verstreut (auf bis zu ~25 m²).

Tab. 3.1-1: Den Habitaten entnommene Entwicklungsstadien und zusätzlich registrierte Tiere (Entnahmejahr in Klammern).

Entnahmeort	Anzahl entnommener Entwicklungsstadien	Anzahl zusätzlich registrierter Individuen
Knutbühren (2003)	9	1
Scheden (2003)	15	0
Ossenfeld I (2003)	7	0
Ossenfeld II (2003)	4	2
Bremke (2003)	3	0
Weißwassertal (2003)	2	0
Ludolfshausen (2003)	8	3
Groß-Ellershausen (2003)	8	2
Bad Lauterberg I (2004)	5	0
Bad Lauterberg II (2004)	4	1
Weißwassertal (2004)	9	2
Zwölfgehren (2004)	8	1
Bremke (2004)	1	0
Göttinger Wald (2004)	7	0
Knutbühren Bank (2006)	32	16
Knutbühren Kreuzung (2006)	15	0
Bremke (2006)	6	1
Bad Lauterberg I (2006)	7	0

Bei Populationen in *Knutbühren* konnte nach starkem Rückschnitt der Vegetation im Zuge eines Waldsaumrückschnittes im Winter 2004/05 im Frühjahr 2005 zunächst keine Veränderung der Populationsgröße registriert werden. Im Frühjahr 2006 stiegen allerdings in abgrenzbaren Subpopulationen die Individuenzahlen sprunghaft auf bis zu 43 Individuen an.

Im Freiland konnte dabei das im Labor ermittelte Geschlechterverhältnis von etwa 1:1 (Wörner 1995) auch bei Tieren, die sich bereits im dritten bis fünften Entwicklungsstadium befanden und somit bereits einem Feinddruck ausgesetzt waren, in 13 Teilpopulationen, deren Herkunftshabitat wiederholt begangen wurde, weitgehend bestätigt werden (Tab. 3.1-2).

Tab. 3.1-2: Ermitteltes Geschlechterverhältnis von dem Freiland entnommenen Tieren im ersten Entnahmejahr.

Population	**Geschlechterverhältnis ♀:♂**
Bad Lauterberg	1:1
Bremke	1:1
Göttinger Wald	1:1,33
Groß-Ellershausen	1:1,25
Hildesheim	1:0,75
Kaufunger Wald	1:1
Knutbühren	1:0,50
Ludolfshausen	1:3
Ossenfeld I	1:1
Ossenfeld II	1:1
Scheden	1:1
Weißwassertal	1:1,25
Zwölfgehren	1:1

Die für die Untersuchung gesammelten Populationen verteilten sich wie folgt auf den Skalenebenen: Im Jahr 2003 wurden auf Ebene der Mesoskala sechs Populationen in Zucht genommen. Hinzu kamen auf Ebene der Mikroskala eine Population (*Ossenfeld II*) und auf Ebene der Makroskala zwei Populationen. Im Jahr 2004 konnten auf der Ebene der Mesoskala weitere drei Populationen aus dem südniedersächsischen Raum erfolgreich in Zucht genommen werden. Aus dem Nord- und Mitteldeutschen Raum kamen auf der Ebene der Makroskala weitere vier, aus dem Süddeutschen Raum weitere fünf Populationen hinzu. Diese beinhalten insgesamt vier Populationen auf der Ebene der Mikroskala (zwei Populationen vom Standort Ebersberg, zwei Populationen vom Standort Moosach; Abb. 3.1-1; Matrix der geographischen Distanzen im Anhang *A* Tab. 3.1*A*-1).

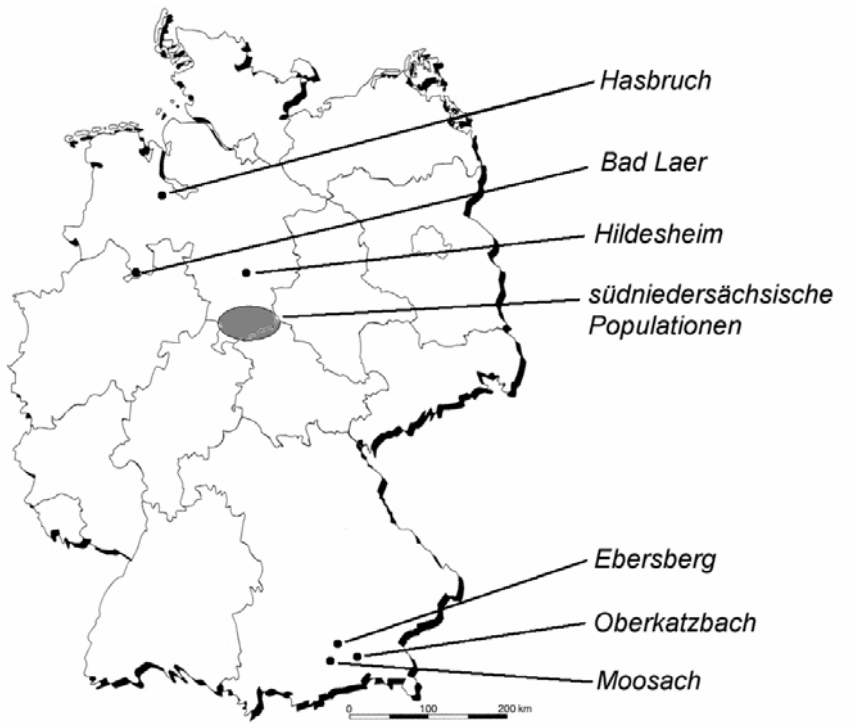


Abb. 3.1-1: Herkunft der untersuchten Populationen; Standorte südniedersächsischer Populationen werden gesondert dargestellt.

Aus dem südniedersächsischen Raum (Abb. 3.1-2) wurden Tiere aus Populationen folgender Lokalitäten bis zum Adultus herangezogen und zur Zucht verwendet:

- *Bad Lauterberg*: 3 Männchen, 2 Weibchen
- *Bremke*: 2 Männchen, 2 Weibchen
- *Göttinger Wald*: 3 Männchen, 4 Weibchen
- *Groß-Ellershausen*: 4 Männchen, 5 Weibchen
- *Hildesheim*: 4 Männchen, 3 Weibchen
- *Kaufunger Wald*: 6 Männchen, 6 Weibchen
- *Knutbühren-Kreuzung*: 6 Männchen, 3 Weibchen
- *Ludolfshausen*: 2 Männchen, 6 Weibchen
- *Ossenfeld I*: 3 Männchen, 3 Weibchen
- *Ossenfeld II*: 2 Männchen, 2 Weibchen
- *Scheden*: 4 Männchen, 5 Weibchen
- *Weißwassertal*: 5 Männchen, 4 Weibchen
- *Zwölfgehren*: 4 Männchen, 4 Weibchen

Abb. 3.1-2: Fundorte der Populationen aus dem südniedersächsischen Raum: Landkreis Göttingen (Waldgebiete grau). Nicht dargestellt ist der Fundort *Bad Lauterberg*, im östlich angrenzenden Landkreis Osterode am Harz gelegen (Abb. verändert nach Gottwald et al. 2002).

Aus dem Oldenburger Land konnte eine Population gesammelt werden:

- *Hasbruch*: 4 Männchen, 5 Weibchen

Aus dem Alpenvorland kamen Tiere aus fünf Populationen hinzu:

- *Oberkatzbach*: 10 Männchen, 12 Weibchen
- *Moosach I*: 3 Männchen, 1 Weibchen
- *Moosach II*: 1 Männchen, 1 Weibchen
- *Ebersberg Wegrand*: 1 Männchen, 4 Weibchen
- *Ebersberg Weiher*: 5 Männchen, 3 Weibchen

Dabei entspricht das Geschlechterverhältnis in etwa dem der Gesamtzahl der dem Freiland entnommenen Tiere einer Population. Aus allen Populationen wurden von verpaarten Weibchen Eier abgelegt. Über die erste Filialgeneration hinaus konnte aber nur erfolgreich mit den Populationen *Ebersberg Weiher*, *Hasbruch*, *Scheden*, *Ossenfeld I*, *Ossenfeld II*, *Ludolfshausen*, *Knutbühren*, *Hildesheim*, *Groß-Ellershausen*, *Göttinger Wald*, *Bremke* und *Bad Lauterberg* gezüchtet werden. Von diesen Populationen wiesen die Populationen *Bremke*, *Göttinger Wald*, *Hildesheim* und in der ersten Filialgeneration *Ebersberg Wegrand*, *Oberkatzbach*, *Kaufunger Wald*, *Zwölfgehren* und *Weißwassertal* so geringe Reproduktionsraten auf, dass Tiere dieser Populationen nur eingeschränkt in die Untersuchungen eingebunden werden konnten.

Da auch bei identischen Haltungsbedingungen der Eier nicht alle Embryonen ihre Entwicklung nach der ersten Abkühlungsperiode abgeschlossen hatten und somit auch unter Laborbedingungen einen mehrjährigen Entwicklungszyklus besitzen können, war es erforderlich, die Entwicklung der nicht geschlüpften Embryonen in regelmäßigen Abständen über mehrere Jahre zu beobachten. Durch diesen Umstand verteilte sich der Schlupf einer Filialgeneration über mehrere Jahre. Im Sommer 2004 erfolgte die Zucht einer F_1-Generation

der im Sommer 2003 gesammelten Tiere. 2005 wurde die F_1-Generation der 2004 in Zucht genommenen Tiere, sowie die F_1- und F_2-Generation der 2003 in Zucht genommenen Tiere untersucht. Im Sommer 2006 wurden entsprechend Tiere von drei Filialgenerationen gezüchtet.

3.1.2 Populationsareal und Vegetation

Für die Populationen, die für die Untersuchungen herangezogen wurden, werden im Folgenden die Herkunftshabitate kurz beschrieben.

Populationen, die aus dem südniedersächsischen Raum für die Untersuchungen herangezogen wurden:

Bad Lauterberg:
Südwesthang; Hochwald, Eichen-Hainbuchen-Mischwald (*Carpinion*), einzelne Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Feldahorn (*Acer campestre*) und Sal-Weiden (*Salix caprea*), Brombeere (*Rubus spec.*). Sitzpflanzen: Brombeere, Feldahorn, Sal-Weide, Hainbuche (*Carpinus betulus*). Die Tiere verteilten sich auf nahe beieinander stehende Pflanzen (~ 10 m²).

Bremke:
Hochwald; Waldschneise, Rotbuchenmischwald (*Fagion*): Eschen (*Fraxinus excelsior*), Hainbuchen, Sal-Weide; dichter Unterwuchs: Brombeere, Echtes/Kleinblütiges Springkraut (*Impatiens noli-tangere/ Impatiens parviflora*), Waldziest (*Stachys sylvatica*), Brennnessel (*Urtica dioica*). Sitzpflanzen: Brombeere, Hainbuche, Waldziest, Brennnessel. Tiere verteilt über den Wegrand (~ 20 m²).

Göttinger Wald:
Westhang; Waldrand, Eichen – Hainbuchen Mischwald, einzelne Rotbuchen, Eschen; dichter Unterwuchs: Brombeere, flächiger Bestand mit Brennnessel. Sitzpflanzen: Brombeere, Brennnessel. Tiere zumeist auf Brennnessel flächig verteilt (~ 20 m²).

Groß-Ellershausen:
Hochwald, Eichen – Hainbuchen Mischwald, einzelne Rotbuchen, Feldahorn, schwach ausgeprägte Krautschicht: Brombeere im Unterwuchs. Sitzpflanzen: Brombeere, Feldahorn. Die Tiere flächig zumeist auf Brombeere verteilt (~ 20 m²).

Knutbühren:
Südostlage; Waldrand, Eichen-Hainbuchen Mischwald, einzelne Rotbuchen, Feld-, Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*), Esche, Haselnuss (*Corylus avellana*); reich strukturierter Unterwuchs: Jungbäume, Pfaffenhütchen (*Euonymus europaea*), Brombeere, Sal-Weide. Sitzpflanzen: Brombeere, Feldahorn, Hainbuche, Hasel-

nuss, Waldrebe (*Clematis vitalba*), Pfaffenhütchen, Berberitze (*Berberis vulgaris*). Aufgrund des reich strukturierten Habitats mit günstigen Nahrungspflanzen waren die Tiere flächig verteilt. Es waren jedoch Ansammlungen von Tieren auf wenigen – ca. zehn Quadratmeter großen – Flächen abzugrenzen, die durch Flächen ohne Tiere voneinander isoliert waren.

Ludolfshausen:
Ostlage; Waldrand, Eichen-Hainbuchen Mischwald mit Fichtenbestand, Brombeere im Unterwuchs. Sitzpflanze: Brombeere. Tiere zumeist auf Brombeere flächig verteilt (~ 20 m²).

Ossenfeld I:
Hochwald, Eichen-Hainbuchen Mischwald, einzelne Rotbuchen, Jungbäume im Unterwuchs, keine Krautschicht. Sitzpflanzen: Bergahorn, Hainbuche. Tiere auf jungem Bergahorn flächig verteilt (~ 10 m²).

Ossenfeld II:
Westlage; Waldrand, Eichen-Hainbuchen Mischwald, einzelne Rotbuchen, Eschen, Haselnuss. Sitzpflanzen: Brombeere, Esche, Haselnuss. Tiere auf zwei neben einander stehenden Pflanzen (~ 5 m²).

Scheden:
Westlage; Waldrand, keine Krautschicht. Sitzpflanzen: Feldahorn, Haselnuss. Tiere auf zwei neben einander stehenden Pflanzen (~ 5 m²).

Weißwassertal:
Südostlage; Waldrand, Eichen-Hainbuchen Mischwald: Sal-Weide, Feld- und Bergahorn, Strauchschicht reich strukturiert: Pfaffenhütchen, flächiger Bestand mit Brennnesseln. Sitzpflanzen: Brombeere, Sal-Weide, Haselnuss, Brennnessel. Tiere zumeist auf Brennnessel flächig verteilt (~ 20 m²).

Zwölfgehren:
Südlage; Waldrand, Eichen-Hainbuchen Mischwald, Feld- und Bergahorn, Brombeere. Sitzpflanzen: Brombeere, Feldahorn. Tiere auf wenigen, nahe beieinander stehenden Pflanzen (~ 5 m²).

Kaufunger Wald:
Hochwald; Waldweg, Eichen-Hainbuchen Mischwald, einzelne Rotbuchen. Sitzpflanzen: Brombeere, Brennnessel, Hainbuche. Tiere auf Brennnessel und Brombeere flächig verteilt (~ 20 m²).

Habitatbeschreibung der Populationen, die aus dem nördlichen bzw. nordwestlichen Raum sowie dem Bördenbereich Niedersachsens für die Untersuchungen herangezogen wurden:

Bad Laer:
Südwestlage; lichter Hochwald, Rotbuchen, Eichen (*Quercus spec.*), Feldahorn. Brombeere, Brennnessel. Sitzpflanzen: Brombeere, Feldahorn, Hainbuche. Tiere im strukturierten Unterwuchs flächig verstreut (~ 20 m²).

Hildesheim:
Hochwald; Waldschneise, Eichen-Hainbuchen Mischwald, einzelne Sommerlinden (*Tilia platyphyllos*), Jungbäume im Unterwuchs, keine Krautschicht. Sitzpflanzen: Brombeere, Haselnuss. Tiere verteilten sich auf zwei nahe beieinander stehende Pflanzen (~ 5 m²).

Hasbruch:
Südostlage; Hochwald, angepflanzte junge Rotbuchen, Eichen. Brombeere, Brennnessel. Sitzpflanzen: Brombeere, Hainbuche, Haselnuss (~ 30 m²).

Habitatbeschreibung der Populationen, die aus dem Alpenvorland für die Untersuchungen herangezogen wurden:

Oberkatzbach:
Südlage; Waldrand, reich strukturierter Bestand mit Eichen, Hainbuchen, Feldahorn, flächiger Unterwuchs mit Brennnesseln. Sitzpflanzen: Brombeere, Brennnessel. Tiere zumeist auf Brennnesseln flächig verteilt (~ 25 m²).

Moosach I:
Südlage; Waldrand. Sitzpflanzen: Feldahorn, Hainbuche, Pfaffenhütchen. Es konnten nur wenige Tiere auf etwa fünf m² in diesem Habitat aufgefunden werden.

Moosach II:
Ostlage; Waldrand. Sitzpflanzen: Brombeere, Haselnuss, Esche. Wenige Tiere auf Jungbäumen (~ 5 m²).

Ebersberg Wegrand:
Hochwald; Waldschneise, Eichen-Hainbuchen Mischwald mit Fichtenbeständen, Brennnesseln im Unterwuchs. Sitzpflanze: Brennnessel. Tiere flächig verteilt (~ 20 m²).

Ebersberg Weiher:
Westlage; Waldrand, Eichen-Hainbuchen Mischwald mit Fichtenbeständen, Brombeere und Haselnuss im Unterwuchs. Sitzpflanzen: Brombeere, Haselnuss. Tiere auf wenigen, nahe beieinander stehenden Pflanzen (~ 5 m²).

3.2 Eiablage und Embryonalentwicklung

3.2.1 Reproduktionsraten der Freilandtiere

Die Weibchen wurden vor ihrer Häutung zum Adultus separiert. Etwa eine Woche später wurde den Tieren ein Männchen der eigenen Population zur Paarung angeboten. Einige Weibchen legten trotz erfolgter Paarung keine oder nur sehr wenige Eier ab. Weibchen, die weniger als zehn Eier abgelegt hatten, blieben bei der Ermittlung der Reproduktionsraten für die untersuchten Populationen unberücksichtigt. Tiere, von denen sehr wenige Eier registriert wurden, legten diese nicht wie andere Weibchen in den bereitgestellten Styroporklotz ab. Stattdessen fanden sich Eier dieser Tiere lose auf dem Boden des Zuchtbehälters. Dadurch war anzunehmen, dass diese Weibchen nicht zur Erhaltung der Population im gleichen Maße beitrugen.

Im Durchschnitt legten die Weibchen aller Populationen 52 Eier (Abb. 3.2-1). Deutlich über diesem Schnitt lagen die Tiere der Populationen Bad Laer mit durchschnittlich 93 Eiern, Knutbühren mit durchschnittlich 81 Eiern, Ludolfshausen mit durchschnittlich 91 Eiern und Ossenfeld II mit durchschnittlich 111 Eiern. Ohne diese vier Populationen sinkt die durchschnittliche Anzahl abgelegter Eier auf 40 je Weibchen.

Ein Zusammenhang zwischen Zuchterfolg und der Anzahl pro Tier abgelegter Eier lässt sich jedoch nicht herstellen: Die Population Scheden mit im Mittel 33 Eiern je Weibchen ließ sich bis zur dritten Filialgeneration aufziehen. Dies gelang nicht mit der Population Ossenfeld II oder etwa mit der Population Oberkatzbach (durchschnittlich 48 Eier), in der die erste Filialgeneration erst drei Jahre nach der Eiablage aufgezogen werden konnte.

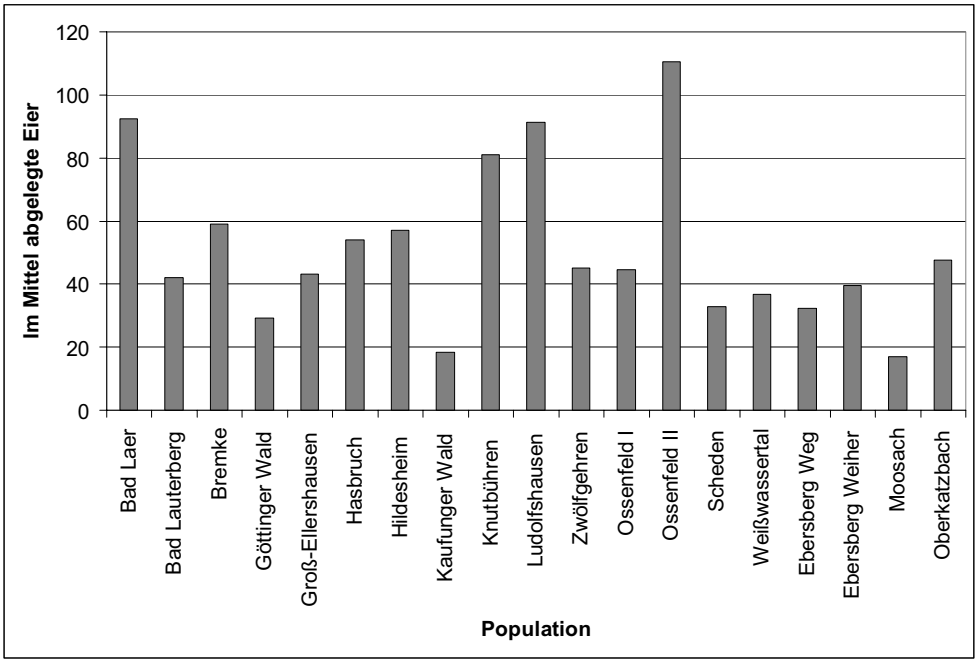


Abb. 3.2-1: Anzahl durchschnittlich abgelegter Eier der Freiland-Weibchen je Population. Tiere, die weniger als zehn Eier legten, blieben unberücksichtigt.

3.2.2 Absterberaten in der Embryonalentwicklung: F_1

Im Sommer 2004 wurden von den F_1-Generationen der 2003 erfolgreich in Zucht genommenen Teilpopulationen Daten zur biologischen Fitness aufgenommen, im Folgejahr die entsprechenden Daten der 2004 in Zucht genommenen Populationen. Da die Tiere unter nahezu gleichen Laborbedingungen gehalten wurden, blieben die unterschiedlichen Sammeljahre unberücksichtigt. Während der Embryonalentwicklung der F_1 (n = 2724 Eier) im ersten Jahr zeigten die untersuchten Populationen bereits große Unterschiede in der Überlebenswahrscheinlichkeit der Embryonen (Absterberate: 4 - 57 %). Populationen, in denen die Absterberate bis zur ersten Abkühlungsperiode bei mehr als 20 % lag, konnten nicht erfolgreich in Zucht genommen werden.

In den Populationszuchten *Bad Laer*, *Bremke*, *Hildesheim*, *Knutbühren*, *Ludolfshausen*, *Scheden* sowie den beiden Populationen aus *Ossenfeld* lag im Jahr der Ablage die Absterberate der abgelegten Eier unter 10 %. Bis zur zweiten Winterabkühlung starben etwas mehr Eier ab als im Jahr der Ablage. Der Anteil stieg aber selten (Population *Hildesheim*) auf über 20 %. Bis auf die Population *Bremke*, die eine Absterberate von 19 % aufwies, nahm der Anteil abgestorbener Eier bis zur dritten Winterabkühlung wieder ab.

Die Zuchten der Populationen *Bad Lauterberg*, *Ebersberg Weg*, *Ebersberg Weiher*, *Göttinger Wald*, *Groß-Ellershausen*, *Hasbruch*, und *Oberkatzbach* wiesen im Jahr der Ablage eine Absterberate der F_1-Embryonen von über 10 %, jedoch unter 25 %,

auf. Bis zur zweiten Winterabkühlung stieg in diesen Populationen die Rate abgestorbener Eier, mit Ausnahme der Populationen *Göttinger Wald* und *Hasbruch*, um weitere etwa 30 %.

Während des ersten Jahres lag die Absterberate der Populationszuchten *Moosach*, *Kaufunger Wald*, *Weißwassertal* und *Zwölfgehren* bei über 25 %. Bei der Population *Weißwassertal* starben 51 % der Embryonen bereits im Ablagejahr; in den folgenden zwei Jahren auch alle anderen Eier dieser Population. Von dieser Population gelang es keinem Tier der ersten Filialgeneration, die Embryonalentwicklung abzuschließen und aus dem Ei zu schlüpfen. Die erste Filialgeneration der Population *Zwölfgehren* hatte zwar im Jahr der Ablage eine vergleichbar hohe Absterbequote wie die Population *Göttinger Wald*, doch starb in der Population *Zwölfgehren* die Hälfte der abgelegten Eier nach der ersten Winterabkühlung. Von den Tieren der Populationen *Kaufunger Wald* und *Moosach* wurden verhältnismäßig wenige Eier abgelegt (Tab. 3.2-1).

Tab. 3.2-1: Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration von Tieren der in Zucht genommenen Populationen (jeweils bezogen auf die Gesamtzahl abgelegter Eier)

Population	Anzahl (n)	abgestorben im Ablagejahr (%)	abgestorben im ersten Folgejahr (%)	abgestorben im zweiten Folgejahr (%)
Bad Laer	306	6	18	7
Bad Lauterberg	158	12	27	3
Bremke	59	5	17	19
Ebersberg Weg	82	10	33	1
Ebersberg Weiher	79	18	27	3
Göttinger Wald	54	24	15	4
Groß-Ellershausen	166	11	32	16
Hasbruch	162	14	6	3
Hildesheim	114	6	35	11
Knutbühren	162	4	14	3
Kaufunger Wald	46	30	15	0
Ludolfshausen	443	4	19	10
Moosach	23	57	26	9
Oberkatzbach	140	19	34	1
Ossenfeld I	134	6	22	15
Ossenfeld II	221	2	11	5
Scheden	147	6	23	2
Weißwassertal	93	51	45	4
Zwölfgehren	135	27	49	4

3.2.3 Absterberaten in der Embryonalentwicklung: F_2

Eine Zucht der F_2-Generation gelang nur bei Populationen, die sich durch eine schnelle embryonale Entwicklung auszeichneten, sowie bei einigen Populationen mit etwas verlangsamter Entwicklung (vgl. Abschnitt 3.2.8). Dokumentiert wur-

de nur die Überlebenswahrscheinlichkeit bis zum zweiten Jahr nach Ablage der Eier (n = 814).

In der zweiten Filialgeneration zeigten einige Populationen eine leicht veränderte Überlebenswahrscheinlichkeit in der Embryonalentwicklung.

Eine geringere Absterberate der Embryonen konnte in der zweiten Filialgeneration der Population *Hasbruch* sowohl im Jahr der Ablage, als auch im Folgejahr dokumentiert werden. Auch die Population *Ebersberg Weiher* wies, anders als die Population *Ebersberg Weg*, gegenüber der F_1-Generation eine geringere Absterbequote auf.

Eine gegenüber der ersten Filialgeneration leicht erhöhte Absterberate zeigten im ersten Jahr der Embryonalentwicklung die Populationen *Groß-Ellershausen*, *Hildesheim* und *Scheden*. Nach der zweiten Winterabkühlung ist eine gegenüber der ersten Filialgeneration erhöhte Absterberate in diesen Populationen nicht zu beobachten. Anders ist das bei der Population *Ossenfeld II*, die, wie im Jahr der Eiablage, auch im darauf folgenden Jahr eine hohe Ausfallquote hat.

Die F_2-Generationen der Populationen *Bad Laer*, *Bremke*, *Ludolfshausen*, *Bad Lauterberg* und *Knutbühren* zeigen keine wesentliche Änderung der Überlebenswahrscheinlichkeit in der embryonalen Entwicklung gegenüber den ersten Filialgenerationen (Tab. 3.2-2).

Tab. 3.2-2: Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration von Tieren der in Zucht genommen Populationen

Population	Anzahl (n)	abgestorben im Ablagejahr (%)	abgestorben nach einem Jahr (%)
Bad Laer	83	7	19
Bad Lauterberg	107	21	23
Bremke	26	0	23
Ebersberg Weg	52	23	37
Ebersberg Weiher	98	6	4
Groß-Ellershausen	80	20	9
Hasbruch	175	6	11
Hildesheim	110	17	26
Knutbühren	72	7	13
Ludolfshausen	131	5	9
Ossenfeld II	52	46	50
Scheden	144	35	14

3.2.4 Absterberaten in der Embryonalentwicklung: F_3

Bis zur dritten Filialgeneration wurde die Zucht nur mit einigen der im Jahr 2003 in Zucht genommenen Tiere fortgeführt (Tab. 3.2-3). Bei den Populationen *Ludolfshausen* und *Bad Laer* konnten keine wesentlichen Veränderungen der Absterberate gegenüber der F_1- und F_2-Generation festgestellt werden. In allen drei Generationen lag die Absterberate im Jahr der Ablage zwischen 6 % und

10 %. Von den Eiern der Population *Groß-Ellershausen* starb im Jahr der Ablage und auch im darauf folgenden Jahr ein geringerer Prozentsatz ab, als es bei der F_2-Generation der Fall war (11 % in der F_1 und 4% in der F_3, aber 20 % in der F_2). In den Zuchten der Populationen *Hildesheim*, *Knutbühren* und *Scheden* konnten keine hohen Absterberaten dokumentiert werden. Es wurden allerdings so wenig Eier abgelegt, dass ein Vergleich der Generationen nicht vorgenommen wurde.

Tab. 3.2-3: Embryonalentwicklung der dritten Filialgeneration von Tieren der in Zucht genommen Populationen

Population	**Anzahl (n)**	**abgestorben im Ablagejahr (%)**	**abgestorben im ersten Folgejahr (%)**
Bad Laer	155	10	14
Gr.-Ellershausen	75	4	4
Hildesheim	12	50	17
Knutbühren	16	13	6
Ludolfshausen	82	5	7
Scheden	12	17	8

3.2.5 Absterberaten der Inzuchtlinien

Bei kleinen Populationen kann nicht ausgeschlossen werden, dass es bereits bei Etablierung der Laborzuchten zur Inzucht gekommen ist. Daher werden für den Vergleich der Inzuchtlinien mit den Populationszuchten die Zuchtlinien mit den gleichen Bezeichnungen für die Generationsfolgen belegt. Analog dazu trägt also die erste im Labor willentlich erzeugte Inzuchtgeneration die Benennung der gezüchteten Laborgenerationen.

Die Inzuchtlinie Scheden zeigt eine wesentlich niedrigere Absterbequote im ersten Jahr der Embryonalentwicklung als die Populationszucht mit einer Absterberate von 35 % (Tab. 3.2-4). Bis zur ersten Winterabkühlung wies im Vergleich zur Populationszucht (Absterberate: 7 %) die Inzuchtlinie Bad Laer einen nur geringfügig höheren Prozentsatz abgestorbener Eier auf. Dem gegenüber ist die Absterbrate bei der Inzucht mit Tieren aus Knutbühren und Ludolfshausen im Vergleich zu den Populationszuchten (mit 7 % und 5 %) erhöht. Auch die Inzucht der Population Groß-Ellershausen, die in der Populationszucht eine Absterberate von 20% aufwies, zeigte eine verminderte Fitness. Im zweiten Jahr nach der Eiablage starben weitere 60 % der Eier, die von den Tieren der Inzuchtlinie Groß-Ellershausen abgelegt wurden, ab. In den anderen Inzuchtlinien konnten gegenüber den Populationszuchten keine erheblichen Abweichungen in den Folgejahren festgestellt werden.

Tab. 3.2-4: Absterberate einer F_2-Inzucht über drei Jahre

Inzucht der Population	Anzahl (n)	abgestorben im Ablagejahr (%)	abgestorben im ersten Folgejahr (%)	abgestorben im zweiten Folgejahr (%)
Bad Laer	40	10	13	0
Groß-Ellershausen	15	27	60	0
Knutbühren	43	26	7	5
Ludolfshausen	18	17	11	0
Scheden	101	15	8	7

Mit der Inzuchtlinie der Populationen *Groß-Ellershausen* (hohe Absterbequote) und *Scheden* (verlangsamte Embryonalentwicklung; Abschnitt Embryonalentwicklungsgeschwindigkeit 3.3.8) wurde im Folgejahr nicht weitergezüchtet. Die Inzuchtlinie der dritten Filialgeneration mit Tieren der Population *Bad Laer* wies im Jahr der Ablage eine höhere Mortalität auf, als die erste Inzuchtgeneration. Bei den Inzuchtlinien der Population *Ludolfshausen* und *Knutbühren* waren hingegen weit geringere Absterberaten zu verzeichnen, die auch im Vergleich zu den Populationszuchten niedriger waren (13 % und 5 %; Tab. 3.2-5).

Tab. 3.2-5: Absterberate einer F_3-Inzucht im Jahr der Ablage

Inzucht der Population	Anzahl (n)	abgestorben im Ablagejahr (%)
Bad Laer	68	22
Knutbühren	34	6
Ludolfshausen	75	3

3.2.6 Absterberaten der Populationshybriden

Von 15 populationshybriden Zuchtlinien (begründet durch jeweils ein weibliches und ein männliches Tier aus verschiedenen Populationen) wurden die Absterberaten während der Embryonalentwicklung über zwei Jahre protokolliert. Dabei wiesen die Nachkommen von Tieren mit Eltern unterschiedlicher Herkunft stark voneinander abweichende Absterberaten auf. Die Nachkommen von „Hybride 1“, „Hybride 3“ oder „Hybride 5“ zeichnen sich durch ähnliche Absterberaten aus wie die Populationszuchten, aus denen die Weibchen stammen. Bei anderen Kombinationen sind die Absterberaten deutlich erhöht, wie beispielsweise bei „Hybride 6“ oder „Hybride 7“ (Tab. 3.2-6).

Da die Absterberate der Populationshybriden in einen Zusammenhang mit der Herkunft der Elterntiere gesehen werden muss und dies in noch größerem Maße für die Geschwindigkeit der Embryonalentwicklung gilt, erfolgt eine genauere Betrachtung dieser beiden Ergebnisteile gemeinsam unter Abschnitt 3.2.10.

Tab. 3.2-6: Absterberaten von Populationshybriden im Jahr der Ablage und im ersten Folgejahr

Eltern	Anzahl abgelegter Eier (n)	abgestorben im Ablagejahr (%)	abgestorben im ersten Folgejahr (%)
Hybride1	64	5	16
Hybride2	21	5	5
Hybride3	44	32	36
Hybride4	93	2	19
Hybride5	105	4	10
Hybride6	38	8	53
Hybride7	15	67	0
Hybride8	12	50	0
Hybride9	37	38	8
Hybride10	0	-	-
Hybride11	10	20	0
Hybride12	41	24	5
Hybride13	47	49	4
Hybride14	49	63	2
Hybride15	5	60	0

3.2.7 Entwicklungsgeschwindigkeit und Zuchterfolg

Ausschlaggebend für eine Weiterzucht der Filialgenerationen im Labor war neben der Absterberate die Entwicklungsgeschwindigkeit der ersten Filialgeneration im Jahr der Ablage (Abb. 3.2-2).

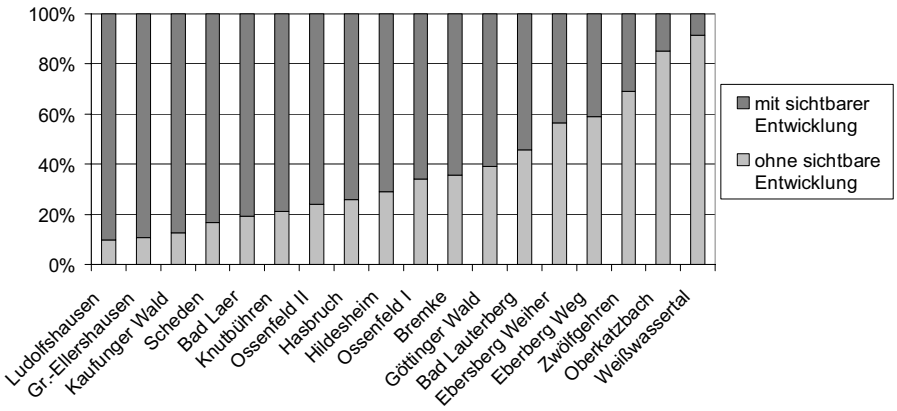


Abb. 3.2-2: Verhältnis von Eiern, die in der ersten Winterabkühlung eine Entwicklung des Embryos der ersten Filialgeneration aufwiesen, zu Eiern, die keine Anzeichen eines sich entwickelten Embryos zeigten. Dargestellt sind alle in Zucht genommenen Populationen. Nicht berücksichtigt ist der Anteil der bis dahin abgestorbenen Eier.

Embryonen, die sich während der ersten Abkühlungsperiode bereits in der Medial- oder Finaldiapause befanden, konnten im Folgejahr schlüpfen. Der prozentuale Anteil von Eiern, die keinerlei Entwicklung zeigten, ließ sich auch mit dem späteren Zuchterfolg in Zusammenhang bringen. So ließen sich die in Zucht genommenen Populationen in drei Gruppen untergliedern. Wiesen nicht wesentlich mehr als 20 % der Eier keine Anzeichen einer fortgeschrittenen Embryonalentwicklung auf, also einen Embryo, der wenigstens in der Medialdiapause war, gelang im Folgejahr in der Regel die Aufzucht der ersten Filialgeneration mit erheblich mehr adulten Tieren als für eine Erhaltungszucht erforderlich gewesen wären. In diese Kategorie fielen die Populationen *Bad Laer*, *Groß-Ellershausen*, *Ludolfshausen*, *Knutbühren*, *Scheden*, *Ossenfeld II*, *Hildesheim*, *Hasbruch* und *Kaufunger Wald*.

Wies die Quote von Eiern ohne erkennbare Entwicklung einen Anteil von etwa 40 % an der Gesamtzahl der abgelegten Eier auf, konnte stets eine ausreichende Anzahl von Individuen im Folgejahr bis zum Adultus aufgezogen werden, um die Zucht zu erhalten. In diese zweite Kategorie fielen die Populationen *Bad Lauterberg*, *Bremke*, *Ebersberg Weg*, *Ebersberg Weiher*, *Göttinger Wald* und *Ossenfeld I*.

Die letzte Gruppe bildeten die Populationen *Oberkatzbach*, *Zwölfgehren* und *Weißwassertal*. Die Zucht der Filialgeneration im Folgejahr gelang bei diesen Populationen nicht. Hier lag der Anteil von Eiern, die bis zur ersten Winterabkühlung keine Entwicklung zeigten, bei über 60 %. Nach der ersten Winterabkühlung schlüpften jeweils nur einzelne oder, in der Population *Weißwassertal*, keine Individuen.

Im Folgenden wird die Geschwindigkeit der Embryonalentwicklung für die verschiedenen gezüchteten Populationen besprochen. Dazu wird zunächst beispielhaft der Stand der Embryonalentwicklung in der F_1-Generation während der ersten Abkühlungsperiode betrachtet. Dabei handelt es sich immer um die Nachkommen von nur einem weiblichen Individuum der jeweiligen Population. Der Entwicklungsstand wurde in Bezug zum Ablagetermin der Eier in der vorangegangenen Ablageperiode gesetzt. Da die Tiere nicht in regelmäßigen Abständen Eier ablegen, dienen in den zur Veranschaulichung abgebildeten Diagrammen die Angaben zum Ablagedatum zur Orientierung. Zur Darstellung ausgewählt wurden Tiere, die möglichst viele Eier abgelegt hatten. Die Daten der anderen untersuchten Tiere werden im Rahmen dieser Publikation nicht dargestellt. Anschließend wurde für die erste Filialgeneration der Stand der Embryonalentwicklung von allen Tieren der jeweiligen Population zusammenfassend bis zu drei Jahre nach der Eiablage betrachtet. Schließlich wird exemplarisch und ergänzend die Entwicklung weiterer Filialgenerationen einiger Populationen dargestellt, wenn deren Zucht erfolgreich verlief. Anteile der abgestorbenen Eier wurden nicht berücksichtigt; sie werden unter Abschnitt 3.2.2 bis 3.2.4 separat betrachtet.

Unberücksichtigt blieben die Populationen *Moosach I* und *Moosach II*. Hier legten die Weibchen nur wenige Eier ab (insgesamt 23). Zudem war eine hohe

Absterberate zu verzeichnen (im Jahr der Ablage verblieben nur zehn Eier, von denen keines sichtbare Anzeichen einer Embryonalentwicklung aufwies). In den Folgejahren ließen sich nur einzelne Individuen aufziehen. Aussagen zur Entwicklungsgeschwindigkeit konnten daher nicht getroffen werden.

Eier, die nicht bis zur ersten Winterabkühlung abgestorben waren, aber dennoch keine Anzeichen einer Embryonalentwicklung zeigten, wurden als in der Initialdiapause befindlich eingestuft.

3.2.8 Entwicklungsgeschwindigkeit in der Embryonalentwicklung einzelner Populationen

Population *Ludolfshausen*

Die Embryonalentwicklung von Tieren der F_1-Generation *Ludolfshausen* verlief im Jahr der Eiablage rasch. Eier, die bis Mitte August abgelegt wurden, entwickelten sich fast ausnahmslos bis zur Finaldiapause. Selbst bis in den September hinein abgelegte Eier gelangten noch bis zum Finaldiapausestadium. Abb. 3.2-3 zeigt beispielhaft den Stand der Embryonalentwicklung während der Winterabkühlung der von Individuum „W2“ abgelegten Eier im Jahr der Ablage. Nur wenige Eier zeigten keine Entwicklung. Auch der Anteil von Embryonen in der Medialdiapause war gering.

Zwar ist in der Regel bei *B. serricauda* damit zu rechnen, dass Embryonen, die bis zur Winterabkühlung das Finaldiapausestadium erreicht haben, im folgenden Jahr schlüpfen. Dennoch verbleiben einige Individuum ein weiteres Jahr in der Diapause und schlüpfen erst im darauf folgenden Jahr. Zudem ist es möglich, dass sich Embryonen, die bis zur Abkühlungsperiode lediglich das Medialdiapausestadium erreicht haben, nach Beendigung der Abkühlung, ohne in der Finaldiapause zu verharren,sich bis zum Schlupf entwickeln.

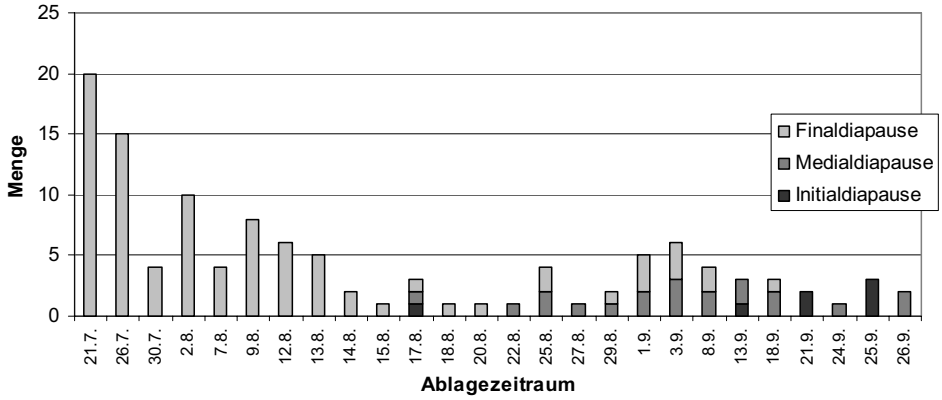


Abb. 3.2-3: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W2“) der Population *Ludolfshausen*.

Die Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration im Jahr der Ablage bestätigt die Ergebnisse der F_1-Generation in Bezug auf den Zusammenhang zwischen Ablagedatum und Entwicklungsstand in der ersten Kälteperiode (Abb. 3.2-4). Lediglich einige Eier, die Anfang August abgelegt wurden, entwickelten sich nur bis zum Medialdiapausestadium. Auch für die dritte Filialgeneration konnte die gleiche Abweichung beim erreichten Entwicklungsstand in der ersten Abkühlung im Vergleich zur Verteilung der Diapausestadien über den Entwicklungszeitraum (Abb. 3.2-5) festgestellt werden.

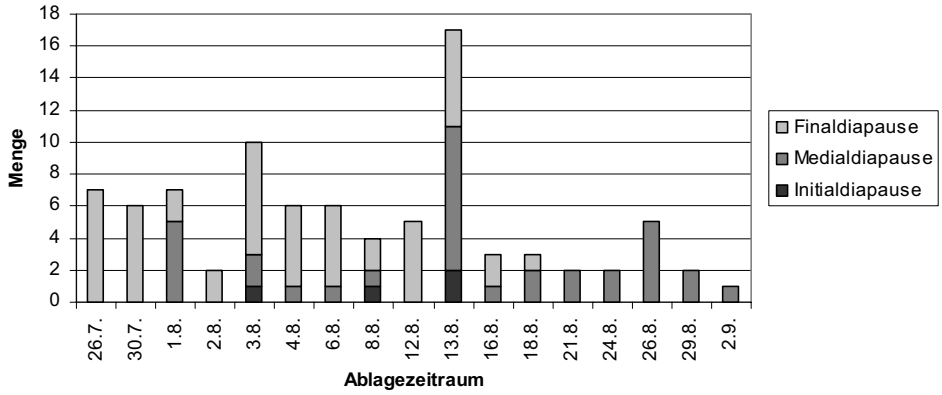


Abb. 3.2-4: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der zweiten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind die Nachkommen dreier in einem Gefäß gemeinsam gehaltener Weibchen („G1“) der Population *Ludolfshausen*.

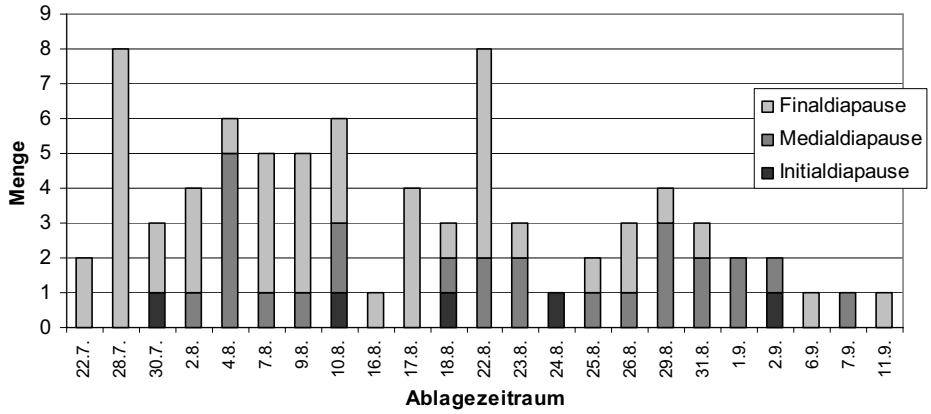


Abb. 3.2-5: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der dritten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind die Nachkommen von drei gemeinsam gehälterten Weibchen („FG1“) der Population *Ludolfshausen*.

Der Anteil aller Embryonen der im Labor gezogenen F_1-Generation, die im Jahr der Ablage bereits bis zur Finaldiapause entwickelt waren, lag bei knapp 80 %. Bereits in der zweiten Winterabkühlung verblieben keine Eier, deren Entwicklungsstand als Initialdiapause zu klassifizieren war. Der Anteil der Medialdiapausestadien lag im Jahr der Ablage und im Folgejahr bei etwa 10 %. In der dritten Abkühlungsperiode konnte von der F_1-Generation nur noch ein Embryo registriert werden, der in der Finaldiapause verharrte (Abb. 3.2-6).

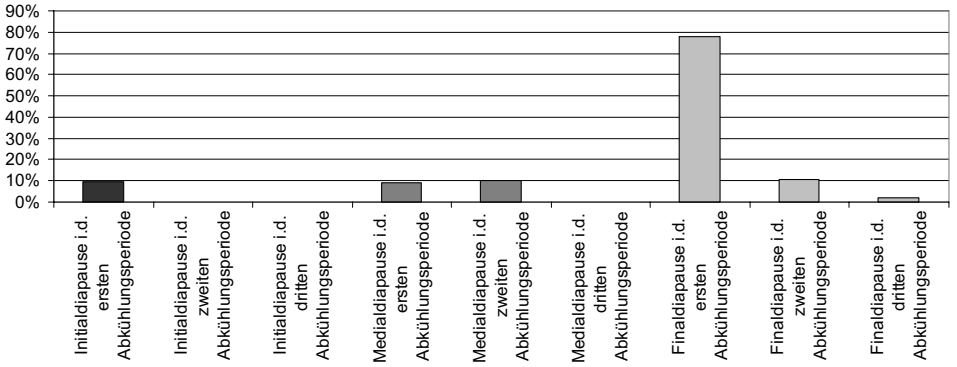


Abb. 3.2-6: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller Tiere der Population *Ludolfshausen* abgelegten Eier.

Die nachgezüchteten Filialgenerationen wiesen eine analoge Embryonalentwicklung auf. In der zweiten Filialgeneration verlangsamte sich die Embryonalentwicklung für die Gesamtzahl der betrachteten Eier geringfügig. Der Anteil von Embryonen, die die erste und die zweite Winterabkühlung in der Medialdiapause überdauerten, stieg gegenüber der F_1-Generation an (Abb. 3.2-7). Dennoch verblieb bereits in der zweiten Winterabkühlung kein Ei in der Initialdiapause (in der dritten Filialgeneration war es nur ein Ei, vgl. Abb. 3.2-8).

Der Trend einer verlangsamten Entwicklung der F_2-Generation gegenüber der F_1-Generation konnte in allen nachgezüchteten Populationen festgestellt werden.

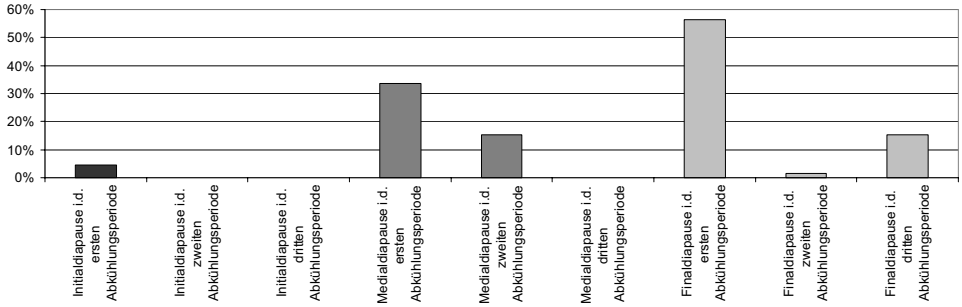


Abb. 3.2-7: Anteile der Diapausestadien der zweiten Filialgeneration in der Embryonalentwicklung über drei Abkühlungsperioden. Population: *Ludolfshausen*.

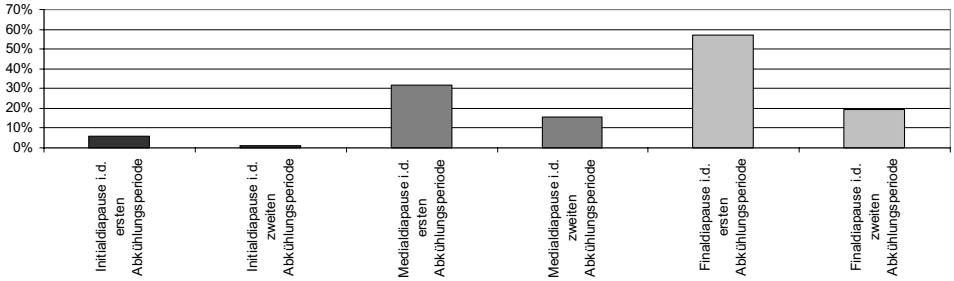


Abb. 3.2-8: Anteile der Diapausestadien über zwei Abkühlungsperioden in der Embryonalentwicklung der dritten Filialgeneration unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Ludolfshausen* abgelegten Eier.

Population *Bad Laer*

Die erste Filialgeneration von in Zucht genommenen Tieren der Population *Bad Laer* wies schon bis zur ersten Abkühlung während der vegetationsfreien Zeit eine schnelle Entwicklung vieler Embryonen auf. Bis zum Ende der ersten Augustdekade entwickelten sich die meisten abgelegten Eier, wie in Abb. 3.2-9 für das Individuum „W1“ dargestellt, bis zur Finaldiapause. Danach abgelegte Eier erreichten entweder die Medialdiapause oder verharrten, unabhängig von der

Tageslichtdauer, in der Initialdiapause. Letztere konnte auch für Eier festgestellt werden, die bereits zu Beginn der Ablageperiode abgelegt wurden.

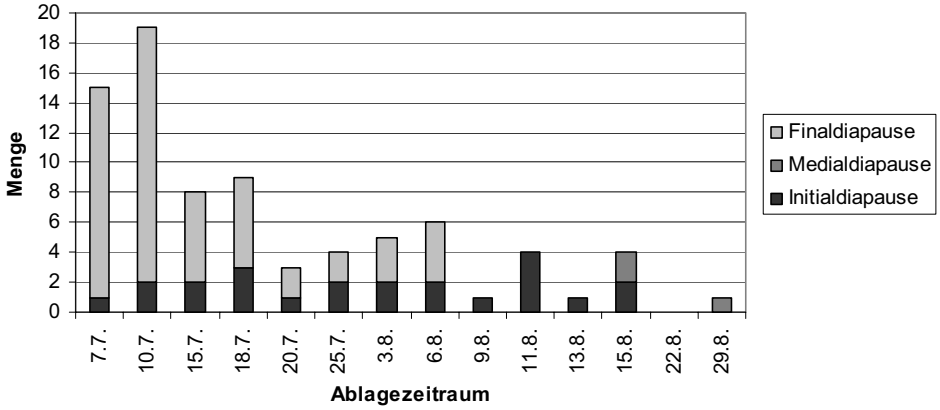


Abb. 3.2-9: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W1") der Population *Bad Laer*.

Im Vergleich zur F_1-Generation entwickelten sich in der zweiten Filialgeneration einige Eier noch bis zum Ende der zweiten Augustdekade bis zur Finaldiapause (Abb. 3.2-10). Die Verteilung der anderen Diapausestadien mit stets einigen Eiern in der Finaldiapause, die sich über den gesamten Ablagezeitraum verteilen, ähnelt der der ersten Filialgeneration. In der dritten Filialgeneration verschob sich die Tendenz, die Filialdiapause bis zu Winterabkühlung zu erreichen, auf Ablagetermine bis Mitte September. Die Verteilung der anderen Diapausestadien glich denen der F_1- und F_2-Generation (Abb. 3.2-11).

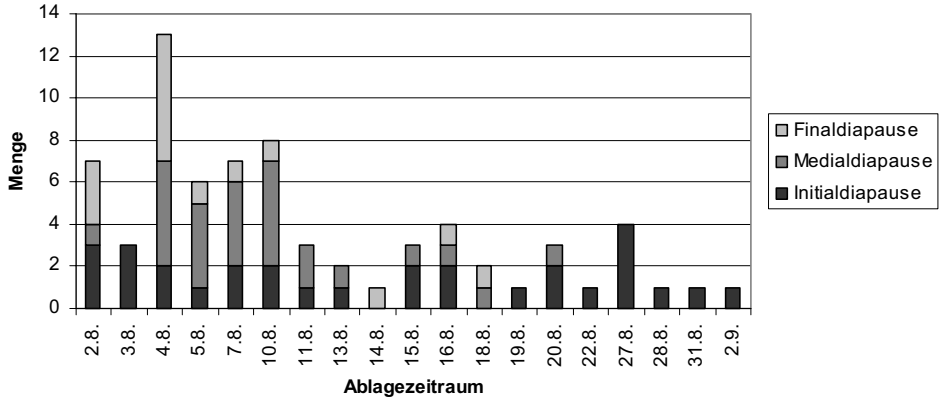


Abb. 3.2-10: Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der zweiten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt ist die Entwicklung der Nachkommen von drei gemeinsam gehaltenen Weibchen („G2") der Population *Bad Laer*.

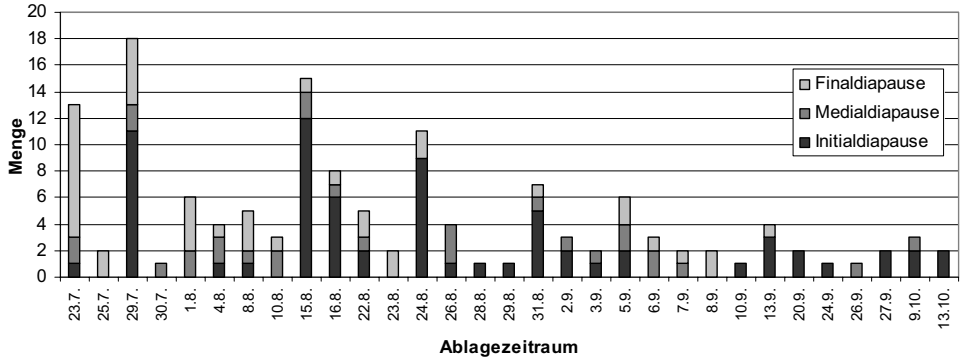


Abb. 3.2-11: Stand der Entwicklung von Embryonen der dritten Filialgeneration unter Berücksichtigung des Ablagedatums während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt ist die Entwicklung der Nachkommen von drei gemeinsam gehaltenen Weibchen („FG1") der Population *Bad Laer*.

Entsprechend der als verhältnismäßig schnell einzustufenden Embryonalentwicklung bis zur ersten Winterabkühlung erfolgt auch über die Dauer mehrerer Abkühlungsperioden eine rasche Verringerung der Eier in der Initialdiapause von knapp 20 % im Jahr der Ablage auf 10 % im ersten Folgejahr. Im zweiten Folgejahr konnten keine Eier registriert werden, die noch in der Initialdiapause verblieben. Der Anteil der in der Medialdiapause die Winterruhe überdauernden Embryonen schwankte in den ersten beiden Jahren um 10 % und war damit relativ gering. Im dritten Jahr nahm der Anteil im Verhältnis zu den Vorjahren leicht ab. Der Anteil von Embryonen an der Gesamtzahl der aus der Population

Bad Laer betrachteten Individuen der F_1-Generation, der bis zur ersten Abkühlungsperiode die Finaldiapause erreichte, war mit weit über 60 % hoch. Entsprechend sanken in den Folgejahren die Anteile aller anderen Diapausestadien stark (Abb. 3.2-12).

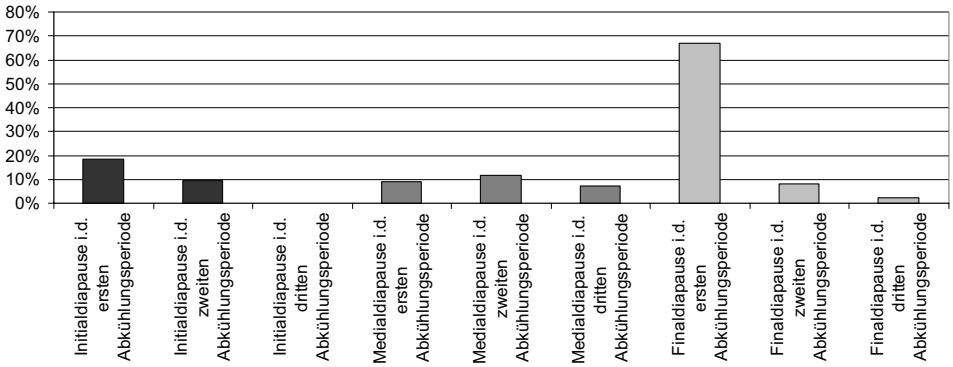


Abb. 3.2-12: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Bad Laer* abgelegten Eier.

Wie in der Population *Ludolfshausen* zu beobachten, verlangsamte sich auch in der Population *Bad Laer* die Embryonalentwicklung in der zweiten gegenüber der ersten Filialgeneration (Abb. 3.2-13). Hier lag der Anteil von Eiern in der Initialdiapause bei über 35 %, sank aber bis zur zweiten Abkühlung um etwa die Hälfte. Die Quote der Medialdiapausestadien lag im Jahr der Ablage und im Folgejahr wesentlich höher als es bei der F_1-Generation der Fall war. Dementsprechend schlossen auch weniger Tiere die Embryonalentwicklung ab. Der Anteil der Finaldiapausestadien erreichte durch diese langsamer verlaufende Entwicklung auch erst in der dritten Kälteperiode seinen höchsten Stand (Abb. 3.2-14).

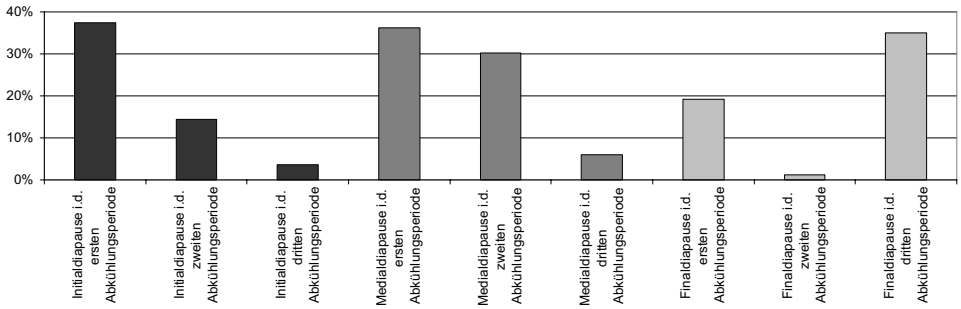


Abb. 3.2-13: Anteile der Diapausestadien von der Population *Bad Laer* in der Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden.

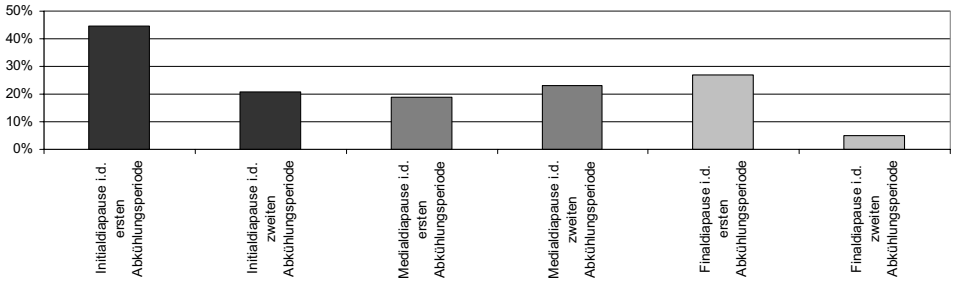


Abb. 3.2-14: Diapausestadien der dritten Filialgeneration über zwei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Bad Laer* abgelegten Eier.

Population *Groß-Ellershausen*

Die von den dem Freiland entnommenen Tieren der Population *Groß-Ellershausen* abgelegten Eier zeigten bis zur ersten Abkühlungsperiode, ebenso wie die Eier der Population *Ludolfshausen*, eine schnelle Entwicklung mit vielen Individuen, die bereits im Jahr der Ablage ihre Embryonalentwicklung vollenden konnten. In dieser Population konnten allerdings auch Embryonen registriert werden, die sich auch nach dem Ende der ersten Augustdekade bis zur Finaldiapause entwickelt haben, wie in Abb. 3.2-15 exemplarisch für die Folgegeneration des Individuums „W5“ dargestellt. In den Folgegenerationen (Abb. 3.2-16 und 3.2-17) entwickelten sich, wie bei der ersten Filialgeneration, auch gegen Ende der Ablageperiode abgelegte Eier bis zur Finaldiapause. Der Anteil von Eiern, die bis zur ersten Kälteperiode keine Entwicklung zeigten, stieg allerdings gegenüber der F_1-Generation – ein Zeichen der gegenüber der ersten Filialgeneration verlangsamten Embryonalentwicklung.

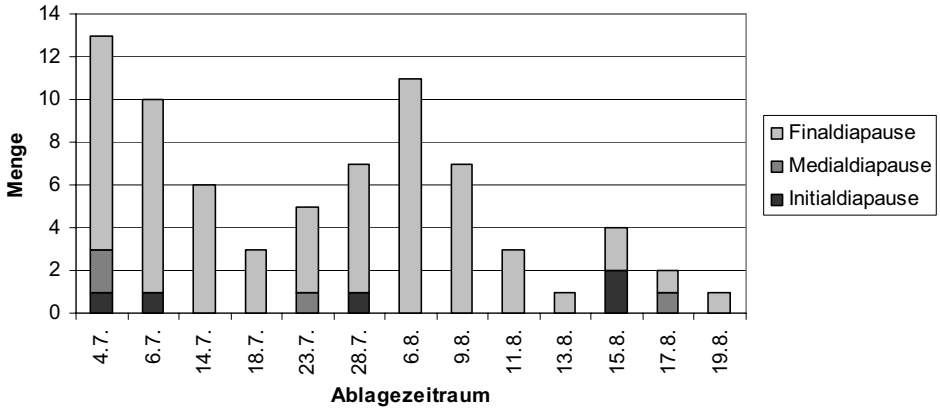


Abb. 3.2-15: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W5“) der Population *Groß-Ellershausen*.

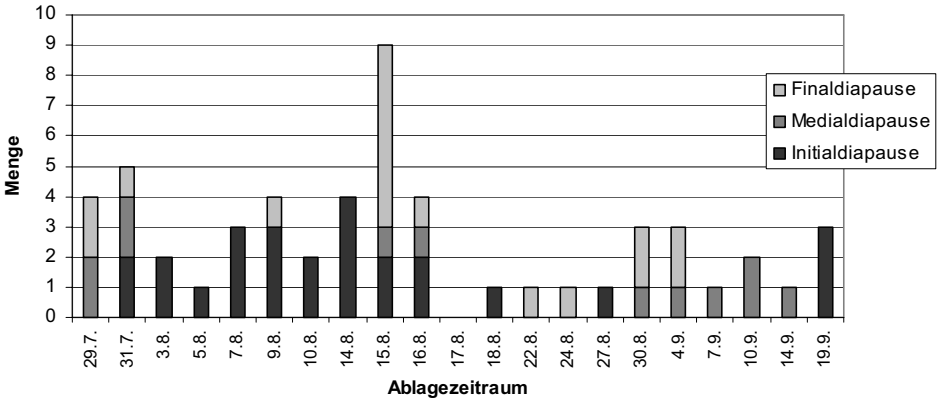


Abb. 3.2-16: Entwicklung von Embryonen der zweiten Filialgeneration unter Berücksichtigung des Ablagedatums während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen von drei zusammen gehälterten Weibchens („G1") der Population *Groß-Ellershausen*.

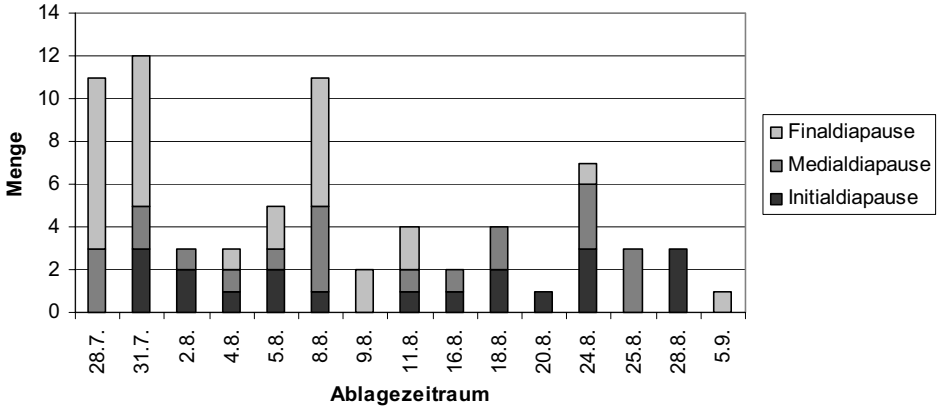


Abb. 3.2-17: Entwicklung der dritten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen: Nachkommen von drei zusammen gehälterten Weibchens („FG1") der Population *Groß-Ellershausen*.

Die Entwicklung der F_1-Embryonen aus der Population *Groß-Ellershausen* über mehrere Jahre entspricht in etwa der im Vorangehenden besprochenen Population. Auch hier konnten in der dritten Winterabkühlung keine Embryonen in der Initialdiapause festgestellt werden (Abb. 3.2-18).

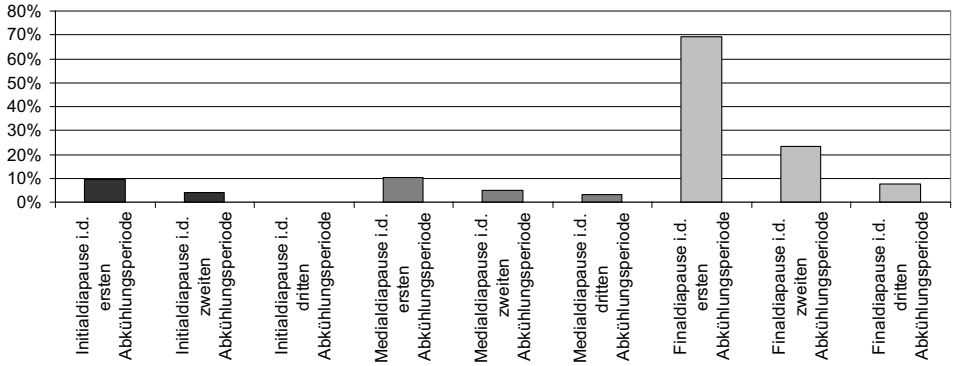


Abb. 3.2-18: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Groß-Ellershausen* abgelegten Eier.

Der leicht verlangsamten Embryonalentwicklung der zweiten gegenüber der ersten Filialgeneration entspricht auch der erhöhte Anteil an Medialdiapausestadien in der ersten und zweiten Abkühlungsperiode (Abb. 3.2-19). Durch diese Verzögerung kommt es zu einem höheren Anteil von vollständig entwickelten Embryonen in der dritten Abkühlung, in der keine Eier ohne sichtbare Entwicklung registriert werden konnten. Dieser Trend zu einer gegenüber der ersten Filialgeneration verlangsamten Entwicklung setzt sich in der Embryonalentwicklung der F_3-Generation bis ins zweite Jahr nach der Ablage fort (Abb. 3.2-20).

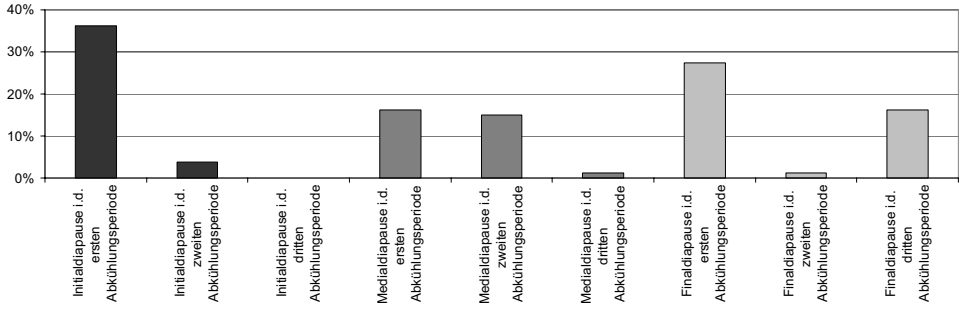


Abb. 3.2-19: Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Groß-Ellershausen* abgelegten Eier.

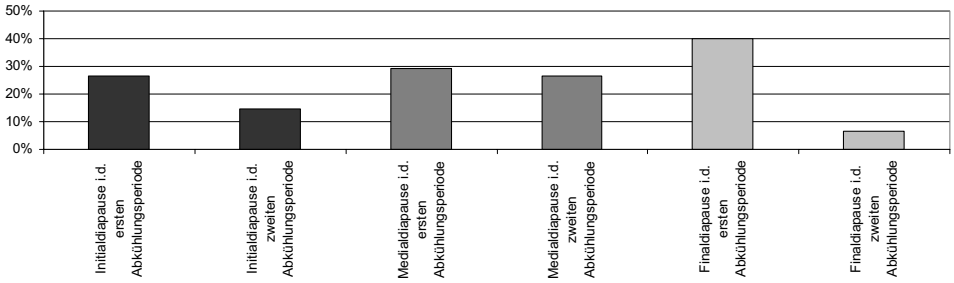


Abb. 3.2-20: Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der dritten Filialgeneration über zwei Abkühlungsperioden: Population *Groß-Ellershausen*.

Population *Hasbruch*

Die Embryonalentwicklung der im Labor gezüchteten ersten Filialgeneration aus *Hasbruch* zeichnet sich durch einen hohen Anteil von Medialdiapausestadien aus, die sich über den gesamten Ablagezeitraum verteilen (Abb. 3.2-21). Auch dieses Diapausestadium vermag nach der Winterabkühlung innerhalb kurzer Zeit die Embryonalentwicklung zu vollenden und zu schlüpfen, wie Abb. 3.2-22 im Vergleich zu Abb. 3.2-21 zeigt. Hier ist die Schlupfrate in Bezug auf das Ablagedatum zu setzen. Es wird ersichtlich, dass in der Regel Embryonen aus dem Ei schlüpfen, die bis zur Winterabkühlung die Entwicklung bis zur Finaldiapause abgeschlossen haben. Allerdings schlüpften auch vereinzelt Tiere, deren Embryonalentwicklung in der Winterabkühlung erst das Medialdiapausestadium erreicht hatten.

Ein Auslassen des Finaldiapausestadiums ist in allen untersuchten Populationen festgestellt worden und betrifft auch stets nur einige Embryonen, die in der Medialdiapause die erste Abkühlung überdauert hatten.

Bis zur Finaldiapause können sich im Jahr der Ablage häufiger die früh abgelegten Eier entwickeln. Bei Individuum „W1“ ist allerdings beispielhaft zu erkennen, dass auch später abgelegte Eier bis zur Abkühlung noch die Embryonalentwicklung abschließen können.

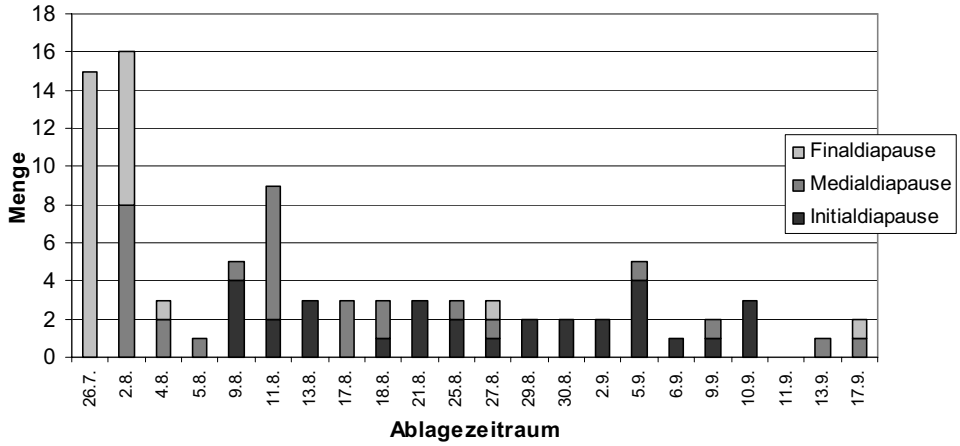


Abb. 3.2-21: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W1") der Population *Hasbruch*.

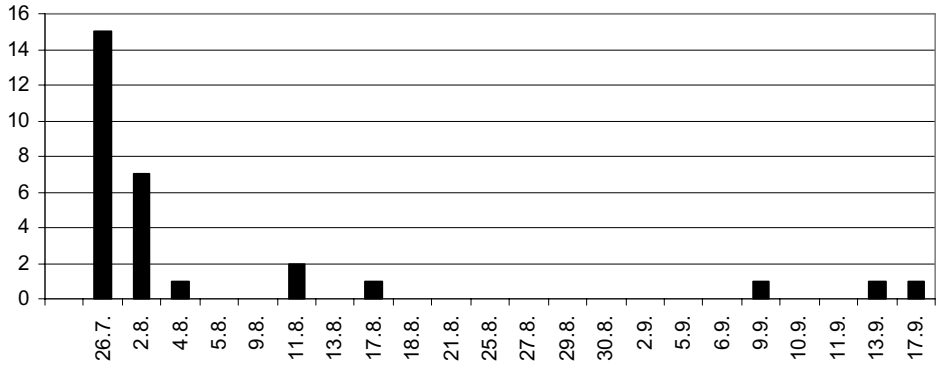


Abb. 3.2-22: Schlupfrate für die Nachkommen eines Weibchens („W1") der Population *Hasbruch* nach der ersten Winterabkühlung.

Auch in der zweiten Filialgeneration der Population Hasbruch (Abb. 3.2-23 zeigt die Embryonalentwicklung von Eiern, die von drei gemeinsam gehaltenen Weibchen „G1" abgelegt wurden), ist ein über den gesamten Ablagezeitraum hoher Anteil von Eiern ohne erkennbare Entwicklung festzustellen. In der Vergleichsgruppe „G1" (hier nicht dargestellt) dauerte der Zeitraum der Eiablage bis zum 13. September an. Es entwickelten sich aber auch hier nicht mehr Eier bis zur Finaldiapause.

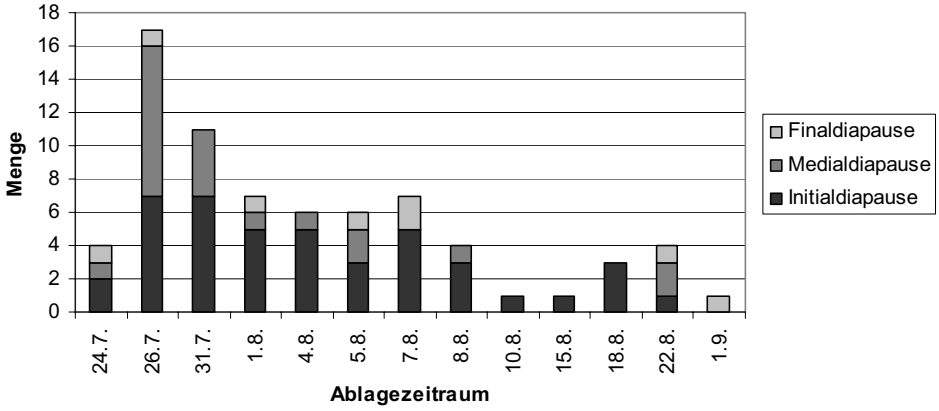


Abb. 3.2-23: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der zweiten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind die Nachkommen von drei gemeinsam gehaltenen Weibchen („G2") der Population *Hasbruch*.

Entsprechend des hohen bis zur ersten Abkühlung registrierten Anteils der F_1-Nachkommen, wie bei Individuum „W1" beschrieben, die sich bis zur Medialdiapause entwickelten, kann für die Gesamtheit der in der Population *Hasbruch* abgelegten Eier im Jahr der Ablage ein Anteil von über 20 % für die kühle Periode in der Medialdiapause überdauernden Eier festgestellt werden. Dieser steigt im darauf folgenden Jahr noch einmal leicht an, um erst im dritten Jahr nach der Ablage der Eier zu sinken. Damit geht im dritten Jahr ein Ansteigen des Anteils an Eiern gegenüber dem zweiten Jahr einher, in denen Embryonen, die während der Winterabkühlung in der Finaldiapause verharrten, registriert werden konnten. Der demgegenüber geringe Anteil an Finaldiapausestadien in der zweiten Abkühlung mit einem gleichzeitig auf hohem Niveau liegenden Anteil von Medialdiapausestadien deutet auf eine hohe Quote von Embryonen hin, die ein Jahr ohne Weiterentwicklung in der Medialdiapause verharrten. Der hohe Anteil von Embryonen, die ihre Entwicklung bereits im Jahr der Ablage vollendeten, ist auf die frühe Jahreszeit der Eiablage zurückzuführen.
Die gegenüber anderen untersuchten Populationen wie beispielsweise *Ludolfshausen,* leicht verlangsamte Embryonalentwicklung wird auch durch den Anteil von über 20 % unentwickelter Eier im Ablagejahr deutlich, der sich bis zum Folgejahr etwa halbiert. Im dritten Jahr nach Ablage konnten keine Eier ohne erkennbare Entwicklung mehr registriert werden (Abb. 3.2-24).

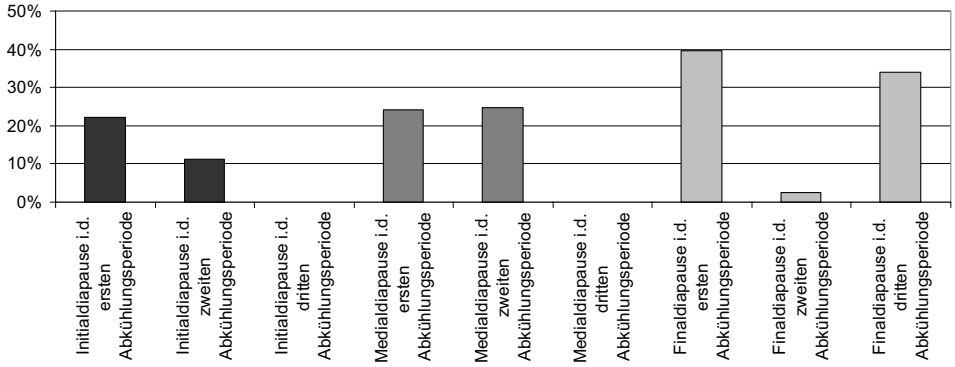


Abb. 3.2-24: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller Eier der Population *Hasbruch*.

Die Entwicklung der zweiten Filialgeneration (Abb. 3.2-25 zeigt den Entwicklungsstand für die erste und zweite Kälteperiode) ist gegenüber der ersten Filialgeneration verlangsamt. In der ersten Winterabkühlung liegen über 60 % der Eier in der Initialdiapause vor. Der Anteil der in der Medialdiapause die erste Kälteperiode überdauernden Embryonen liegt über dem Anteil der Embryonen, die bis zur ersten Abkühlung die Embryonalentwicklung abgeschlossen haben. Dass der Anteil von Embryonen in der Medialdiapause während der zweiten Abkühlungsperiode steigt, die Quote der Embryonen in der Finaldiapause jedoch sinkt, weist für die Population Hasbruch eine lange Embryonalentwicklung aus.

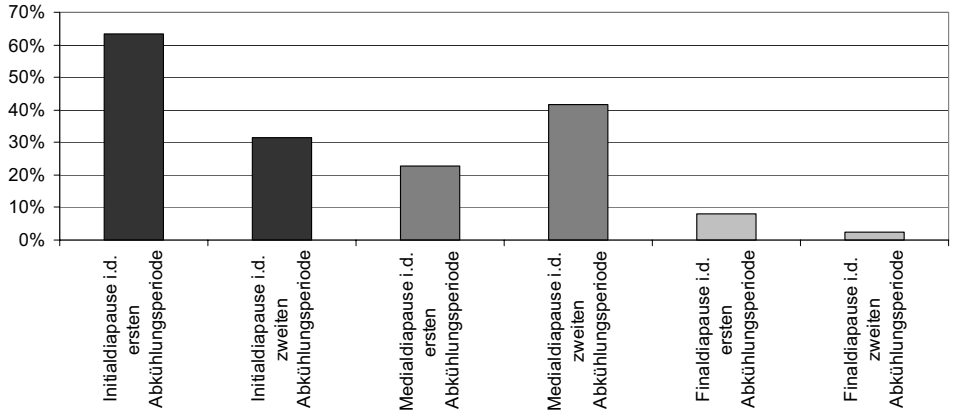


Abb. 3.2-25: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration über zwei Abkühlungsperioden aller abgelegten Eier der Population *Hasbruch*.

Population *Hildesheim*

Im Jahr der Ablage ist in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration der Tiere aus *Hildesheim* keinerlei Zusammenhang mit der Tageslichtdauer und dem bis zur Winterabkühlung erreichten Entwicklungsstand zu erkennen. Das Finaldiapausestadium kann noch von Embryonen erreicht werden, deren Eier erst am Ende der Eiablageperiode Ende September, also kurz vor dem altersbedingten Tod des Weibchens, abgelegt wurden (in Abb. 3.2-26 beispielhaft für die Entwicklung der Nachkommen von Weibchen „W2“ dargestellt). Eier ohne erkennbare Embryonalentwicklung verteilen sich über den gesamten Ablagezeitraum; Medialdiapausestadien treten erst zum Ende der Ablageperiode auf.

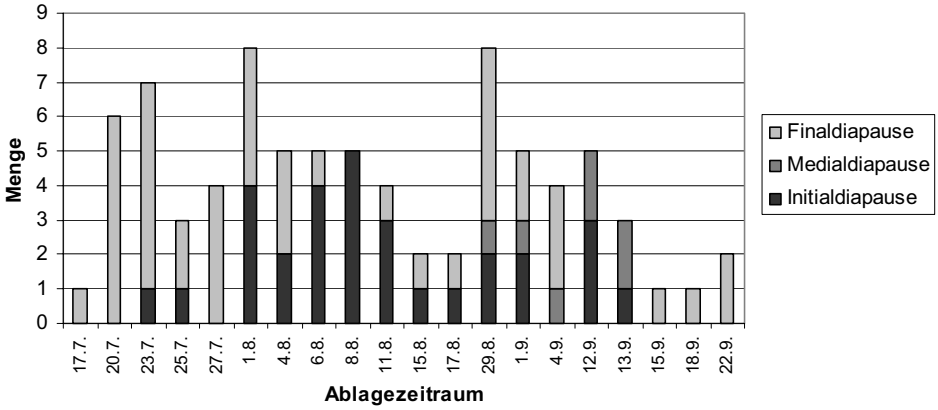


Abb. 3.2-26: Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W2“) der Population *Hildesheim*.

Die Entwicklung der von der ersten Filialgeneration abgelegten Eier weist in der ersten Winterabkühlung ebenfalls über den gesamten Ablagezeitraum Eier auf, die in der Initialdiapause lagen (Abb. 3.2-27). Der Ablagezeitraum erstreckte sich allerdings nur von Anfang August bis Ende August, begann also etwas verspätet. In der Woche vom 23.8. bis 29.8. abgelegte Eier entwickelten sich in der zweiten Filialgeneration bis zur Winterpause nicht mehr vollständig.

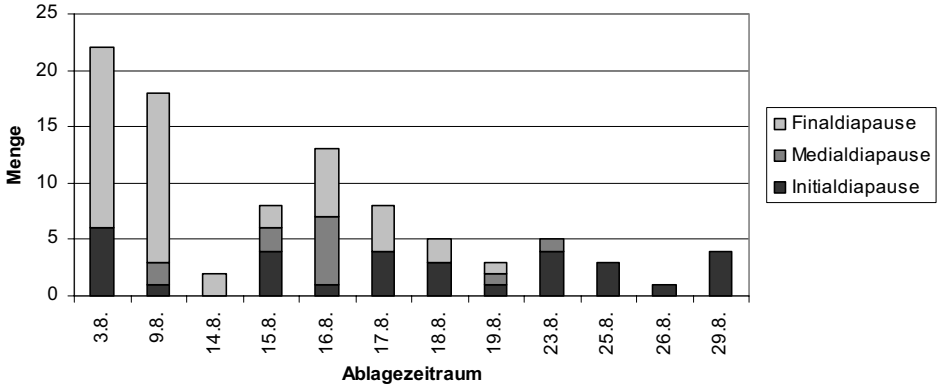


Abb. 3.2-27: Entwicklung von Embryonen der zweiten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode unter Berücksichtigung des Ablagedatums. Dargestellt sind die Nachkommen dreier in einem Behälter gemeinsam gehaltener Weibchen („G1") der Population *Hildesheim*.

Die Embryonalentwicklung der Gesamtpopulation *Hildesheim* weist für das Jahr der Eiablage einen hohen Anteil an Eiern auf, deren Embryonen sich bis zur ersten Abkühlung vollständig entwickelt haben. Die Anteile aller Diapausestadien sanken im Folgejahr. Im dritten Jahr der Ablage waren alle Tiere der ersten Filialgeneration *Hildesheim* geschlüpft (Abb. 3.2-28).

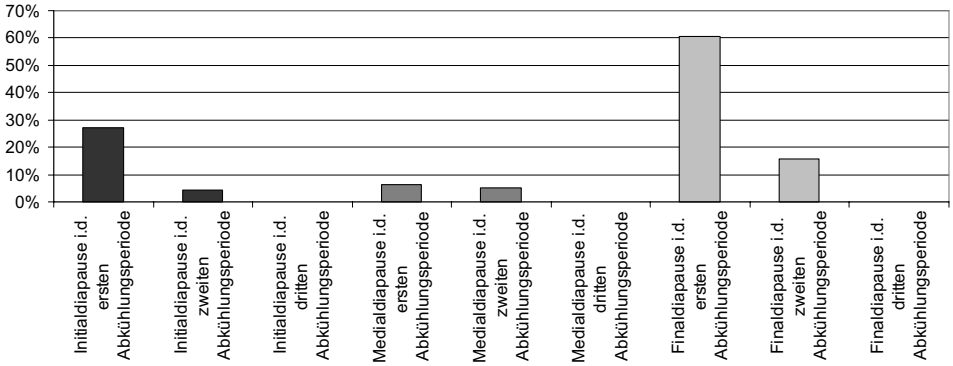


Abb. 3.2-28: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden abgelegten Eier der Population *Hildesheim*.

Wie in den anderen nachgezüchteten Populationen auch, konnte in der zweiten Generation eine gegenüber der F_1-Generation leicht verlangsamte Entwicklung festgestellt werden (Abb. 3.2-29). So sind die Anteile der Initial- und Medialdiapausestadien in den ersten beiden Kälteperioden größer. In der dritten Abkühlung konnten noch wenige Eier registriert werden, die nicht vollständig entwi-

ckelte Embryonen enthielten. Dementsprechend war auch der Anteil von Embryonen in der Finaldiapause während der dritten Winterpause höher.

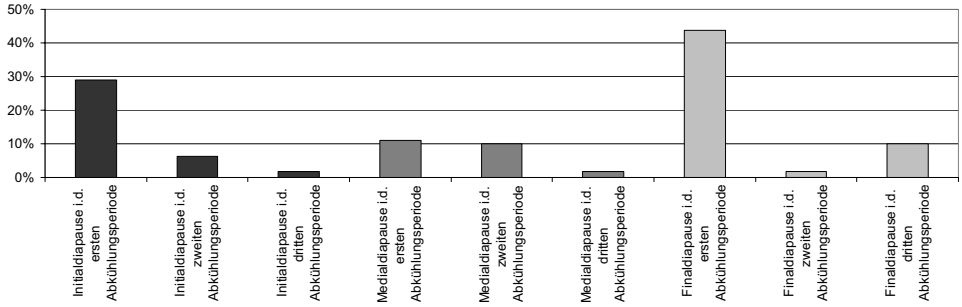


Abb. 3.2-29: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der Population *Hildesheim* in der zweiten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden.

Population *Kaufunger Wald*

Die für die Gründung der Laborzucht der Population *Kaufunger Wald* gesammelten Tiere legten insgesamt nur 48 Eier, von denen sich allerdings 28 entwickelten. In Abb. 3.2-30 ist die Entwicklung der Eier des Weibchens „W1“ in Bezug auf das Ablagedatum dargestellt. Der Zeitraum umfasst bei diesem Tier, ähnlich wie bei den anderen Tieren der Population, nur zwei Wochen; es lassen sich keine Aussagen zum Einfluss der Tageslichtdauer oder des Alters des Muttertiers auf den Stand der Entwicklung machen.

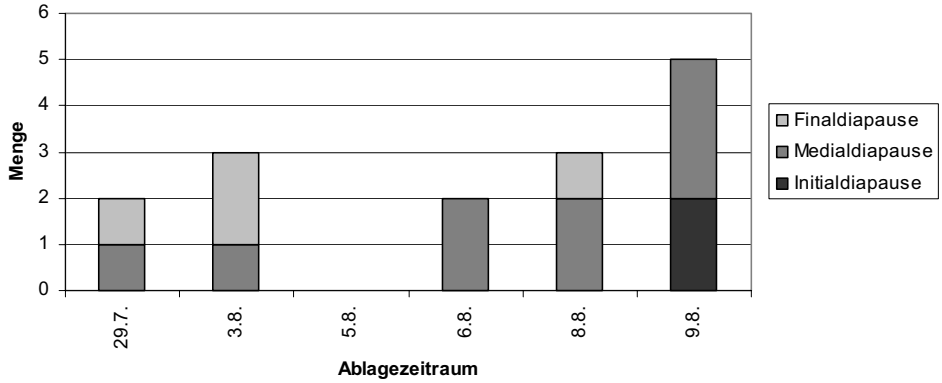


Abb. 3.2-30: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W1“) der Population *Kaufunger Wald*.

Bei der Darstellung von Prozenträngen des erreichten Entwicklungsstandes ist die geringe absolute Zahl untersuchter Eier zu beachten. Abb. 3.2-31 weist für

die Population *Kaufunger Wald* im Jahr der Eiablage eine hohe Quote von in der Medialdiapause die Winterabkühlung überdauernden Embryonen auf, die im Folgejahr leicht, im dritten Jahr nach der Eiablage stark sinkt. Dem gegenüber liegt der Anteil an Eiern, die der Initialdiapause zuzuordnen sind, im ersten Jahr bei unter 10 % und fällt in der zweiten Abkühlung noch einmal deutlich ab. In der darauf folgenden Abkühlung konnten keine in der Initialdiapause verbliebenen Eier festgestellt werden. Der Anteil der Embryonen erreichte nach der dritten Abkühlung den höchsten Stand.

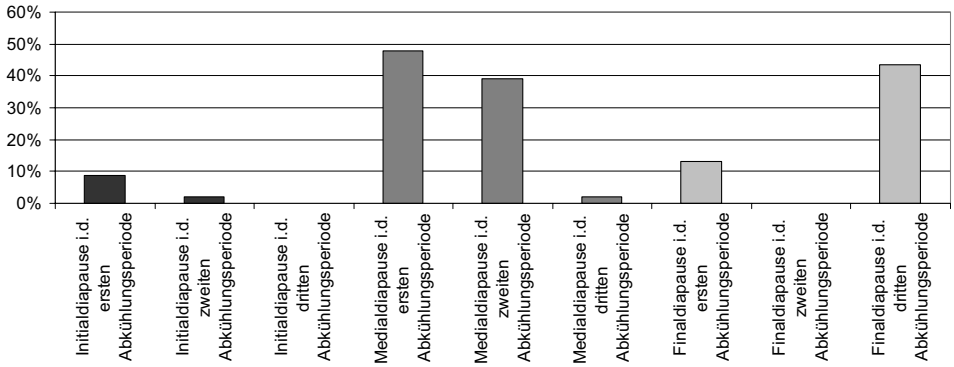


Abb. 3.2-31: Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Kaufunger Wald* abgelegten Eier.

Im Jahr nach der ersten Abkühlungsperiode schlüpften aber tatsächlich nur sechs Tiere, von denen vier Männchen bis zum Adultus gezogen werden konnten. Erst in der auf die dritte Winterabkühlung folgenden Vegetationsperiode schlüpfte eine ausreichend große Menge an Tieren, um im Labor die nächste (F_2-) Generation züchten zu können.

Population *Knutbühren*

Die von Tieren der Lokalität Knutbühren abgelegten Eier erreichten im Jahr der Ablage die Finaldiapause, wenn sie bis zum Ende der zweiten Augustdekade abgelegt wurden (Abb. 3.2-32: Auftragung für die von Individuum „W1“ abgelegten Eier). Der Anteil von Eiern, die bis zur ersten Abkühlung das Medialdiapausestadium erreichten, stieg bei Eiern, die Ende August abgelegt wurden. Eier, die keine Entwicklung zeigten, wurden hingegen häufiger gegen Ende der Ablageperiode abgelegt.

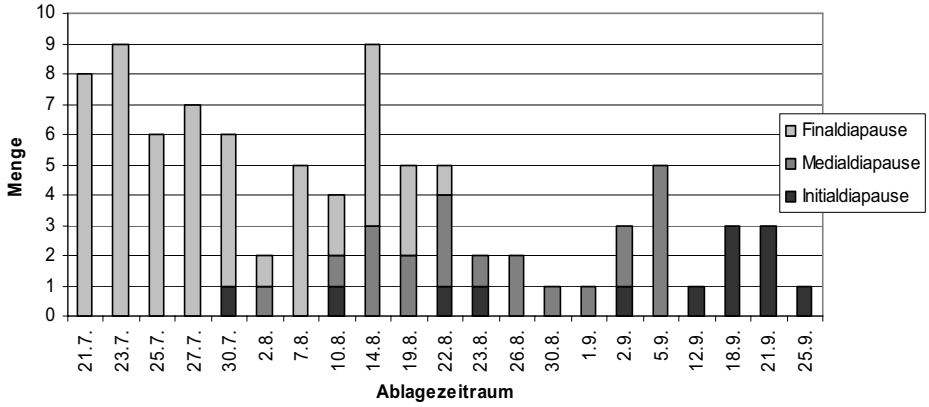


Abb. 3.2-32: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W1“) der Population *Knutbühren*.

Die von den Tieren der F_1-Generation abgelegten Eier zeigten im Jahr der Ablage eine etwa gleich verlaufende Entwicklung bis zur ersten Abkühlungsperiode wie die Elterngeneration (Abb. 3.2-33).

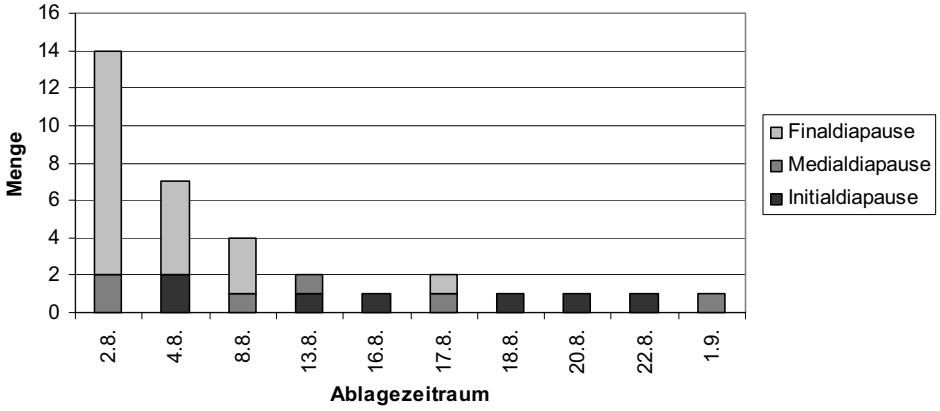


Abb. 3.2-33: Entwicklung von Embryonen der zweiten Filialgeneration unter Berücksichtigung des Ablagedatums während der ersten Abkühlungsperiode: Nachkommen dreier in einem Behälter gehalten Weibchen der Population *Knutbühren* („G1“).

Im Jahr der Ablage schloss die Hälfte der Eier von Tieren aus der Lokalität *Knutbühren* die Embryonalentwicklung der F_1 ab (Abb. 3.2-34). Von den übrigen Eiern verblieb über die Winterabkühlung etwas über die Hälfte in der Medialdiapause. Der Rest zeigte keine erkennbare Entwicklung. In den Folgejahren

sank der Anteil der Tiere, die bis zur Abkühlungsperiode die Finaldiapause erreichten. Der Anteil an der Medialdiapause blieb während der zweiten Winterabkühlung noch annähernd gleich hoch wie in der ersten Abkühlung. Der Anteil an Eiern, deren Entwicklungsstand während der kalten Periode der Initialdiapause zuzuordnen ist, sank vom ersten zum zweiten Jahr. Im dritten Jahr nach der Eiablage konnten keine Eier ohne sichtbare Anzeichen von Entwicklung registriert werden.

Die Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration bietet eine nahezu identische Verteilung der Diapausestadien über drei Winterabkühlungen (Abb. 3.2-35). Lediglich die Quote der Embryonen, die in der Finaldiapause die dritte Abkühlung überdauerten, ist in der zweiten Filialgeneration gegenüber der ersten leicht erhöht.

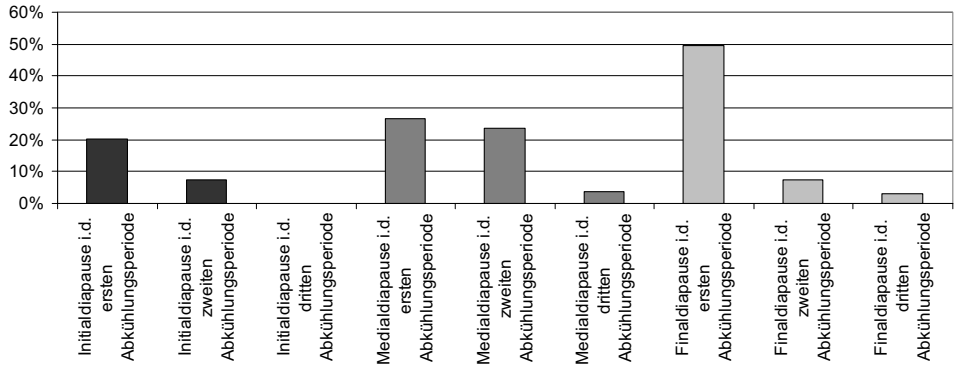


Abb. 3.2-34: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Knutbühren* abgelegten Eier.

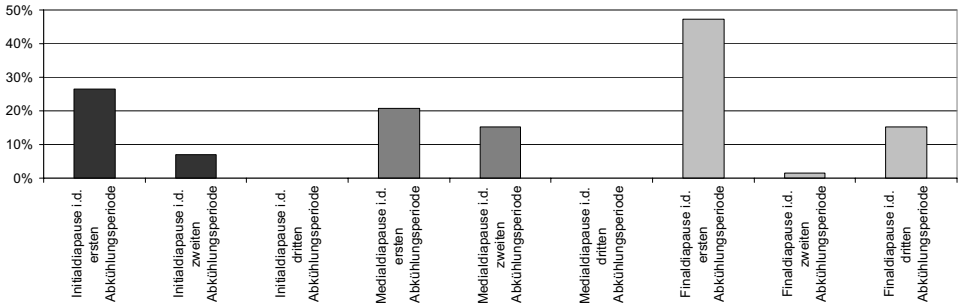


Abb. 3.2-35: Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der Population *Knutbühren* in der zweiten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden.

Population *Ossenfeld II*

Die F_1-Generation der Population *Ossenfeld II* weist, in Abb. 3.2-36 bei dem Individuum „W1“ dargestellt, nur für Embryonen eine Entwicklung bis zur Finaldiapause auf, deren Eiablage bis zum Ende der ersten Augustdekade erfolgte. Medial- und Initialdiapausestadien verteilen sich über den gesamten Ablagezeitraum. Die Tageslichtdauer scheint hier ohne Einfluss auf den bis zur Abkühlung erreichten Entwicklungsstand des Embryos zu sein.

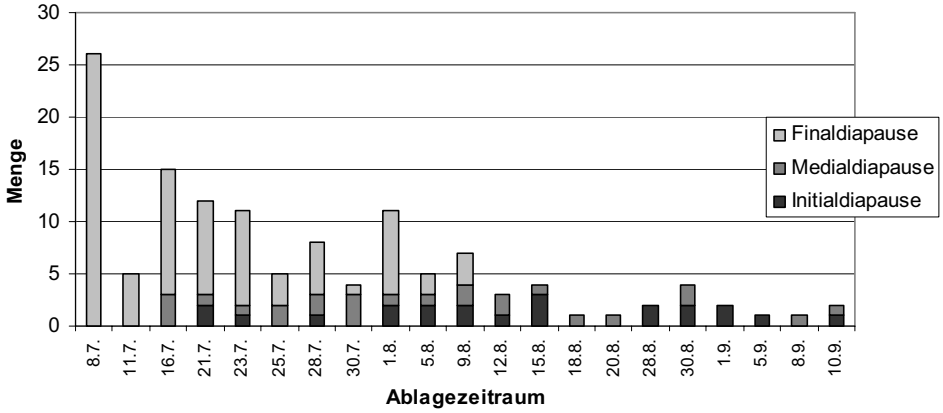


Abb. 3.2-36: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W1“) der Population *Ossenfeld II*.

Die Ablage der Eier durch Weibchen der ersten Filialgeneration erstreckte sich über einen Zeitraum von nur zwei Wochen. Dies erlaubt es nicht, Aussagen über einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Entwicklungsstand in der ersten Kälteperiode und dem Ablagetermin der Eier zu treffen. Auf die Darstellung wird daher verzichtet.

Die Entwicklung der ersten Filialgeneration läuft nicht in einer vergleichbar hohen Geschwindigkeit ab, wie es bei der vorangehend besprochenen Population zu beobachten war. Im Jahr der Ablage verblieben über 20 % der Eier ohne erkennbare Embryonalentwicklung. Dieser verhältnismäßig hohe Anteil sank auch im Folgejahr nicht deutlich. Erst in der dritten Abkühlungsperiode sank der Anteil der Initialdiapausestadien. Dementsprechend konnten auch in der ersten Abkühlungsperiode 25 % der Eier dem Medialdiapausestadium zugeordnet werden. Nach einem Jahr stieg der Anteil etwa um den Faktor, um den der Anteil der Initialdiapausestadien sank. Erst im zweiten Jahr nach der Eiablage konnte ein Rückgang der in der Medialdiapause verharrenden Eier registriert werden. Die Finaldiapause erreichten bis zur ersten Abkühlung knapp 50 % der abgelegten Eier. In den Folgejahren sank der Anteil an Finaldiapausestadien allerdings unter das Niveau der Medial- oder Initialdiapausestadien (Abb. 3.2-37). Hieraus wird ersichtlich, dass ein hoher Prozentsatz von Embryonen mehrere

Jahre für die vollständige Embryogenese benötigt und teilweise über mehr als eine Abkühlungsperiode in derselben Diapause ohne weiterlaufende Entwicklung verbleibt.

Die Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration wird aufgrund der relativ geringen Menge abgelegter Eier (n = 52) nicht dargestellt.

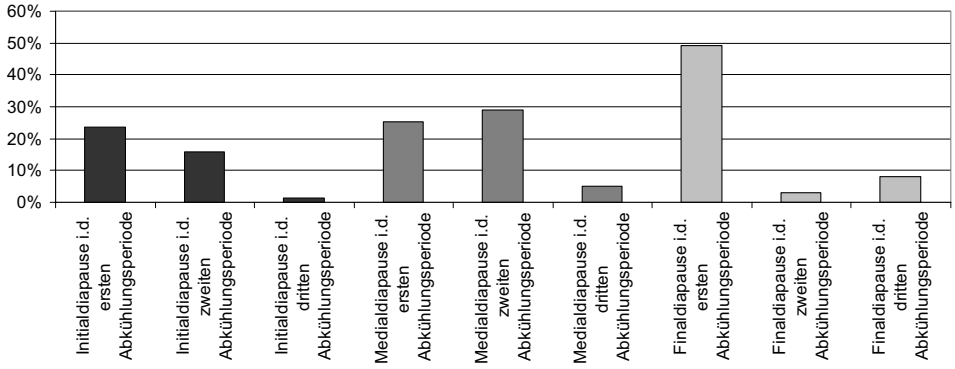


Abb. 3.2-37: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Ossenfeld II* abgelegten Eier.

Population *Scheden*

Aussagen zum Zusammenhang zwischen dem Alter des Weibchens, dem Termin der Eiablage und der Tageslichtdauer sind in der Population *Scheden* nur ansatzweise möglich, obwohl eine ausreichend große Anzahl Eier untersucht werden konnte. Die Reproduktionsrate der untersuchten Individuen war allerdings gering (siehe Abschnitt Reproduktionsrate der Wildfänge).

Eier, die bis Anfang August abgelegt wurden, entwickelten sich (bis auf eines) noch im Jahr der Ablage bis zur Finaldiapause. Eier, die die Winterabkühlung in der Medialdiapause überdauerten, konnten erst zum Ende der Ablageperiode registriert werden und traten nicht so häufig auf wie Eier, die keine Entwicklung zeigten (Abb. 3.2-38).

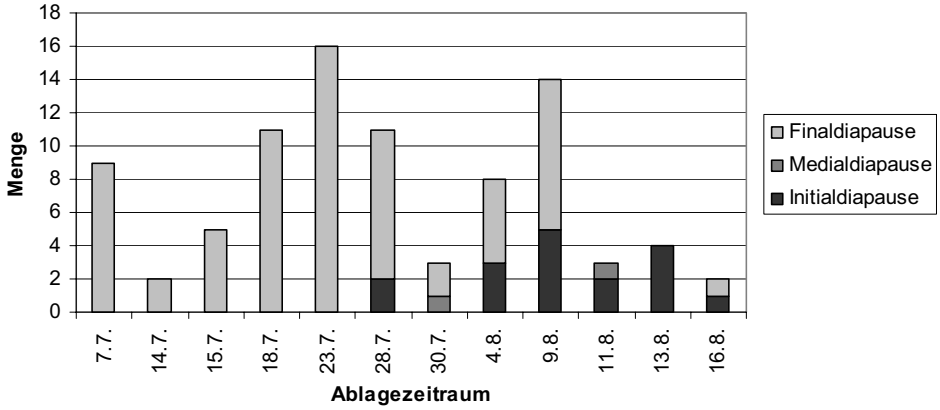


Abb. 3.2-38: Entwicklung von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode unter Berücksichtigung des Ablagedatums: Nachkommen eines Weibchens („W1“) der Population *Scheden*.

Eier der zweiten Filialgeneration schlossen die Embryonalentwicklung, wie diejenigen der ersten Filialgeneration, bis zur ersten Winterpause nur ab, wenn sie bis Mitte August abgelegt wurden (Abb. 3.2-39).

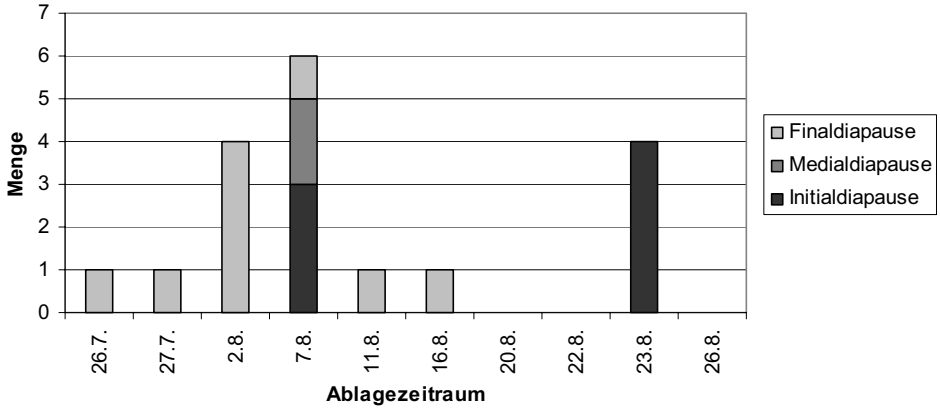


Abb. 3.2-39: Stand der Entwicklung während der ersten Abkühlungsperiode unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der zweiten Filialgeneration. Dargestellt sind nur die Nachkommen von drei gemeinsam gehaltenen Weibchen („G1“) der Population *Scheden*.

In der ersten Winterabkühlung hatten bereits über 70 % der ersten Filialgeneration die Embryonalentwicklung vollendet. Entsprechend gering waren die Anteile der anderen Diapausestadien (Abb. 3.2-40). Nach der dritten Abkühlungs-

periode verblieb von den abgelegten Eiern der ersten Filialgeneration nur noch ein Ei mit einem in der Medialdiapause überdauernden Embryo.

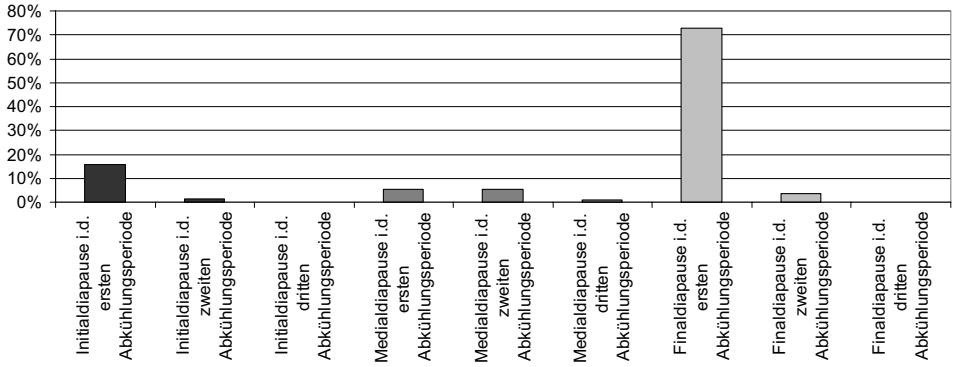


Abb. 3.2-40: Diapausestadien über drei Abkühlungsperioden in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration aller von Tieren der Population *Scheden* abgelegten Eier.

In der zweiten Filialgeneration erreichte der Anteil der Finaldiapausestadien in der ersten Abkühlungsperiode den höchsten Wert. Gestiegen sind im Verhältnis zur F_1-Generation die Anteile der Initial- und Medialdiapausestadien. Deren Anteile gingen in den folgenden beiden Abkühlungsperioden jedoch zurück. In der dritten Kältephase verblieb nur noch ein Ei in der Finaldiapause (Abb. 3.2-41).

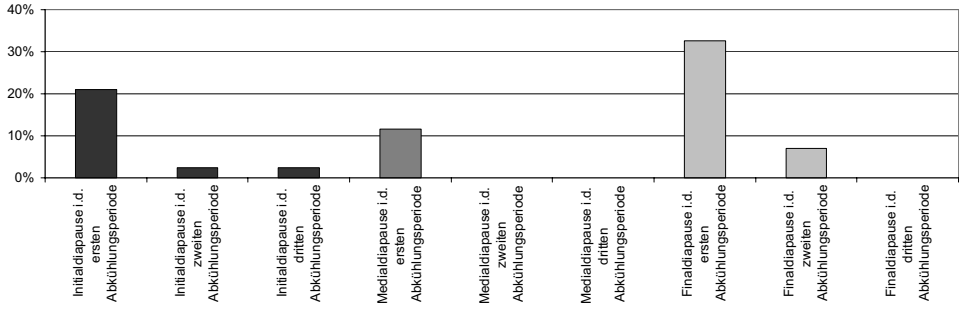


Abb. 3.2-41: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden der Population *Scheden*.

Population *Bad Lauterberg*

Die Embryonen der ersten Filialgeneration aus der Population *Bad Lauterberg* entwickelten sich im Jahr der Ablage nicht mehr bis zur Finaldiapause, wenn die Eier ab Anfang August abgelegt wurden. Auch der Anteil der Eier, die bis zur Winterabkühlung das Medialdiapausestadium erreichten, nahm zum Ende der Ablageperiode im Vergleich zu den Eiern, die der Initialdiapause zuzuordnen

sind, ab (Abb. 3.2-42 zeigt die Entwicklung der Eier, abgelegt von Individuum „W2“).

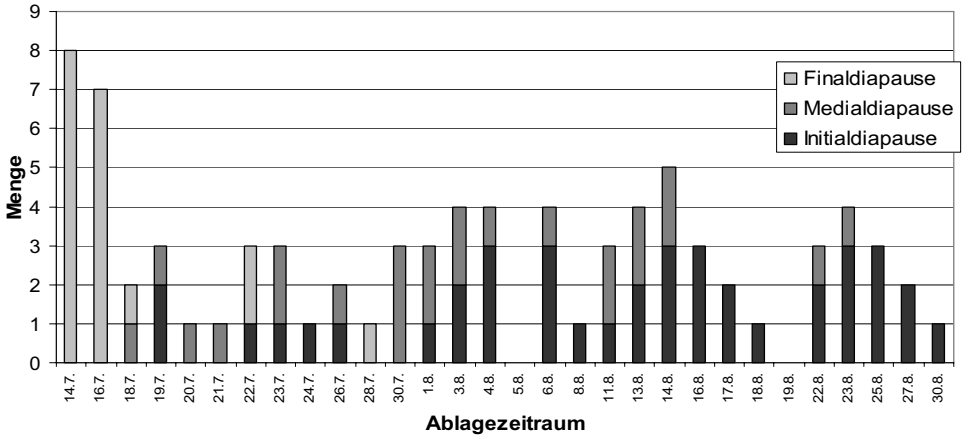


Abb. 3.2-42: Stand der Entwicklung von Embryonen der ersten Filialgeneration unter Berücksichtigung des Ablagedatums während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind die Nachkommen eines Weibchens („W2“) der Population *Bad Lauterberg*.

In der zweiten Filialgeneration gelangten bis zur ersten Winterabkühlung noch einzelne Individuen, deren Eier nach Anfang August abgelegt wurden, bis zur Finaldiapause (Abb. 3.2-43). Eier, die keine sichtbare Entwicklung zeigten, verteilten sich hier, wie auch in der ersten Filialgeneration, über den gesamten Ablagezeitraum. Embryonen, die in der Medialdiapause die erste Winterabkühlung überdauerten, waren in der zweiten Hälfte der Ablageperiode häufiger zu registrieren.

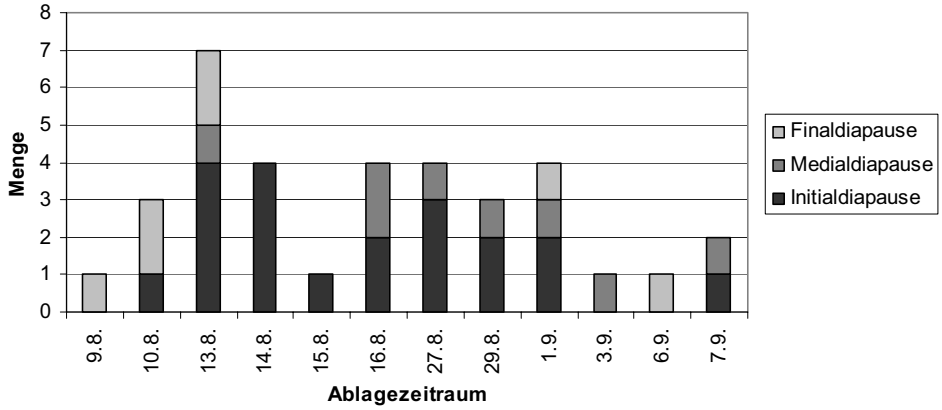


Abb. 3.2-43: Entwicklung unter Bezugnahme auf das Ablagedatum von Embryonen der zweiten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind die Nachkommen dreier in einem Gefäß gehaltenen Weibchen („G1") der Population *Bad Lauterberg*.

Der Anteil von Embryonen der ersten Filialgeneration, die im Jahr der Ablage keine Entwicklung zeigten, lag in der Population *Bad Lauterberg* bei etwa 40 %, von denen dann allerdings im zweiten Jahr nach Ablage viele Eier eine Entwicklung zeigten, was der Anstieg des Anteils der in der Medialdiapause die Winterabkühlung überdauernden Embryonen verdeutlicht (Abb. 3.2-44). Die in der Medialdiapause verbliebenen Embryonen sanken allerdings im dritten Jahr unter 5 %. In diesem Jahr stieg der Anteil der Finaldiapausestadien dann von unter 5 % in der zweiten Abkühlungsperiode auf über 25 % in der dritten Abkühlungsperiode (dies ist ähnlich der Population *Hasbruch* durch überliegende, d. h. in einem Diapausestadium ohne weitere Entwicklung die Vegetationsperiode überdauernde, Embryonen in der Medialdiapause zu erklären).

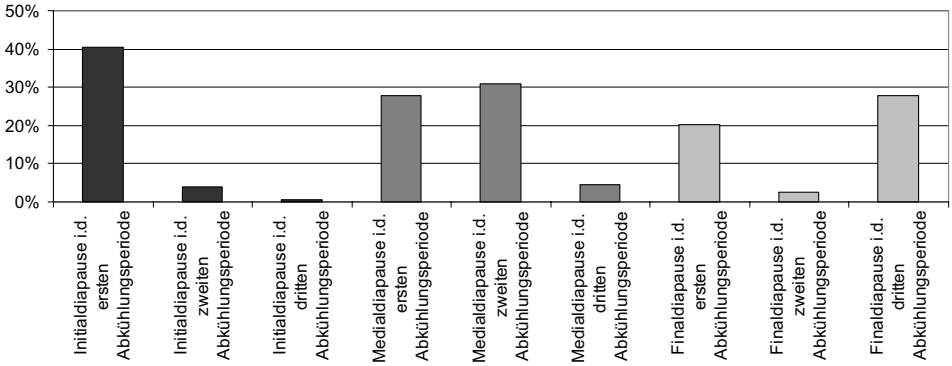


Abb. 3.2-44: Diapausestadien der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden der Population *Bad Lauterberg*.

Für die erste und zweite Winterabkühlung zeigen die Embryonen der zweiten Filialgeneration eine der ersten Filialgeneration vergleichbare Verteilung der verschiedenen Diapausestadien (Abb. 3.2-45).

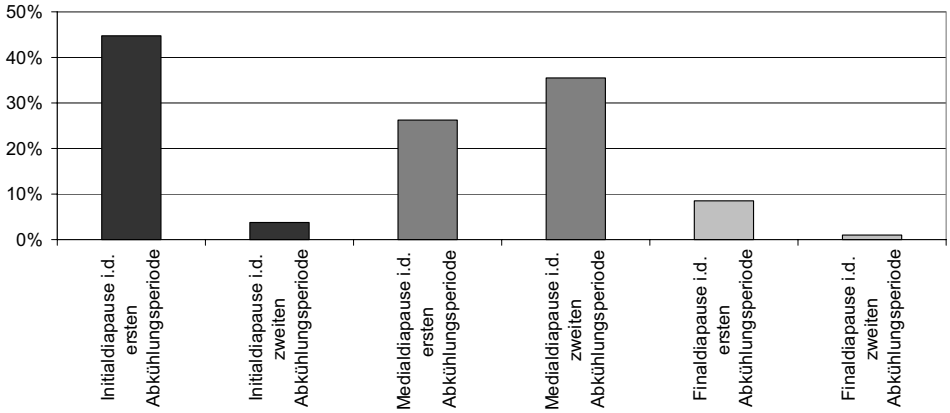


Abb. 3.2-45: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration über zwei Abkühlungsperioden für die Population *Bad Lauterberg*.

Population *Bremke*

Bei Tieren der Population *Bremke* erreichten Eier, die über nahezu den gesamten Ablagezeitraum vom Weibchen abgelegt wurden, bis zur ersten Kälteperiode das Medialdiapausestadium (Abb. 3.2-46). Ebenso verteilten sich Initial- und Finaldiapausestadien über den Ablagezeitraum, wobei dieser sich jedoch nur bis Ende August erstreckt hatte, sodass Aussagen über den bis zur ersten Winterabkühlung erreichten Entwicklungsstand unter ausgeprägten Kurztagbedingungen für die Population *Bremke* nicht getroffen werden können.

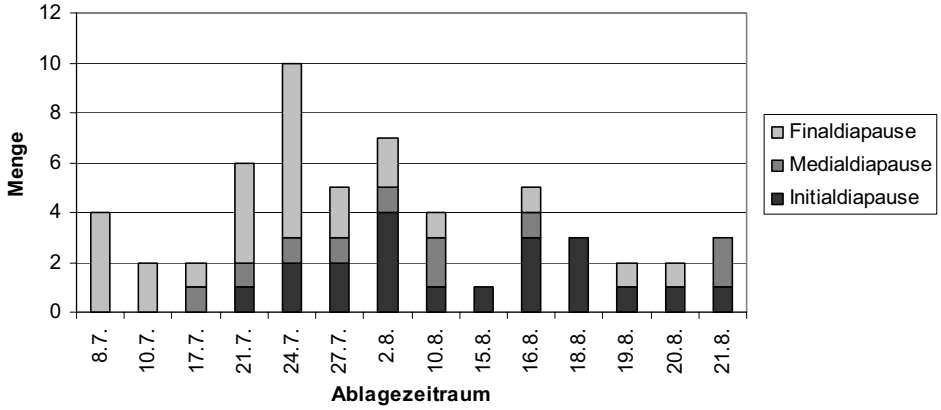


Abb. 3.2-46: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W1“) der Population *Bremke*.

In der ersten Filialgeneration der Population Bremke erreichte über 40 % der Embryonen die Finaldiapause im Jahr der Ablage. Da die Schlüpfrate nicht dem hohen Stand des Finaldiapauseanteils im darauf folgenden Jahr entsprach, letzterer sich zudem im Folgejahr auf einem hohen Niveau von 30 % hielt, ist für die Population Bremke davon auszugehen, dass ein Teil der Tiere, der im Vorjahr vollständig die Embryonalentwicklung abgeschlossen hat, ein weiteres Jahr in diesem Stadium überdauert (Abb. 3.2-47). Auf die Darstellung der Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration wird aufgrund der relativ geringen Menge abgelegter Eier (n = 26) verzichtet.

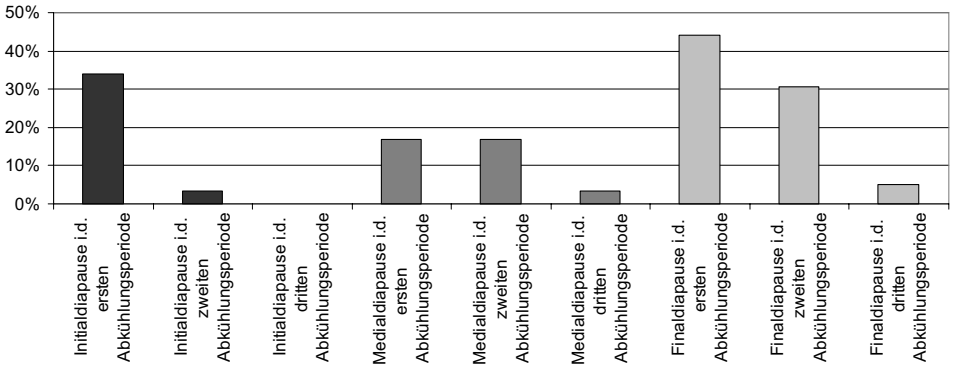


Abb. 3.2-47: Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Bremke* abgelegten Eier.

Populationen *Ebersberg Weg* und *Ebersberg Weiher*

Anders als etwa die norddeutschen Populationen *Ossenfeld I* und *Ossenfeld II*, die eine etwa gleich große räumliche Distanz zueinander aufweisen, zeigten die Populationen *Ebersberg Weg* und *Ebersberg Weiher* eine in der ersten Filialgeneration etwa gleich verlaufende Embryonalentwicklung und werden daher gemeinsam besprochen. Bemerkenswert ist allerdings, dass die Tiere der Population *Ebersberg Weiher* erst sehr spät begannen, Eier abzulegen. Dennoch lässt die Verteilung der Diapausestadien, die in der ersten Winterabkühlung protokolliert werden konnten, keinen Zusammenhang zwischen dem erreichten Entwicklungsstand und etwa der Tageslichtdauer oder dem Alter des Muttertieres erkennen. Abb. 3.2-48 zeigt den Entwicklungsstand der Embryonen von Weibchen „W2" der Population *Ebersberg Weg*. Bei allen untersuchten Tieren wurde ein hoher Anteil von Eiern registriert, die in der Initialdiapause die Kälteperiode überdauerten.

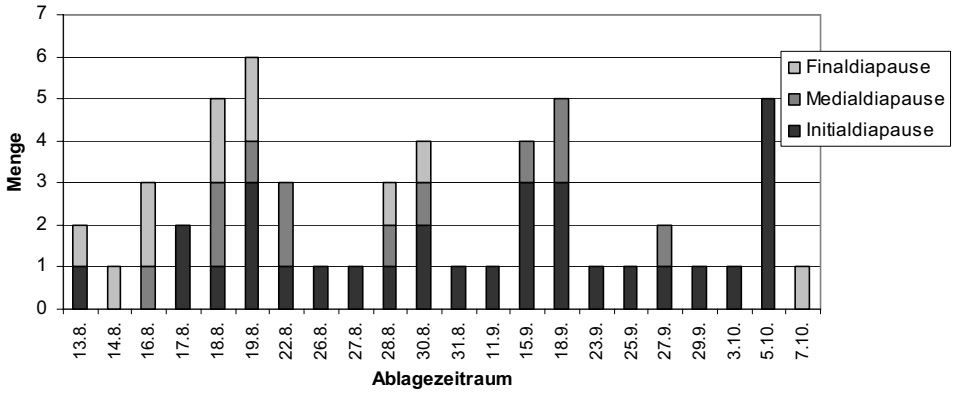


Abb. 3.2-48: Entwicklung von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode unter Berücksichtigung des Ablagedatums: Nachkommen eines Weibchens („W2") der Population *Ebersberg Weg*.

Dementsprechend überdauerte im Jahr der Ablage etwa die Hälfte der Embryonen aus den Populationen *Ebersberg* die erste Abkühlungsperiode als Initialdiapausestadien. Die geringe Quote an Embryonen, die im ersten Jahr bereits die Entwicklung im Ei abgeschlossen hatten, weist für die Populationen aus *Ebersberg* eine langsamere Entwicklung aus als etwa für die Populationen *Ludolfshausen* oder *Knutbühren*. So steigt auch der Anteil der Medialdiapausestadien in der zweiten Kälteperiode gegenüber der ersten an, fällt aber in der dritten Periode wieder ab. Damit geht einher, dass die Menge der Embryonen in der Finaldiapause in der dritten Winterabkühlung ansteigt (Abb. 3.2-49 zeigt den zeitlichen Verlauf der Embryonalentwicklung für die Population *Ebersberg Weg*). Die Embryonalentwicklung (Abb. 3.2-50 nur für die erste und zweite Winterabkühlung für die

Population *Ebersberg Weiher*) weist eine nahezu gleiche Verteilung der Diapausestadien wie die F_1-Generation auf.

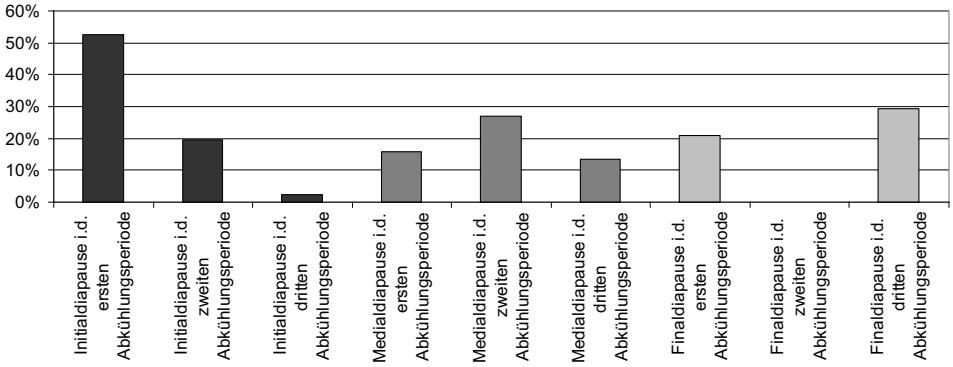


Abb. 3.2-49: Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden (Population *Ebersberg Weg*).

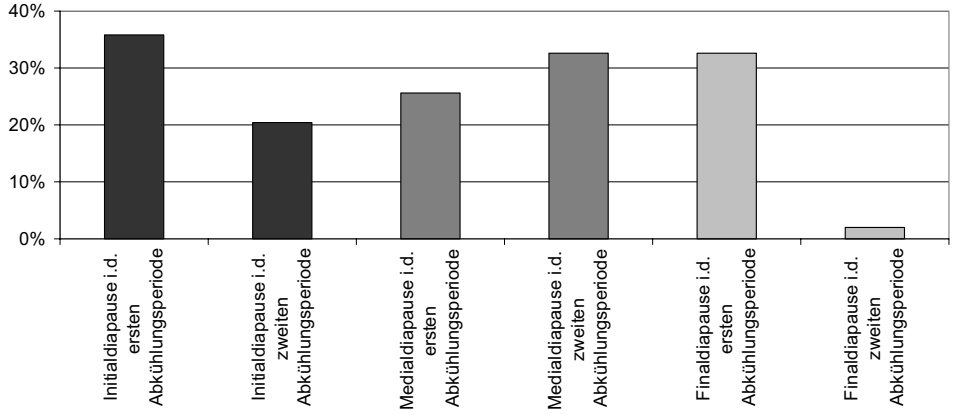


Abb. 3.2-50: Anteile der Diapausestadien über zwei Abkühlungsperioden in der Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration: Population *Ebersberg Weiher*.

Population *Göttinger Wald*

Die Weibchen der Population *Göttinger Wald* legten wenige (n = 54) Eier ab. Die Ablage erfolgte erst ab August, sodass für diese Population nur eingeschränkt Aussagen zum Einfluss von Tageslichtdauer oder des Muttertieralters auf den bis zur Winterabkühlung erreichten Stand der Entwicklung möglich sind. Entsprechend der späten Ablage scheint allerdings bei Tieren der Population *Göttinger Wald* die Tageslichtdauer einen Einfluss auf die Entwicklungsgeschwindigkeit der Embryonen zu haben. Aus Abb. 3.2-51 geht für Individuum „W3“ hervor,

dass nur am ersten Ablagetermin Eier registriert werden konnten, die die Embryonalentwicklung bis zu ersten Winterabkühlung abschließen konnten.

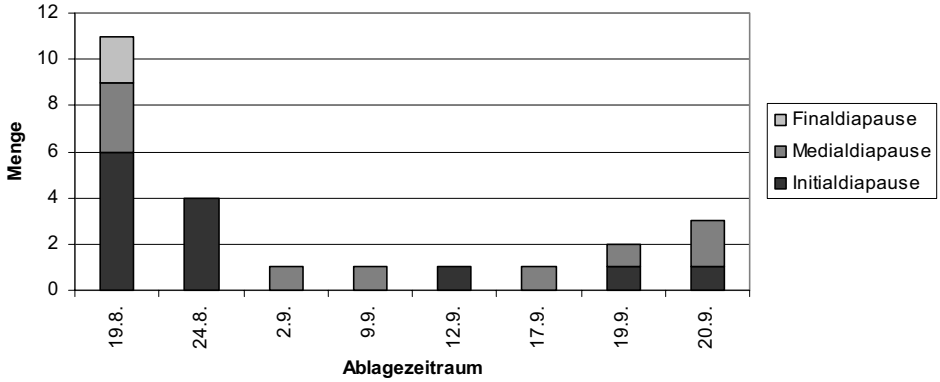


Abb. 3.2-51: Entwicklung von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode unter Bezugnahme auf das Ablagedatum. Dargestellt sind die Nachkommen eines Weibchens („W3“) der Population *Göttinger Wald*.

Hierdurch ist auch die verhältnismäßig geringe Quote der Eier bedingt, die in der Finaldiapause das erste Jahr ihrer Entwicklung abschlossen. Demgegenüber lag der Anteil der Eier, die dem Initialdiapausestadium zuzurechnen waren, mit 30 % relativ hoch. Eine etwas höhere Quote konnte für das Medialdiapausestadium registriert werden (Abb. 3.2-52). Das zweite Jahr der Embryonalentwicklung deutet für die Population *Göttinger Wald* mit einem Absinken des Anteils der Initialdiapausestadien, dem weiter vergrößerten Anteil von Medialdiapausestadien und dem geringen Anteil von Finaldiapausestadien auf eine mindestens um ein Jahr längere Embryonalentwicklung hin, als sie in der Population *Ludolfshausen* zu beobachten ist. Eine über einen längeren Zeitraum erfolgreich verlaufende Embryonalentwicklung wird durch den erhöhten Anteil der Eier mit abgeschlossener Embryonalentwicklung nach der dritten Abkühlung bestätigt. Erst in der darauf folgenden Wärmeperiode, also drei Jahre nach Ablage der Eier, gelang die Aufzucht einer größeren Anzahl von Tieren der F_1-Generation aus der Population *Göttinger Wald*.

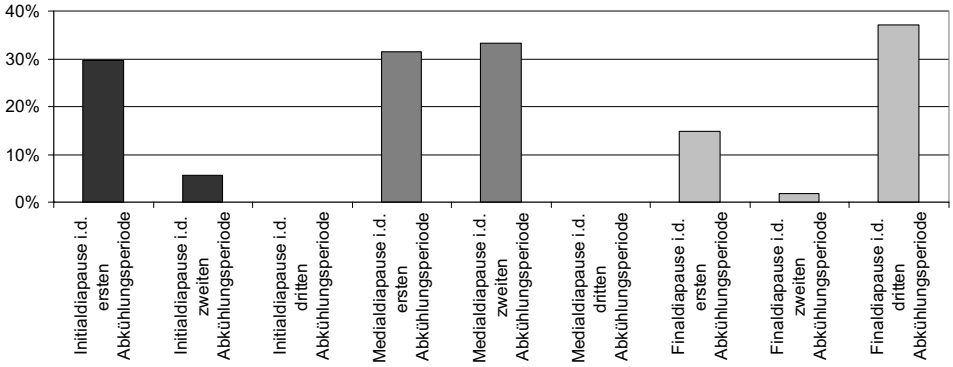


Abb. 3.2-52: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden. Eier wurden von Tieren der Population *Göttinger Wald* abgelegt.

Population *Ossenfeld I*

Bis zur ersten Winterabkühlung konnte in der ersten Filialgeneration der Population *Ossenfeld I* ein hoher Anteil an Initialdiapausestadien über den gesamten Ablagezeitraum protokolliert werden. Nur wenige Embryonen, deren Eiablage bis zum Ende der ersten Augustdekade erfolgte, waren bereits im Ablagejahr vollständig entwickelt. Auch zu Beginn der Ablageperiode abgelegte Eier erreichten bis zur ersten Kälteperiode das Finaldiapausestadium nicht (Abb. 3.2-53).

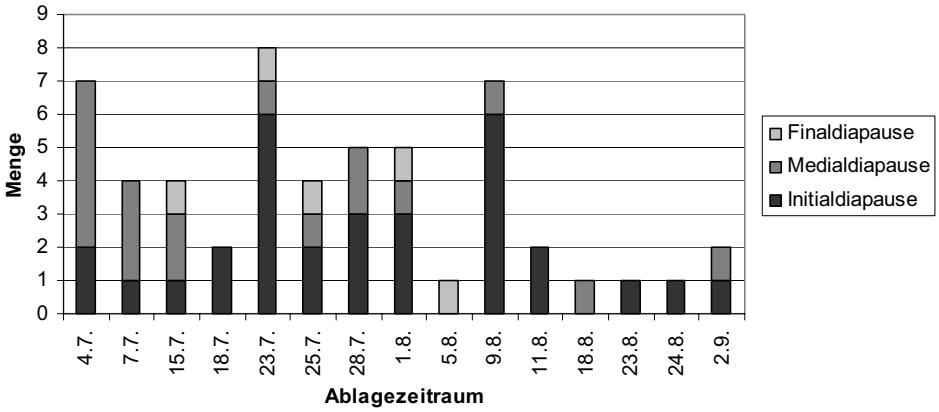


Abb. 3.2-53: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Weibchen: („W2“) der Population *Ossenfeld I*.

In der ersten Filialgeneration wiesen über 30 % der Eier im Jahr der Ablage keine Entwicklung auf. Der Anteil sank im Folgejahr um etwa die Hälfte. Während der dritten Winterabkühlung konnten keine verbliebenen Eier ohne Entwicklung registriert werden. Der Anteil von Medialdiapausestadien im Ablagejahr lag in etwa genau so hoch wie der Anteil der Initialdiapausestadien. Im Folgejahr waren noch etwa 25 % der Eier in der Medialdiapause. Dieser geringe Rückgang, der auch bei den Finaldiapausestadien feststellbar war, deutet auf einige in den verschiedenen Diapausestadien überliegenden Embryonen hin, die für die Population *Ossenfeld I* eine langsame Embryonalentwicklung ausweisen (Abb. 3.2-54).

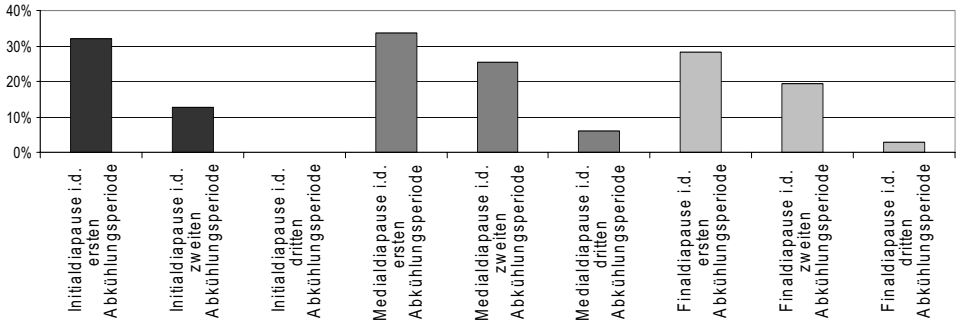


Abb. 3.2-54: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Ossenfeld I* abgelegten Eier.

Die erste Filialgeneration der Population *Ossenfeld I* legte insgesamt neun Eier ab. Eine Bewertung der Embryonalentwicklung für die folgenden Generationen entfällt.

Population *Oberkatzbach*

Bei Eiern, die von den Tieren der Population *Oberkatzbach* abgelegt wurden, erfolgte im Jahr der Ablage eine Entwicklung bis zur Finaldiapause nur bei einigen der sehr früh abgelegten Eier. Auch der Anteil von Eiern, die bis zur Winterabkühlung die Medialdiapause erreichten, war gering und ebenfalls auf frühe Ablagetermine beschränkt (Abb. 3.2-55). Im Jahr der Ablage deutet der Entwicklungsstand der Eier bereits auf eine verhältnismäßig langsame Embryonalentwicklung hin.

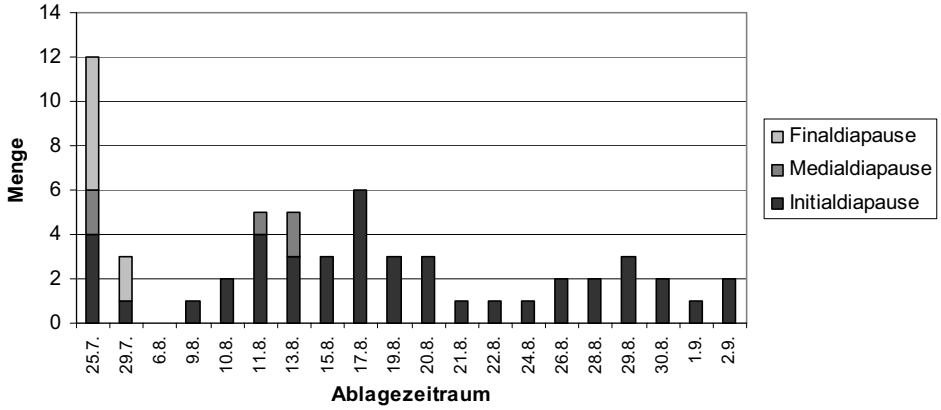


Abb. 3.2-55: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W2") der Population *Oberkatzbach*.

Nach einem Jahr schlüpften in der Population *Oberkatzbach* einige Tiere der ersten Filialgeneration. Eine Aufzucht bis zum Adultus gelang aber nicht bei genügend Individuen, um eine nächste Generation nachzüchten zu können.

Abb. 3.2-56 weist für diese Population eine sehr langsame Entwicklung der ersten Filialgeneration aus. Der Anteil der Embryonen, die in der Initialdiapause verharren, ist während der ersten Winterabkühlung mit über 60 % sehr hoch und nimmt in den Folgejahren nicht sehr stark ab. Demgegenüber steigt der Anteil von Embryonen in der Medialdiapause von der ersten auf die zweite Abkühlungsperiode leicht an und hält in etwa ein Niveau von 10 % in der dritten Abkühlungsperiode. Der Anteil von fertig entwickelten Embryonen steigt hingegen erst während der dritten Abkühlung an. Entsprechend erfolgte auch der Schlupf einer ausreichend großen Anzahl von Tieren zur Zucht der zweiten Filialgeneration erst im dritten Jahr nach Ablage der Eier.

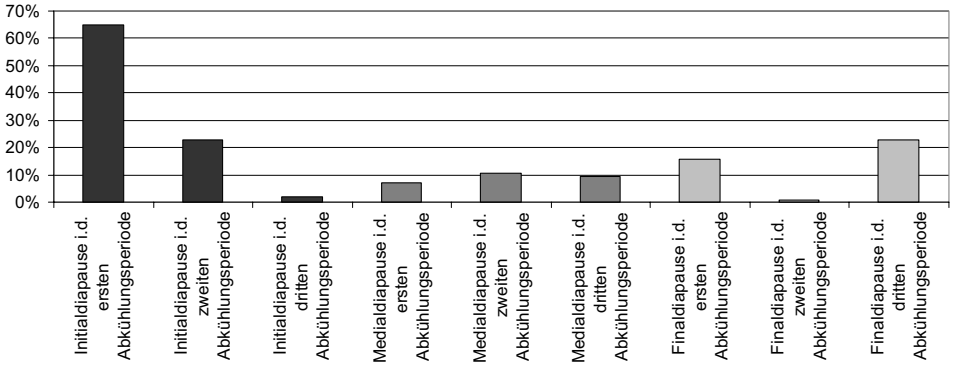


Abb. 3.2-56: Diapausestadien der Population *Oberkatzbach* in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden.

Population *Weißwassertal*

Tiere der Population *Weißwassertal* konnten erst 2004 in ausreichender Menge gesammelt werden, um eine Laborzucht zu begründen. Im Jahr 2003 wurden trotz mehrmaligem Aufsuchen des Habitats nur drei Individuen gefunden, von denen nur zwei Tiere bis zum Adultus gezogen werden konnten.

Die wenigsten der Eier von den 2004 in Zucht genommenen Tieren zeigten bis zur ersten Abkühlungsperiode Anzeichen einer Embryonalentwicklung (Abb. 3.2-57). Nur vereinzelt konnten Embryonen in der Medial- oder Finaldiapause registriert werden. Entsprechend stellt sich auch die Auftragung der Entwicklung über mehrere Winterabkühlungen dar (Abb. 3.2-58). Der starke Rückgang in allen Stadien in den Folgejahren ist auf eine hohe Absterberate (Abschnitt 3.2.2) zurückzuführen.

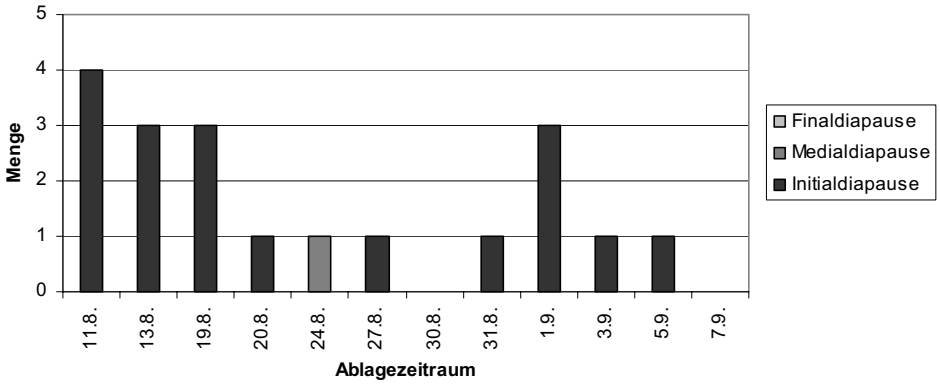


Abb. 3.2-57: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W1“) der Population *Weißwassertal*.

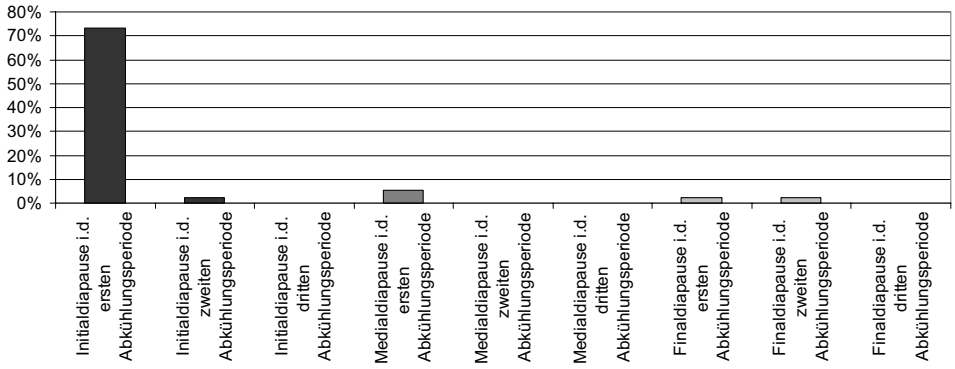


Abb. 3.2-58: Anteile der Diapausestadien der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller von Tieren der Population *Weißwassertal* abgelegten Eier in der Embryonalentwicklung.

Population *Zwölfgehren*

Aus der Population *Zwölfgehren* konnten im Jahr 2003 keine Tiere in Zucht genommen werden, da im Habitat trotz intensiver Suche keine Tiere aufzufinden waren. Erst im darauf folgenden Jahr konnten Tiere gesammelt werden. Nur wenige der später abgelegten Eier zeigten bis zur ersten Winterabkühlung eine Entwicklung. Bei dem ausgewählten Beispiel (Abb. 3.2-59) ist keine Entwicklung bis zur Finaldiapause protokollierbar geworden. Dennoch waren bei den von anderen Tieren dieser Population abgelegten Eiern wenige dabei, die dieses Diapausestadium erreichten.

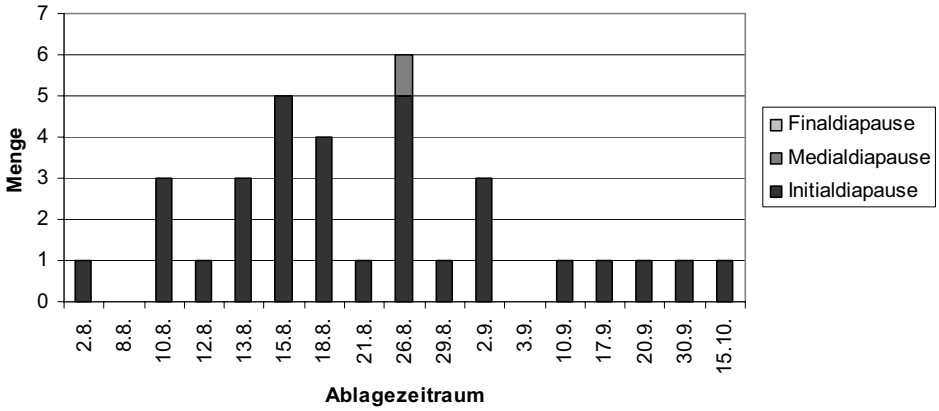


Abb. 3.2-59: Stand der Entwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Embryonen der ersten Filialgeneration während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind nur die Nachkommen eines Weibchens („W1“) der Population *Zwölfgehren*.

Die Entwicklung der Eier über mehrere Jahre zeigt im ersten Jahr für diese Population einen vergleichsweise hohen Anteil von Eiern, die in der Initialdiapause verharren. Dieser Anteil sinkt allerdings im zweiten Jahr stark (was auch in einer hohen Absterberate begründet liegt; vgl. Abschnitt 3.2.2). Die Anteile der Medial- und Finaldiapausestadien liegen sowohl im Jahr der Ablage als auch in den Folgejahren auf niedrigem Niveau (Abb. 3.2-60). Eine Zucht von Filialgenerationen gelang in dieser Population nicht.

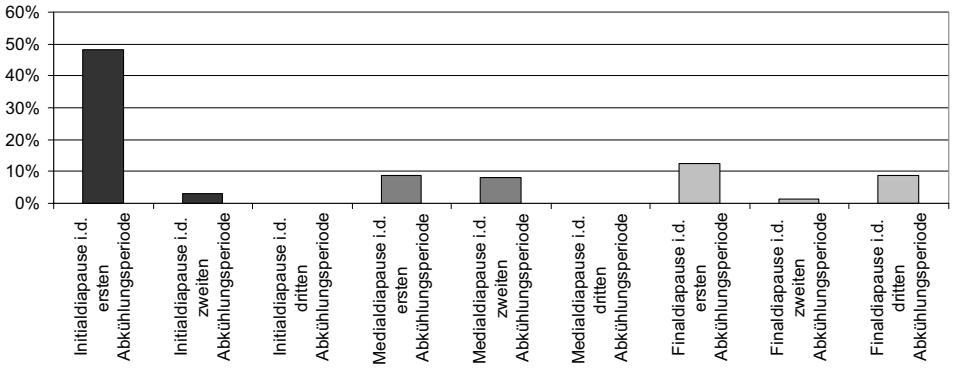


Abb. 3.2-60: Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der ersten Filialgeneration über drei Abkühlungsperioden unter Einbeziehung aller Eier von Tieren der Population *Zwölfgehren*.

3.2.9 Entwicklung der Inzuchtlinien

Die Embryonalentwicklung der Inzuchtlinien bis zur ersten Winterabkühlung in Bezug auf das Ablagedatum der Eier erfolgte in der zweiten und dritten Filialgeneration im Wesentlichen analog zur Entwicklung der Populationszuchten und wird daher nicht graphisch dargestellt.

Die Entwicklung der Eier über mehrere Abkühlungsperioden wies bei einigen Inzuchtlinien geringfügige Abweichungen auf. In der Inzucht *Ludolfshausen* (F_2) waren gegenüber der Populationszucht weniger Medialdiapausestadien während der ersten und zweiten Abkühlung zu verzeichnen (Abb. 3.2-61). Die Verteilung der restlichen Diapausestadien ist vergleichbar mit der Populationszucht. Für die Inzucht mit Tieren der Population *Knutbühren* und *Bad Laer* können die gleichen Aussagen getroffen werden.

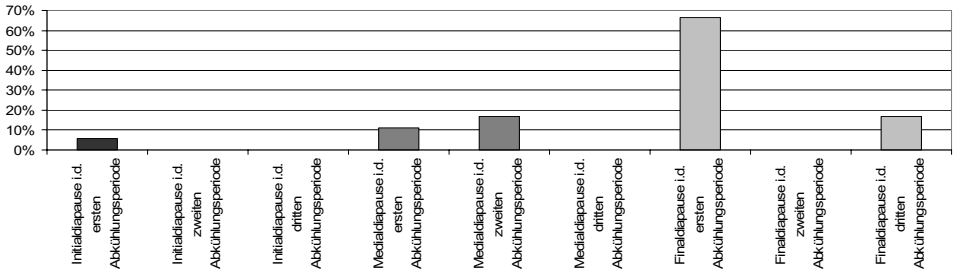


Abb. 3.2-61: Anteile der Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration in der Inzuchtlinie *Ludolfshausen* („G3“) über drei Abkühlungsperioden.

Die F_2-Inzucht der Population *Scheden* wies gegenüber der Populationszucht in der ersten Winterabkühlung eine geringere Quote von Embryonen auf, die die Eientwicklung bereits abgeschlossen hatten (Abb. 3.2-62). Mehr als 20 % der Embryonen verharrten während der ersten Kälteperiode in der Medialdiapause (in der Populationszucht lag der Anteil bei 5 %). Dementsprechend zeigten über 40 % der Eier keine Entwicklung. Das ist etwa das Zweifache der Populationszucht. Im zweiten Jahr der Embryonalentwicklung nahm der Anteil der Medialdiapausestadien kaum ab. Es wurden keine Embryonen in der Finaldiapause registriert. Auch während der dritten Winterabkühlung konnten noch Eier protokolliert werden, deren Entwicklungsstand dem Initialdiapausestadium zuzurechnen war.

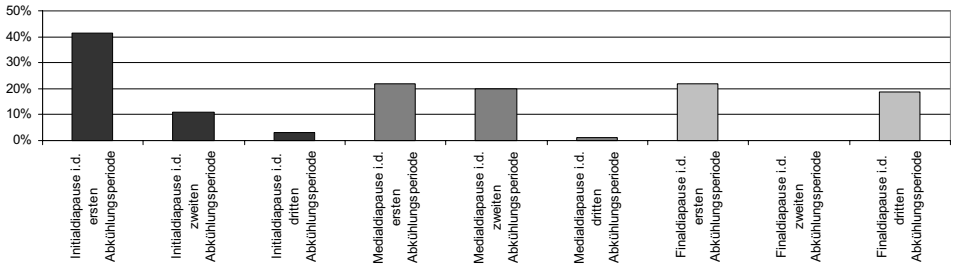


Abb. 3.2-62: Diapausestadien in der Embryonalentwicklung der zweiten Filialgeneration in der Inzuchtlinie *Scheden* („G3“) über drei Abkühlungsperioden.

Die Embryonalentwicklung der dritten Inzuchtgeneration (Abb. 3.2-63 zeigt exemplarisch die Entwicklung der Inzuchtlinie *Ludolfshausen*). Sie entspricht der Entwicklung der Populationszuchten. In der Inzuchtlinie *Ludolfshausen* liegt die Quote nicht entwickelter Eier im Ablagejahr bei unter 20 % und sinkt bis zur zweiten Winterabkühlung auf unter 5 %. Im Jahr der Ablage hatte bereits etwa die Hälfte die Embryonalentwicklung abgeschlossen. Im darauf folgenden Jahr waren es noch einmal weitere 20 %.

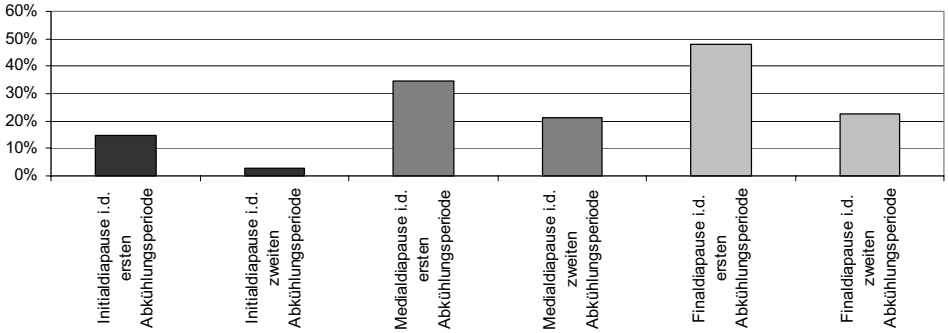


Abb. 3.2-63: Anteile der Diapausestadien von der Inzuchtlinie *Ludolfshausen* („FG3") in der Embryonalentwicklung der dritten Filialgeneration über zwei Abkühlungsperioden.

3.2.10 Entwicklung der Populationshybriden

In der Embryonalentwicklung wies die erste Filialgeneration der Populationshybriden bereits im Jahr der Ablage Unterschiede in der Überlebenswahrscheinlichkeit und Entwicklungsgeschwindigkeit auf. Es erfolgt daher keine Darstellung der Embryonalentwicklung über mehrere Abkühlungsperioden.

Die Nachkommen der im Labor gezüchteten Populationshybriden weisen neben einer unterschiedlichen Überlebenswahrscheinlichkeit der F_1-Generation während ihrer Embryonalentwicklung auch Unterschiede in der Entwicklungsgeschwindigkeit gegenüber den Populationszuchten, aus denen das Weibchen stammt, auf. Es wird angenommen, dass die Entwicklungsgeschwindigkeit bei Laubheuschrecken maternell gesteuert ist (Ingrisch 1986b, Helfert 1980, Hartley 1990, Gottwald et al. 2002). So entwickelten sich Embryonen, die aus einer Kreuzung von einem Weibchen aus der Population *Hasbruch* mit einem Männchen aus der Population *Knutbühren* stammten, schneller, als Embryonen der Populationszucht *Hasbruch*. Alle der als Populationshybriden klassifizierten Eier schlossen bereits im Jahr der Ablage die Embryonalentwicklung ab (Abb. 3.2-64). Nachkommen von Weibchen aus der Population *Hildesheim*, die mit Männchen der Population *Ludolfshausen* verpaart wurden, zeigten ebenfalls mehr vollständig entwickelte Embryonen bis zur ersten Winterabkühlung, als die Zucht der Population *Hildesheim*. Auch die Nachkommen eines Weibchens aus der Population *Weißwassertal* und eines Männchens aus der Population *Ossenfeld I* entwickelten sich. Der Versuch, eine Populationszucht von Tieren aus *Weißwassertal* zu etablieren, war in zwei aufeinander folgenden Jahren gescheitert.
Nachkommen von Weibchen der Population *Bad Laer*, die mit Männchen der Population *Knutbühren* verpaart wurden, zeigten eine vergleichbare Entwicklung wie sie in den Herkunftspopulationen der Elterntiere zu beobachten war. Das konnte auch für Weibchen aus *Scheden* und Männchen aus *Hildesheim* sowie Weibchen aus *Bad Lauterberg* und Männchen aus *Hasbruch* festgestellt werden.

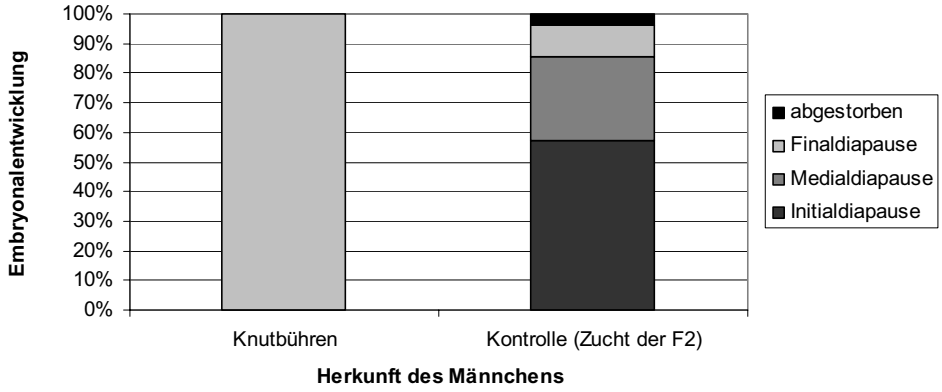


Abb. 3.2-64: Entwicklungs- und Absterberate der Nachkommen von im Labor gekreuzten Tieren verschiedener Populationen in der ersten Abkühlungsperiode (n = 25). Die Weibchen waren aus der Population *Hasbruch*, die Männchen aus der Population *Knutbühren*. Außerdem vergleichend dargestellt ist die Entwicklung der Herkunftspopulation des Weibchens (Kontrolle; n = 75). In allen folgenden Abbildungen sind die Absterberaten integriert. Dadurch ergibt sich die Folge: Initial-, Medial-, Finaldiapause, abgestorbene Eier; die Absterberaten sind für jede Säule oben, die Initialdiapausestadien unten dargestellt.

Die Nachkommen von Weibchen anderer Populationen wiesen im Vergleich zu den Nachkommen der Populationszuchten eine stärker verlangsamte Embryonalentwicklung auf.

Während sehr wenige Embryonen der Population *Ludolfshausen* die erste Abkühlungsperiode in der Initialdiapause verbrachten, war der Anteil dieses Diapausestadiums sehr groß, wenn Weibchen aus *Ludolfshausen* mit Männchen anderer Populationen verpaart wurden. Stammt das Männchen aus *Scheden* – einer ebenfalls südniedersächsischen Population – lag der Anteil der Eier, die in der ersten Kältephase keine Entwicklung zeigten, bei über der Hälfte der abgelegten Eier mit entsprechend verringerten Anteilen an Medial- und Finaldiapausestadien. Wurde dem Weibchen ein Männchen aus der Population *Ebersberg* (Alpenvorland) angeboten, entwickelten sich etwas über 20 % der abgelegten Eier nicht bis zur ersten Winterabkühlung. Eine ähnliche Quote erreichten Eier in der Initialdiapause, wenn der Kopulationspartner des Weibchens aus der südniedersächsischen Population *Bremke* stammte. Bei allen populationshybriden Nachkommen lag die Absterberate im ersten Jahr unter 10 %, allerdings dennoch über der der Populationszucht *Ludolfshausen* (Abb. 3.2-65). Der Anteil der Eier, die bis zur ersten Winterabkühlung keine Entwicklung zeigten, lag ebenso über dem Anteil, den das Initialdiapausestadium in der Herkunftspopulation der Männchen aufwies.

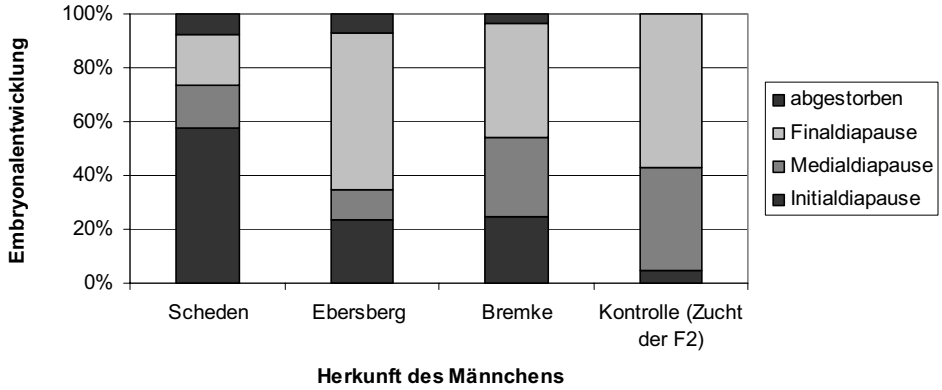


Abb. 3.2-65: Entwicklungs- und Absterberate der Nachkommen von im Labor gekreuzten Tieren verschiedener Populationen in der ersten Abkühlungsperiode. Die Weibchen waren aus der Population *Ludolfshausen*. Nachkommen mit Männchen aus *Scheden* n = 38; *Ebersberg* n = 72; *Bremke* n = 105. Außerdem vergleichend dargestellt ist die Entwicklung der Herkunftspopulation (n = 88) des Weibchens.

Bis zur ersten Winterabkühlung zeigten die populationshybriden Embryonen der ersten Filialgeneration eine von der Populationszucht *Ludolfshausen* abweichende Entwicklung in Bezug auf den Ablagetermin der Eier. Eier, die zu Beginn der Ablageperiode abgelegt wurden, erreichten bis zur ersten Abkühlung teilweise die Finaldiapause. Aber auch bereits Ende Juli abgelegte Eier entwickelten sich nicht mehr vollständig. Das Vorliegen der Initialdiapause während der ersten Winterabkühlung konnte bei den Ende Juli abgelegten Eiern registriert werden (Abb. 3.2-66).

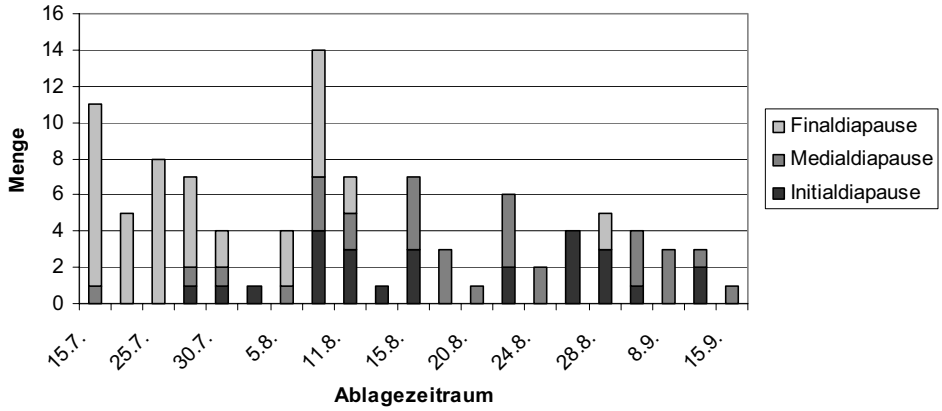


Abb. 3.2-66: Stand der Embryonalentwicklung unter Berücksichtigung des Ablagedatums von Eiern des Weibchens aus *Ludolfshausen*, das mit einem Männchen aus *Bremke* verpaart wurde, während der ersten Abkühlungsperiode.

Wurden den Weibchen einer Population Männchen unterschiedlicher Herkunft als Kopulationspartner angeboten, konnte bei den Nachkommen eine unterschiedliche Überlebenswahrscheinlichkeit in der embryonalen Entwicklung festgestellt werden.

Wurde ein Weibchen der Population *Groß-Ellershausen* mit einem Männchen aus der Population *Bad Lauterberg* verpaart, zeigten die Nachkommen bis zur ersten Abkühlungsperiode eine Absterberate von über 40 %. In der Wiederholung dieser Konstellation konnte im Folgejahr eine noch größere Anzahl abgestorbener Eier bis zur ersten Abkühlung registriert werden. Die populationshybriden Nachkommen zeigten bis zur ersten Abkühlungsphase eine höhere Absterberate in ihrer Embryonalentwicklung als die Zucht der Population *Groß-Ellershausen*. Wurde hingegen dem Weibchen ein Männchen aus der Population *Knutbühren* angeboten, wiesen die Nachkommen gegenüber der Populationszucht *Groß-Ellershausen* eine beschleunigte Entwicklung und auch eine geringere Absterberate bis zur ersten Kältephase auf (Abb. 3.2-67).

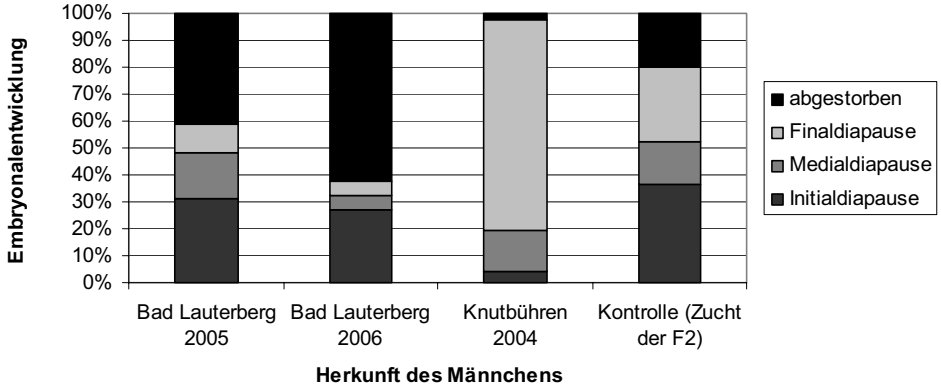


Abb. 3.2-67: Entwicklungs- und Absterberate der Nachkommen von im Labor gekreuzten Tieren verschiedener Populationen in der ersten Abkühlungsperiode. Die Weibchen waren aus der Population *Groß-Ellershausen*. Die Kreuzung des Weibchens mit einem Männchen aus *Bad Lauterberg* wurde im Folgejahr wiederholt. Im ersten Jahr wurden 29 Eier abgelegt, im zweiten Jahr 114. Aus Versuchen mit Männchen der Population *Knutbühren* wurden 93 Eier untersucht. Außerdem vergleichend dargestellt ist die Entwicklung der Herkunftspopulation des Weibchens (n = 80).

Nachkommen von Männchen der Population *Knutbühren* und Weibchen der Population *Bad Laer* entwickelten sich bis zur ersten Winterabkühlung nicht bis zur Finaldiapause. Der Anteil abgestorbener Eier betrug über 60 % (Abb. 3.2-68). Lediglich zwei von insgesamt 26 abgelegten Eiern zeigten eine Entwicklung bis zur Medialdiapause.

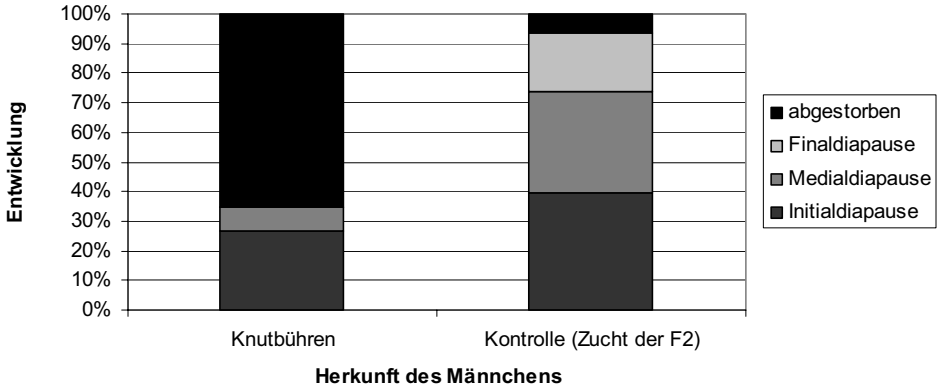


Abb. 3.2-68: Entwicklungs- und Absterberate der Nachkommen von im Labor gekreuzten Tieren verschiedener Populationen in der ersten Abkühlungsperiode (n = 26). Das Weibchen ist aus der Population *Bad Laer*. Außerdem vergleichend (Kontrolle) dargestellt ist die Entwicklung der Herkunftspopulation (n = 76) des Weibchens.

Wurden Weibchen der Population *Knutbühren* mit Männchen aus unterschiedlichen Populationen verpaart, zeigten die Nachkommen bis zur ersten Abkühlung nicht, wie in der F_1-Generation der Populationshybriden von Weibchen der Population *Ludolfshausen*, einen wesentlich größeren Anteil nicht entwickelter Eier gegenüber der Populationszucht *Knutbühren*. Die Absterberaten lagen jedoch in den unterschiedlichen Kombinationen erheblich höher als in der Population *Knutbühren*. Die in Abb. 3.2-69 dargestellte Kombination mit Männchen aus der Population *Ossenfeld I* ergab keine Entwicklung für die nicht abgestorbenen Eier. Die Lokalität, an der die Population *Ossenfeld I* entnommen wurde, liegt etwa fünf Kilometer von dem Herkunftsgebiet der Population *Knutbühren* entfernt. Die Populationen sind jedoch durch bewirtschaftetes Land voneinander separiert. Die im Verhältnis beste Entwicklung zeigen Nachkommen mit Männchen aus der Population *Bad Lauterberg*, von welcher das Herkunftshabitat den größten räumlichen Abstand zur Population *Knutbühren* aufweist.

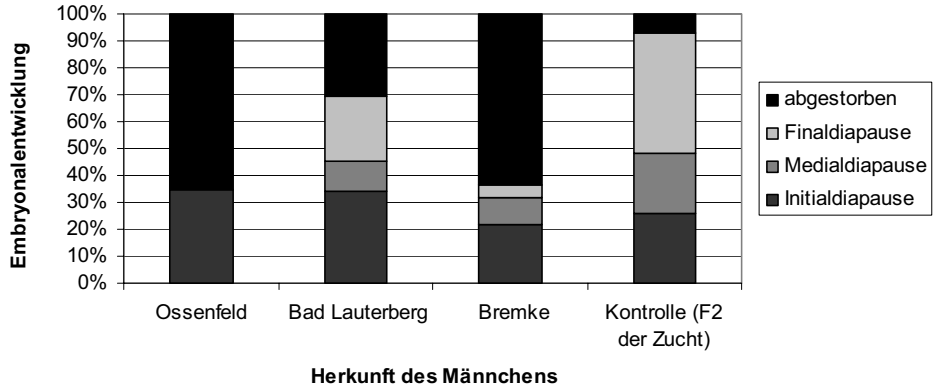


Abb. 3.2-69: Entwicklungs- und Absterberate der Nachkommen von im Labor gekreuzten Tieren verschiedener Populationen in der ersten Abkühlungsperiode. Nachkommen mit Männchen aus *Ossenfeld* n = 20; *Bad Lauterberg* n = 131; *Bremke* n = 60.Das Weibchen ist aus der Population *Knutbühren*. Außerdem vergleichend dargestellt ist die Entwicklung der Herkunftspopulation (n = 72) des Weibchens.

Auch bei populationshybriden Nachkommen von Weibchen aus der Population *Ossenfeld I* und Männchen aus der Population *Bad Laer* konnte in der ersten Winterabkühlung eine größere Mortalität während der embryonalen Entwicklung protokolliert werden als in der Herkunftspopulation (in Abb. 3.2-70 ist die Population *Bad Laer* vergleichend dargestellt). Einige Eier der populationshybriden F_1-Generation erreichten die Finaldiapause. Es entwickelte sich jedoch kein Ei bis zur Medialdiapause.

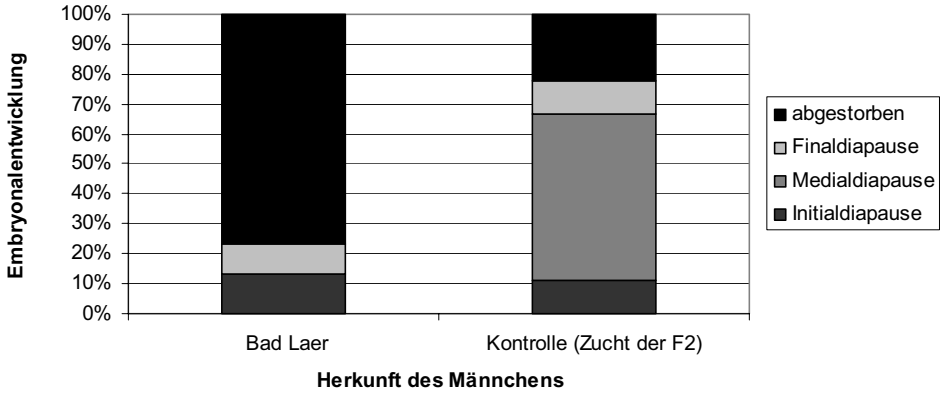


Abb. 3.2-70: Entwicklungs- und Absterberate der Nachkommen von im Labor gekreuzten Tieren verschiedener Populationen in der ersten Abkühlungsperiode (n = 30). Das Weibchen ist aus der Population *Ossenfeld I*. Vergleichend dargestellt ist die Entwicklung der Herkunftspopulation (n = 9) des Weibchens.

Sehr hohe Absterberaten und eine schlechte Entwicklung nicht abgestorbener Eier konnte auch für die Nachkommen von Weibchen aus *Groß-Ellershausen* und Männchen aus *Knutbühren*, Weibchen aus *Bad Lauterberg* und Männchen aus *Hasbruch*, Weibchen aus *Ebersberg Weg* und Männchen aus *Oberkatzbach*, Weibchen aus *Oberkatzbach* und Männchen aus *Bad Lauterberg*, Weibchen aus *Göttinger Wald* und Männchen aus *Oberkatzbach*, Weibchen aus *Weißwassertal* und Männchen aus *Kaufunger Wald*, Weibchen aus *Oberkatzbach* und Männchen aus *Ludolfshausen*, sowie Weibchen aus *Kaufunger Wald* und Männchen aus *Scheden* festgestellt werden.

Zwischen den Merkmalen embryonaler Entwicklungsstand Zuchtansatz konnte in Bezug auf die Populationszuchtlinien bzw. Populationshybride für die erste Filialgeneration insgesamt (Abb. 3.2-71) eine deutliche Beziehung mit einem Kontingenzkoeffizienten von $K_* = 0,4$ festgestellt werden.

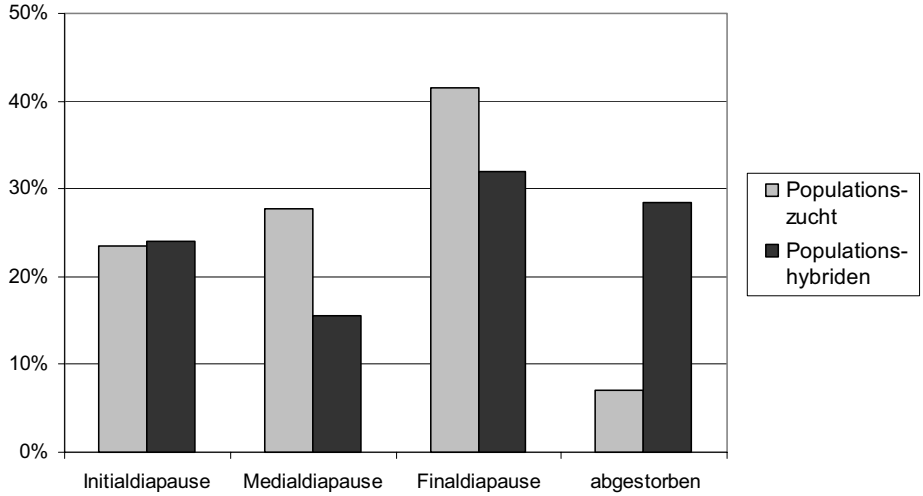


Abb. 3.2-71: Entwicklungsstand der F_1 von Populationshybriden im Vergleich zu Populationszuchten in der ersten Winterpause.

Populationshybride Nachkommen der ersten Filialgeneration, die eine zur Zucht taugliche Embryonalentwicklung im ersten Jahr aufwiesen, wurden im Folgejahr mit anderen Populationshybriden gekreuzt, um den Effekt großer genetischer Diversität zu testen.

Die F_2-Nachkommen von Populationshybriden zeigen im Jahr der Ablage eine gute Entwicklung, wenn die Elterngeneration von Tieren der Populationen *Bad Laer*, *Knutbühren*, *Scheden* und *Hildesheim* abstammten (Abb. 3.2-72). Mit diesen Tieren wurde bis zur folgenden Generation weitergezüchtet.

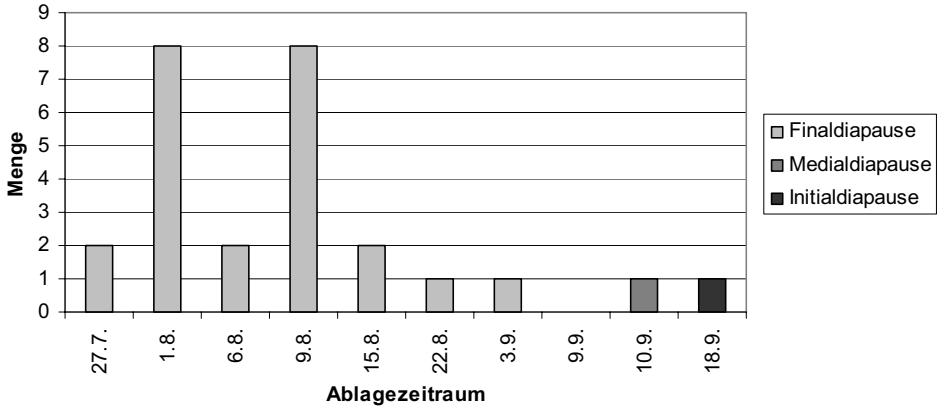


Abb. 3.2-72: Stand der Embryonalentwicklung der populationshybriden F_2-Generation während der ersten Abkühlungsperiode unter Berücksichtigung des Ablagedatums. Dargestellt sind Nachkommen der Populationen *Bad Laer*, *Knutbühren*, *Scheden* und *Hildesheim*.

Wurde mit Tieren weitergezüchtet, die Nachkommen von Tieren aus *Weißwassertal*, *Ossenfeld I*, *Ludolfshausen* und *Scheden* waren, wies die zweite Filialgeneration eine schlechte Embryonalentwicklung auf (Abb. 3.2-73). Mit den Nachkommen dieser Gruppierung gelang keine Aufzucht der dritten Filialgeneration.

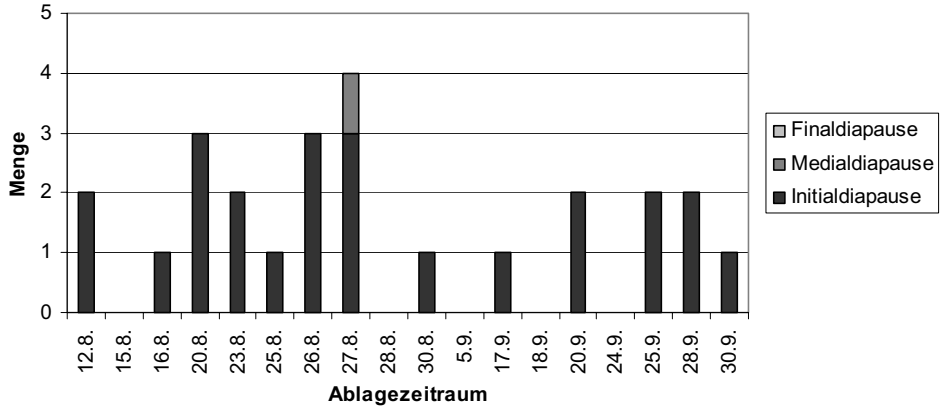


Abb. 3.2-73: Embryonalentwicklung der populationshybriden F_2-Generation unter Berücksichtigung des Ablagedatums während der ersten Abkühlungsperiode. Dargestellt sind Nachkommen der Populationen *Weißwassertal*, *Ossenfeld I*, *Ludolfshausen* und *Scheden*.

Die Weiterzucht mit Populationshybriden bis zur zweiten Filialgeneration gelang nicht mit allen untersuchten Tieren. In der Versuchskonstellation mit einem Weibchen aus *Groß-Ellershausen* und einem Männchen aus *Bad Lauterberg* oder

einem Weibchen aus *Knutbühren* und einem Männchen aus *Ossenfeld I* gelang beispielsweise nicht die Nachzucht einer F_2-Generation, da nicht genügend Tiere der F_1-Generation schlüpften. Populationshybride der ersten Filialgeneration, deren Eltern aus den Populationen *Knutbühren* und *Ludolfshausen* stammten, erwiesen sich als fertil. Untereinander weitergezüchtete Tiere legten Eier mit sich entwickelnden Embryonen ab, die im Jahr der Ablage keine wesentlichen Abweichungen zur Embryonalentwicklung der Elterngeneration aufwiesen. Die Embryonalentwicklung in der F_1-Generation von Populationshybriden dieser Populationen wurde oben dargestellt.

Die erfolgreich bis in die dritte Filialgeneration gezüchteten Populationshybriden ließen sich auf Tiere der Populationen *Knutbühren*, *Bad Laer*, *Ludolfshausen*, *Bremke*, *Scheden* und *Groß-Ellershausen* zurückführen, wobei hier Zuchtlinien zusammengeführt wurden, in denen verschiedene Tiere der Populationen *Bad Laer* und *Ludolfshausen*, zwei von in den Populationszuchten erfolgreichen Linien, zusammengeführt wurden (Abb. 3.2-74).

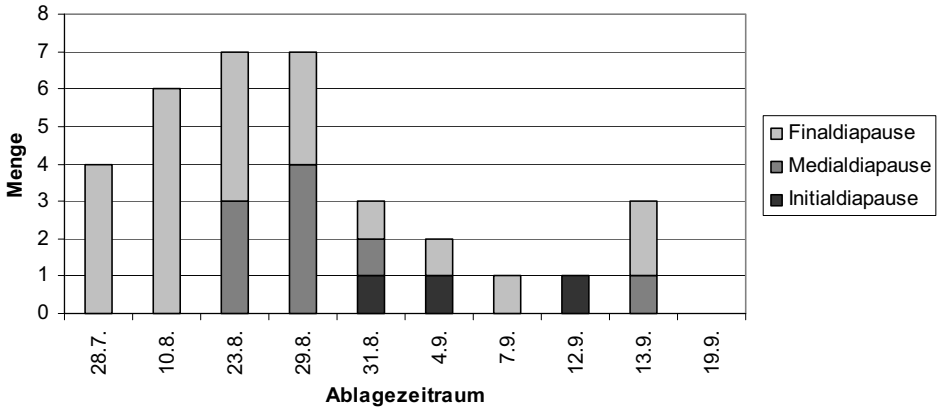


Abb. 3.2-74: Stand der Embryonalentwicklung der weitergezüchteten populationshybriden F_3-Generation unter Berücksichtigung des Ablagedatums während der ersten Abkühlungsperiode.

Die erfolgreiche Zuchtlinie der Populationshybriden zeigt trotz einer anzunehmenden genetischen Diversität im Vergleich zur erfolgreichen Zucht der Population *Ludolfshausen* (dargestellt ist die dritte Filialgeneration in Abb. 3.2-75) und der Inzuchtlinie der dritten Filialgeneration der Population *Ludolfshausen* eine höhere Absterberate der Embryonen bis zur ersten Winterabkühlung. Der Anteil der Embryonen, die die Finaldiapause erreicht haben, ist etwa vergleichbar mit dem der Populationszucht und der Inzuchtlinie. Die Populationshybriden weisen jedoch einen geringeren Anteil an Embryonen in der Medialdiapause auf. Der Anteil nicht entwickelter Eier liegt etwa auf gleichem Niveau wie bei den Inzuchttieren, jedoch über dem Niveau der Populationszucht.

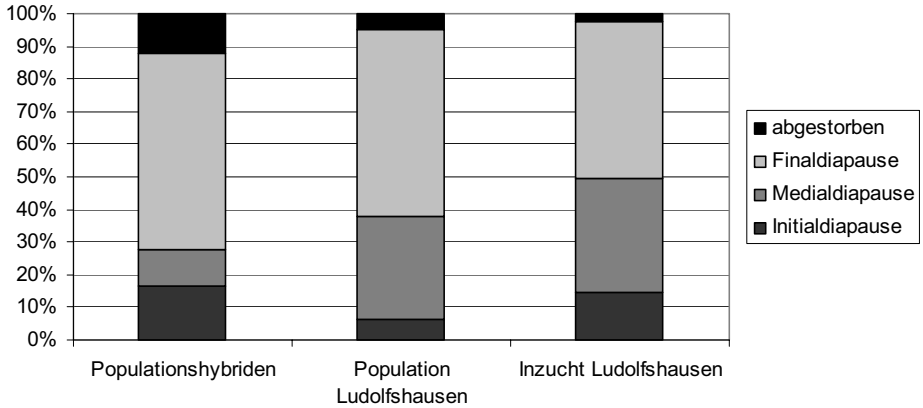


Abb. 3.2-75: Entwicklungs- und Absterberaten von Nachkommen der im Labor gezüchteten Populationshybriden (n = 109) im Vergleich zur Populationszucht (n = 82) und Inzuchtlinie (n = 75) *Ludolfshausen* in der ersten Abkühlungsperiode.

3.2.11 Entwicklungsgeschwindigkeit und Absterberaten in der Embryonalentwicklung: Parthenogenese

Obwohl die Art in geringen Individuendichten vorkommt, also eine gewisse Wahrscheinlichkeit besteht, dass in ungünstigen Jahren einem Weibchen kein Kopulationspartner zur Verfügung steht, konnte eine parthenogenetische Fortpflanzung in keiner der untersuchten Populationen festgestellt werden. Es wurden aus verschiedenen Populationen virginelle Weibchen bis zu ihrem Tod separiert gehalten. Diese Weibchen legten im allgemeinen sehr wenige Eier ab, die meist auch nicht, wie es für die Art typisch ist, in ein Substrat gebohrt wurden, sondern sich auf dem Boden des Zuchtbehältnisses befanden. Eine Sektion der Tiere nach ihrem Tod ergab, dass die Ablage der Eier zurückgehalten wurde. Die abgelegten Eier starben zum größten Teil noch im Jahr der Ablage ab. Einige Eier zeigten jedoch auch einen sich entwickelnden Embryo.
Zwei separiert gehaltene Weibchen der Population *Hildesheim* legten insgesamt sieben Eier ab, von denen ein Ei in der ersten Winterabkühlung nicht abstarb. Dieses Ei zeigte bis zur dritten Kälteperiode keine Embryonalentwicklung und starb dann (Abb. 3.2-76).

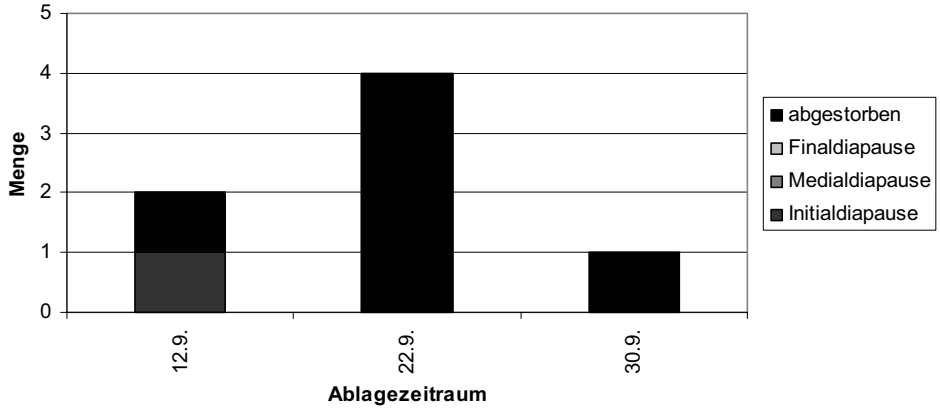


Abb. 3.2-76: Entwicklung parthenogenetischer Eier von zwei separiert gehaltenen Weibchen der Population *Hildesheim* bis zur ersten Abkühlungsperiode.

Aus der Population *Ebersberg* (Abb. 3.2-77) wurden drei Weibchen separat gehalten, die insgesamt 44 Eier ablegten. Von den bis Ende August abgelegten Eiern entwickelten sich drei bis zur Finaldiapause, 19 Eier verblieben in der Initialdiapause und 22 Eier starben ab. Die entwickelten Embryonen starben im folgenden Jahr ohne zu schlüpfen. In der zweiten Abkühlungsperiode konnten noch drei Eier, die keine Entwicklung zeigten, registriert werden. Von diesen entwickelte sich bis zur dritten Abkühlung eines bis zur Finaldiapause, starb aber danach ab. Die nicht entwickelten Eier starben schon bis zur dritten Kältephase ab.

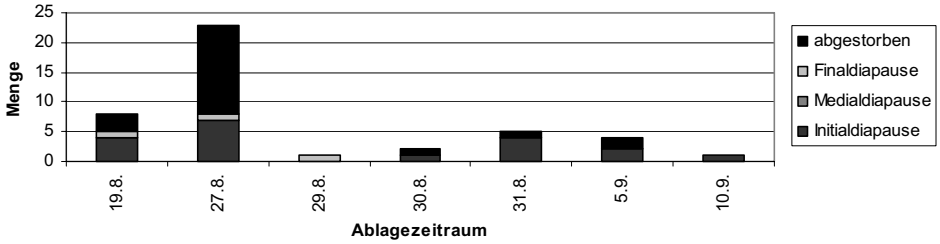


Abb. 3.2-77: Entwicklung parthenogenetischer Eier von drei separiert gehaltenen Weibchen der Population *Ebersberg* bis zur ersten Abkühlungsperiode.

Aus keinem der in diesem Rahmen untersuchten Eier ist ein Tier geschlüpft. Alle Embryonen starben vorher ab.

3.3 Postembryonalentwicklung

3.3.1 Schlupfraten

Beim Schlupferfolg lagen die ermittelten Werte der verschiedenen lokalen Populationen weit auseinander. So schwankte die Quote der geschlüpften Tiere nach der ersten Abkühlungsperiode zwischen 0 und 67 % (Tab. 3.3-1). Nach der zweiten Abkühlungsperiode sank entsprechend der Anteil schlüpfender Individuen in allen Populationen mit Ausnahme der Population *Ossenfeld I*. Durch eine schnelle embryonale Entwicklung sind z. B. die Populationen *Bad Laer*, *Knutbühren*, *Ludolfshausen* und *Scheden* durch hohe Schlupfraten im Jahr der Ablage zu charakterisieren. Aus Eiern der Population *Weißwassertal* schlüpften keine Tiere (Kapitel 3.2.2). Lediglich wenige Tiere schlüpften im Jahr der Ablage und im Folgejahr in den Populationen *Ebersberg Weg*, *Moosach*, *Oberkatzbach* und *Zwölfgehren*.

Populationen mit einer auch im zweiten Folgejahr verhältnismäßig hohen Schlupfrate wiesen im Verhältnis zu Populationen, in denen die Schlupfrate vom ersten zum zweiten Folgejahr hin abnahm, eine langsamere Embryonalentwicklung auf (hierzu auch Kapitel 3.2.8).

Tab. 3.3-1: Schlupfraten der ersten Filialgeneration von Tieren der in Zucht genommen Populationen nach der ersten und nach der zweiten Winterabkühlung

Population	Anzahl abgelegter Eier (n)	geschlüpft im ersten Folgejahr (%)	geschlüpft im zweiten Folgejahr (%)
Bad Laer	306	52	19
Bad Lauterberg	158	15	3
Bremke	59	31	19
Ebersberg Weg	82	6	1
Ebersberg Weiher	79	14	1
Göttinger Wald	54	19	11
Groß-Ellershausen	166	36	23
Hasbruch	162	40	4
Hildesheim	114	39	12
Knutbühren	162	48	27
Kaufunger Wald	46	13	2
Ludolfshausen	443	60	9
Moosach	23	9	4
Oberkatzbach	140	9	0
Ossenfeld I	134	21	43
Ossenfeld II	221	42	35
Scheden	147	67	8
Weißwassertal	93	0	0
Zwölfgehren	135	7	2

In der zweiten Filialgeneration sank der Anteil der nach der ersten Winterabkühlung geschlüpften Tiere gegenüber der ersten Filialgeneration in allen Populationen (Tab. 3.3-2). Lag die Quote der geschlüpften Tiere unter 10 %, gelang die Zucht einer weiteren Generation in der Regel nicht. Nur in der Population *Knutbühren*, in der 107 Eier abgelegt wurden, konnte trotz einer Schlupfrate von 7 % bis in die nächste Generation weitergezüchtet werden.

Tab. 3.3-2: Schlupfraten der zweiten Filialgeneration der Zuchttiere nach der ersten Abkühlung

Population	Anzahl abgelegter Eier (n)	geschlüpft im ersten Folgejahr (%)
Bad Laer	123	20
Bad Lauterberg	107	7
Bremke	26	4
Ebersberg Weg	52	8
Ebersberg Weiher	98	32
Groß-Ellershausen	95	15
Hasbruch	175	5
Hildesheim	110	43
Knutbühren	115	7
Ludolfshausen	149	26
Ossenfeld II	52	0
Scheden	144	21

Bis zur dritten Filialgeneration wurde mit Tieren gezüchtet, die jeweils nur ein Jahr benötigten, um die Embryonalentwicklung abzuschließen, und die nach der ersten Winterabkühlung schlüpften. Im Vergleich zur zweiten Filialgeneration konnte bei allen Populationszuchten in der dritten Filialgeneration eine höhere Schlupfrate festgestellt werden (Tab. 3.3-3).

Tab. 3.3-3: Schlupfraten der dritten Filialgeneration der Populationszuchten nach der ersten Kälteperiode

Population	Anzahl abgelegter Eier (n)	geschlüpft im ersten Folgejahr (%)
Bad Laer	155	26
Groß-Ellershausen	75	37
Hildesheim	12	17
Knutbühren	16	81
Ludolfshausen	82	54
Scheden	12	50

In fast allen Populationen traten zum Ende der Schlupfperiode Tiere auf, die sich nicht aus der Hülle ihrer vermiformen Erstlarve befreien konnten und verendeten. Beispielhaft sind geschlüpfte und verendete Tiere im Zeitraum des Schlupfes für die erste Filialgeneration der Population *Ossenfeld II* in Abb. 3.3-1 aufgetragen.

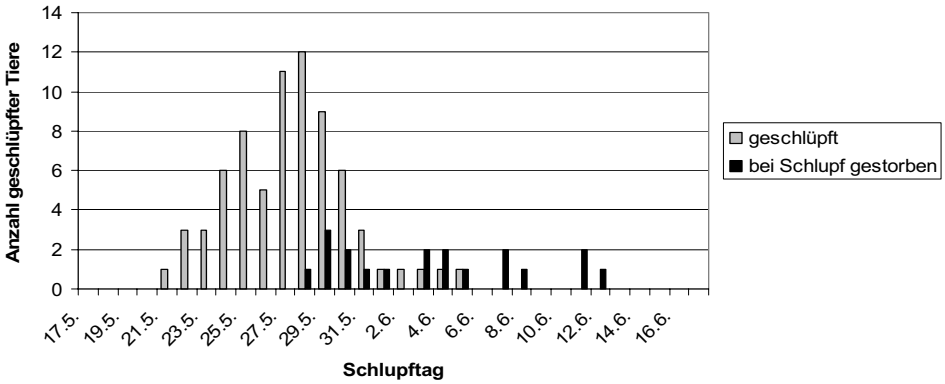


Abb. 3.3-1: Schlupfrate für die erste Filialgeneration der Population *Ossenfeld II* nach der ersten Winterabkühlung. Von insgesamt 110 geschlüpften Tieren verendeten 19 während des Schlupfes. Aufgetragen sind die pro Tag geschlüpften und überlebenden Tiere sowie Tiere, die beim Schlupf verendeten.

Der Anteil dieser während des Schlupfvorgangs verendeten Tiere lag in der Population *Bremke* mit 44 % an der Gesamtheit der geschlüpften Tiere am höchsten. Auch in den Populationen *Groß-Ellershausen* (20 %), *Ossenfeld I* (15 %) sowie *Ossenfeld II* (21 %) starben einige Tiere während des Schlupfes. Einen hohen Anteil von 60 % resp. 20 % während des Schlupfvorgangs verendeter Tiere bei allerdings einer absolut geringen Menge geschlüpfter Individuen erreichten die Populationen *Göttinger Wald* und *Kaufunger Wald*. In den anderen untersuchten Populationen lag der Anteil von während des Schlupfvorgangs verendeten Tieren bei unter 5 %; in den Populationen *Ebersberg Weg* und *Ebersberg Weiher* starb keines der geschlüpften Tiere.

Auch im ersten Entwicklungsstadium starben weitere Individuen in einigen Populationen ab. Das Sterberisiko für geschlüpfte Tiere in allen *B. serricauda*-Populationen (auch in den weiter unten beschriebenen Versuchsansätzen mit Inzuchtlinien sowie Populationshybriden) war bis zum Erreichen des zweiten Entwicklungsstadiums am höchsten. Danach starben nur noch wenige Individuen (Tab: 3.3-4; die Daten zusammenfassend Abb.3.3-2).

In den Untersuchungen zur Postembryonalentwicklung wurden nicht alle geschlüpften Tiere einbezogen. Daraus können abweichende Angaben zu den weiter oben angegebenen Schlupfraten resultieren.

Tab. 3.3-4: Absterberaten während der postembryonalen Entwicklung der ersten Filialgeneration ein Jahr nach der Ablage (ES = Entwicklungsstadium)

Population	Geschlüpft (n)	abgestorben beim Schlupf (%)	tot erstes ES (%)	tot zweites ES (%)	tot drittes ES (%)	tot viertes ES (%)	tot fünftes ES (%)	tot sechstes ES (%)
Ebersberg	11	0	0	0	0	0	0	0
Bad Lauterberg	26	4	0	0	0	0	0	0
Göttinger Wald	5	60	0	0	0	0	0	0
Hasbruch	51	2	10	0	0	0	0	0
Bremke	16	44	6	0	6	0	0	0
Groß-Ellershausen	54	20	4	0	0	0	0	0
Hildesheim	45	9	9	2	0	0	0	0
Knutbühren	72	1	1	0	0	0	0	0
Ludolfshausen	177	2	5	2	1	0	0	0
Ossenfeld I	27	15	4	0	0	0	0	0
Ossenfeld II	91	21	2	0	0	0	0	0
Scheden	97	1	4	0	0	1	0	0
Bad Laer	162	8	2	1	0	0	0	1
Zwölfgehren	5	0	0	20	0	0	0	0
Kaufunger Wald	5	20	0	0	0	0	0	0
Summe aller Populationen	844	8	4	1	0	0	0	0

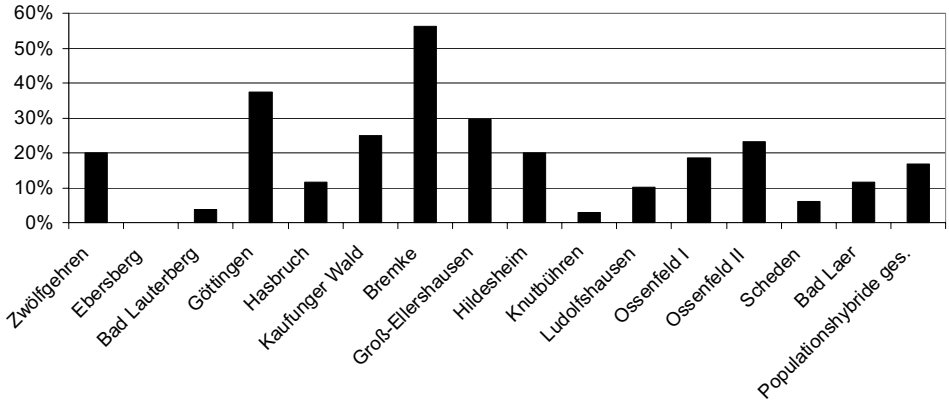


Abb. 3.3-2: Absterberaten der ersten Filialgeneration in der postembryonalen Entwicklung von Tieren, die ein Jahr nach der Eiablage schlüpften.

In ihrer postembryonalen Entwicklung wiesen die bis zur zweiten Filialgeneration weitergezüchteten Tiere aller Populationszuchten, die nach der ersten Winterabkühlung schlüpften, eine geringe Absterbequote auf (Tab. 3.3-5). Keines der aus den Populationen *Bad Laer* und *Groß-Ellershausen* geschlüpften Tiere starb. In den anderen Populationen starben lediglich einzelne Tiere, die noch nicht das zweite Entwicklungsstadium erreicht hatten. Lediglich die Aufzucht

von Tieren der Population *Scheden* zeichnete sich durch eine gegenüber den anderen Populationszuchten sowie gegenüber der ersten Filialgeneration der Populationszucht *Scheden* verminderte Fitness aus: Ein Tier starb während des Schlüpfens, sieben weitere im ersten Entwicklungsstadium und ein Tier, welches sich bereits zum zweiten Entwicklungsstadium gehäutet hatte.

Tab. 3.3-5: Absterberaten während der postembryonalen Entwicklung der zweiten Filialgeneration ein Jahr nach der Ablage

Population	Geschlüpft (n)	abgestorben beim Schlupf (%)	tot erstes ES (%)	tot zweites ES (%)	tot drittes ES (%)	tot viertes ES (%)	tot fünftes ES (%)	tot sechstes ES (%)
Groß-Ellershausen	12	0	0	0	0	0	0	0
Hildesheim	38	3	3	0	0	0	0	0
Knutbühren	19	5	0	0	0	0	0	0
Ludolfshausen	70	1	6	0	0	0	0	0
Scheden	23	4	30	4	0	0	0	0
Bad Laer	17	0	0	0	0	0	0	0
Ebersberg	38	0	0	3	0	0	0	0
Hasbruch	10	10	0	0	0	0	0	0

In der dritten Filialgeneration gelang die Aufzucht aller geschlüpften Tiere bis auf ein Tier aus der Population *Ludolfshausen*, das im ersten Entwicklungsstadium starb.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit von Tieren, die aus Eiern mit einer mehrjährigen Entwicklung schlüpften, konnte nur in einigen Zuchtansätzen untersucht werden, da in manchen Populationen im zweiten und dritten Jahr nach der Eiablage zu wenige Individuen schlüpften, sodass keine aussagekräftigen Zahlen vorlagen.

Im Verhältnis zu den im Jahr nach der Eiablage geschlüpften Tieren zeigten die in den Folgejahren geschlüpften Tiere der ersten Filialgeneration der Populationen *Hasbruch*, *Ossenfeld I* und *Bad Lauterberg* keine erhöhte Sterberate. Die Populationen *Knutbühren, Scheden, Ludolfshausen, Bad Laer* und *Ossenfeld II*, die sich durch eine vergleichsweise schnelle Embryonalentwicklung auszeichneten (Abschnitt 3.2.8), wiesen eine erhöhte Sterblichkeit von Tieren des ersten Entwicklungsstadiums auf, wenn diese drei Jahre nach Ablage der Eier schlüpften (Tab. 3.3-6).

Tab. 3.3-6: Bis zur Adulthäutung gestorbene Tiere der ersten Filialgeneration, die ein Jahr bzw. drei Jahre nach der Eiablage geschlüpft sind. In Klammern: Anzahl geschlüpfter Tiere

Population	Knut-bühren	Ludolfs-hausen	Scheden	Bad Laer
1. Jahr	2 (72)	18 (177)	6 (97)	19 (162)
3. Jahr	18 (25)	6 (28)	2 (8)	6 (22)

Population	Hasbruch	Bad Lau-terberg	Ossenfeld I	Ossenfeld II
1. Jahr	6 (51)	1 (26)	5 (27)	21 (91)
3. Jahr	3 (40)	1 (45)	2 (19)	15 (26)

3.3.2 Postembryonale Entwicklung der Inzuchtlinien und Populationshybriden

Im Vergleich zu den Populationszuchten wiesen die ein Jahr nach der Eiablage geschlüpften Populationshybriden eine hohe Sterberate während des Schlupfes auf. Nachfolgende Entwicklungsstadien waren hingegen keinem erhöhtem Sterberisiko ausgesetzt (Abb. 3.3-2). In der zweiten Filialgeneration starb keines der schlüpfenden Tiere, aber ein Anteil von 7 % starb vor der Häutung zum zweiten Entwicklungsstadium. Die Nachkommen der erfolgreich reproduzierenden F_2-Generation wiesen eine geringe Sterblichkeit auf: Je ein Tier starb im ersten und im fünften Entwicklungsstadium (Tab. 3.3-7).

Tab. 3.3-7: Absterberaten während der postembryonalen Entwicklung der Populationshybriden ein Jahr nach der Ablage

Populationshybride	Geschlüpft (n)	abgestorben beim Schlupf (%)	tot erstes ES (%)	tot zweites ES (%)	tot drittes ES (%)	tot viertes ES (%)	tot fünftes ES (%)	tot sechstes ES (%)
F1 ges.	131	16	1	0	0	0	0	0
F2 ges.	42	0	7	0	0	0	0	0
F3 ges.	52	0	2	0	0	0	2	0

Die erste Filialgeneration der Populationshybriden wies eine stark angestiegene Sterblichkeit von Tieren auf, die aus überliegenden Eiern schlüpften. Im dritten Jahr nach der Eiablage verendeten von insgesamt 26 geschlüpften Tieren 15 im ersten Entwicklungsstadium, eines während des Schlupfes. Von den sechs Tieren der zweiten Filialgeneration, die im zweiten Jahr nach der Eiablage schlüpften, erreichte keines das zweite Entwicklungsstadium.

Die postembryonale Entwicklung der Inzuchtlinie von Tieren der zweiten Filialgeneration zeigte, mit Ausnahme der Tiere aus der Population *Scheden*, keine Abweichungen in der Sterblichkeit gegenüber den Populationszuchten der je-

weiligen Herkunftspopulationen (Tab. 3.3-8). Von den acht Tieren der Population *Bad Laer* starb eines im zweiten Entwicklungsstadium (13 %). Mit der zweiten Generation aus der Population *Scheden* gelang eine Weiterzucht nicht. Bis zur F_3-Generation weitergezüchtet werden konnte hingegen mit den zwei Tieren der Population *Knutbühren*, die in der zweiten Filialgeneration schlüpften.

Tab. 3.3-8: Absterberaten während der postembryonalen Entwicklung der Inzuchtversuche in der zweiten Filialgeneration ein Jahr nach der Ablage

Population	geschlüpft	abgestorben beim Schlupf (n)	tot erstes ES (%)	tot zweites ES (%)	tot drittes ES (%)	tot viertes ES (%)	tot fünftes ES (%)	tot sechstes ES (%)
Bad Laer Inzucht	8	0	0	13	0	0	0	0
Ludolfshausen Inzucht	10	0	0	0	0	0	0	0
Knutbühren Inzucht	2	0	0	0	0	0	0	0
Scheden Inzucht	16	0	44	0	0	0	0	0

In der dritten Filialgeneration wiesen die weitergezüchteten Populationen keine verminderte Fitness der ein Jahr nach Ablage geschlüpften Tiere gegenüber den Populationszuchten auf. Es starb lediglich je ein Tier der Population *Ludolfshausen* und der Population *Knutbühren* während des Schlupfes (Tab. 3.3-9).

Tab. 3.3-9: Absterberaten während der postembryonalen Entwicklung der Inzuchtversuche in der dritten Filialgeneration ein Jahr nach der Ablage (ES = Entwicklungsstadium).

Population	geschlüpft	abgestorben beim Schlupf (n)	tot erstes ES (%)	tot zweites ES (%)	tot drittes ES (%)	tot viertes ES (%)	tot fünftes ES (%)	tot sechstes ES (%)
Bad Laer Inzucht	26	0	0	0	0	0	0	0
Ludolfshausen Inzucht	29	3	0	0	0	0	0	0
Knutbühren Inzucht	8	13	0	0	0	0	0	0

3.3.3 Entwicklungsgeschwindigkeit

Tiere der Herkunftspopulationen wurden solange zusammen gehältert, bis in einer der gezüchteten Populationen Tiere das letzte Entwicklungsstadium vor der Häutung zum Adultus erreicht hatten. Dann wurden alle Zuchten nach Geschlechtern getrennt und das erreichte Entwicklungsstadium registriert.

Die in der ersten Filialgeneration aufgezogenen Tiere der Populationen *Bad Lauterberg*, *Ossenfeld I* und *Ebersberg* – Populationen, die auch eine verhältnismäßig langsame Embryonalentwicklung aufwiesen – entwickelten sich nach ihrem Schlupf etwas langsamer als die Tiere der anderen Populationen. Sie hatten bis zum Zeitpunkt der Trennung erst das dritte oder vierte Entwicklungsstadium erreicht, während die Tiere aller anderen Populationen mindestens im fünften Entwicklungsstadium waren. Ein im Vergleich mit den anderen Populationen

verlangsamtes Heranwachsen von Tieren der o. g. Populationen konnte auch in der zweiten Filialgeneration beobachtet werden.

Tiere, die nach mehrjähriger Embryonalentwicklung schlüpften, zeigten keine Abweichungen beim Heranwachsen im Vergleich zu den bereits ein Jahr nach der Ablage geschlüpften Tieren.

3.3.4 Entwicklungsgeschwindigkeit der Inzuchtlinien und Populationshybriden

Die erste Filialgeneration der Populationshybriden zeigte ein ähnlich schnelles Heranwachsen wie die F_1 der Populationszuchten. Lediglich die Nachkommen der Populationshybriden mit den Elterntieren aus *Groß-Ellershausen* und *Knutbühren*, sowie *Scheden* und *Hildesheim* hatten erst das dritte oder vierte Entwicklungsstadium erreicht, wenn Tiere der anderen Zuchten bereits kurz vor der Häutung zum Adultus standen. Bis zur dritten Filialgeneration verlangsamte sich im Vergleich zu den Populationszuchten das Heranwachsen der Populationshybriden. Erfolgreich aufgezogene Populationshybriden hatten erst das zweite oder dritte Entwicklungsstadium erreicht, wenn die ersten Tiere der Populationszuchten bereits kurz vor der Adulthäutung standen.

Die Versuchsansätze, in denen nur mit einem Elterntier je Generation weitergezüchtet wurde, um eine Inzucht zu verschärfen, wiesen im Vergleich zu den Populationszuchten keine langsamere Entwicklung auf.

3.4 Morphologische und biometrische Untersuchungen

3.4.1 Biometrie

Es wurden von insgesamt 285 Tieren die Längen der Posttibia und des Postfemur vermessen. Aus der ersten Filialgeneration wurden 91 Weibchen und 135 Männchen vermessen. Aus der zweiten Filialgeneration wurden nur zehn Weibchen und 14 Männchen aus den Populationszuchten vermessen. Das Einsetzen vieler Tiere in Partnerwahlversuchen führte aufgrund der ständigen Beanspruchung oft zu Schäden an den Sprungbeinen. Die dritte Filialgeneration wurde als Kontrolle der statistischen Ergebnisse herangezogen, die in der ersten Filialgeneration ermittelt wurden. Hier wurden 28 Weibchen und 25 Männchen vermessen. Hinzu kamen noch die Tiere aus den Wahl- und Inzuchtversuchen, die vergleichend einbezogen wurden. Der Messfehler betrug hier max. 0,22 mm (Distanz zwischen Teilstrichen des Messokulars).

Da biometrische Daten, welche aus Stichproben einer Population erhoben werden, stets als normal verteilt angesehen werden können, wurden zur graphischen Darstellung und zur statistischen Bewertung die Mittelwerte und die Standardabweichung errechnet.

Bei einigen Individuen konnten geringfügig unterschiedliche Werte für das linke oder rechte Bein ermittelt werden (Abweichungen in der Länge von maximal 0,2 mm). Diese individuellen Abweichungen lagen jedoch im Bereich des Messfehlers und blieben dementsprechend unberücksichtigt. Es wird im Folgenden unterstellt, dass die Individuen stets gleiche Beinlängen in Bezug zu ihrer Gesamtgröße aufweisen. Die ermittelten Messdaten werden vergleichend synonym mit der absoluten Körpergröße der Tiere gesetzt.

Die für die erste Filialgeneration gemittelten Messergebnisse sowohl für die Posttibia, als auch für den Postfemur beim weiblichen Geschlecht zeigen deutliche Abweichungen zwischen den daraufhin untersuchten Populationen (Abb. 3.4-1). Die Längenmessung von Posttibia und Postfemur weist beim weiblichen Geschlecht für Populationen aus dem Alpenvorland (*Ebersberg*), sowie für die norddeutschen Populationen *Bad Lauterberg*, *Bad Laer*, *Hasbruch* und *Ludolfshausen* größere Tiere aus als die anderen untersuchten Populationen.

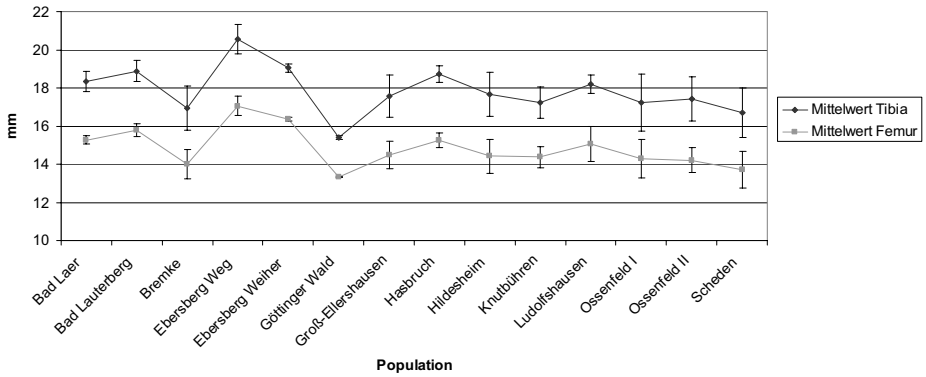


Abb. 3.4-1: Mittelwerte und Standardabweichung der Beinlänge (Postfemur und Posttibia) der Weibchen von im Labor gezüchteten Tieren der ersten Filialgeneration.

Analog zu den beim weiblichen Geschlecht festgestellten Größenunterschieden der ersten Filialgeneration konnten auch bei den Männchen Längenunterschiede der Posttibia und des Postfemurs registriert werden (Abb. 3.4-2). Allerdings lassen sich die Größenunterschiede zwischen den Populationen nicht im gleichen Verhältnis von einem Geschlecht auf das andere übertragen. So waren bei den Männchen, anders als bei den untersuchten Weibchen, die Tiere aus *Hildesheim* etwa ebenso groß wie die Tiere aus *Ludolfshausen*.

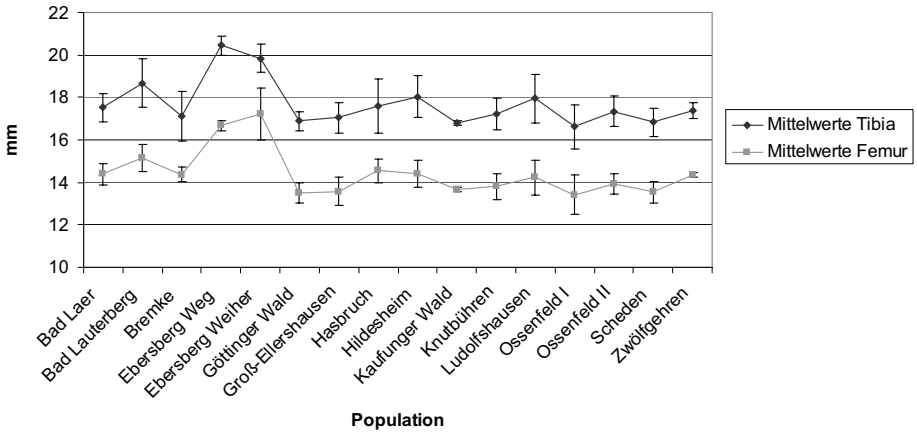


Abb. 4.4-2: Mittelwerte und Standardabweichung der Beinlänge (Postfemur und Posttibia) der Männchen von nachgezüchteten Tieren der ersten Filialgeneration.

Das Vorliegen einer signifikant unterschiedlichen Körpergröße in den untersuchten Populationen konnte mittels einfaktorieller Varianzanalyse sowohl im weiblichen Geschlecht als auch für die männlichen Tiere festgestellt werden. Auch die Tiere aus den Populationen, deren Zucht bis zur zweiten Filialgeneration gelang, wiesen eine signifikant unterschiedliche Größe auf. Da allerdings hier nicht vergleichbar viele Messwerte wie in der ersten Generation zur Verfügung standen, wird auf eine detaillierte Darstellung verzichtet (Daten in Tab. 3.4-1 und 3.4-2 im Vergleich zur F_1 und F_3).

Von den Tieren, die bis zur dritten Filialgeneration gezüchtet wurden, erwiesen sich im Vergleich wiederum jene aus den Populationen *Bad Laer* und *Ludolfshausen* als am größten (Abb. 3.4-3 für die untersuchten Weibchen).

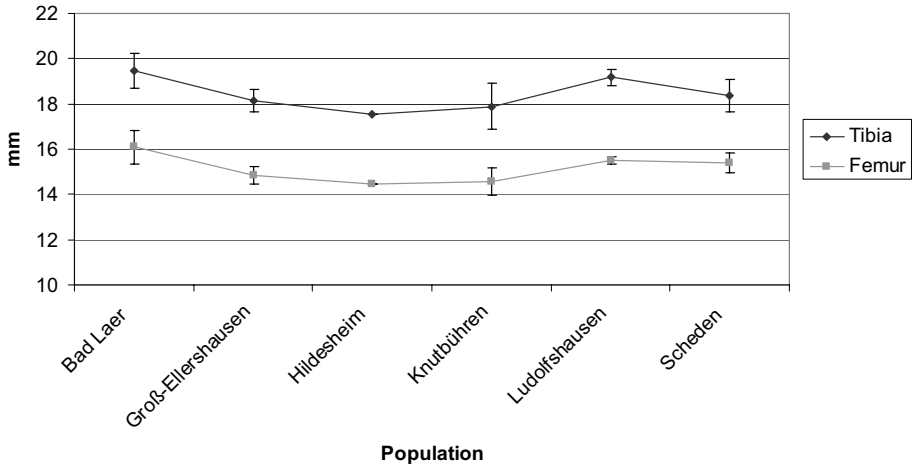


Abb. 3.4-3: Mittelwerte und Standardabweichung der Beinlänge (Postfemur und Posttibia) der Weibchen von im Labor gezüchteten Tieren der dritten Filialgeneration.

Bei den untersuchten Männchen der dritten Filialgeneration bestätigte sich das in der ersten Filialgeneration beobachtete Ergebnis, dass Männchen und Weibchen in den untersuchten Populationen nicht in der gleichen Relation zueinander stehen. Die Männchen der Population *Hildesheim* sind zwar etwas kleiner als die der Population *Ludolfshausen*, aber doch, anders als es bei den Weibchen der Fall ist, größer als Tiere der Populationen *Knutbühren* oder *Groß-Ellershausen* (Abb. 3.4-4).

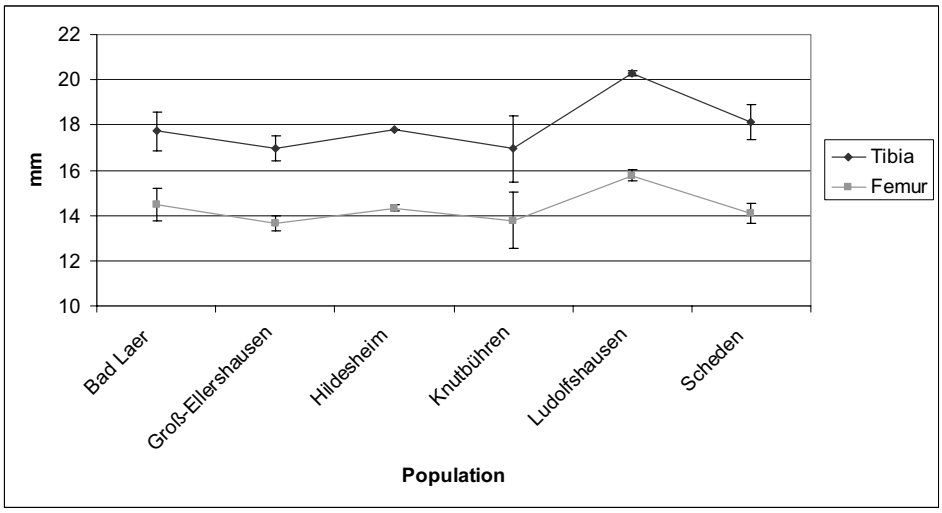


Abb. 3.4-4: Mittelwerte der Beinlänge (Postfemur und Posttibia) der Männchen von im Labor gezüchteten Tieren der dritten Filialgeneration. Die Standardabweichung ist bei den einer Population zugehörigen Datenpunkten abgebildet.

Die Signifikanz des gemessenen Größenunterschiedes zwischen Tieren der dritten Filialgeneration konnte mittels einfaktorieller Varianzanalyse betätigt werden (Werte für alle Generationen zusammengefasst in Tab. 3.4-1 und 3.4-2).

Tab. 3.4-1: Prüfgröße und kritischer F-Wert der Messergebnisse der Beinlängen der Weibchen unterschiedlicher Populationen je Generation.

	F_1		**F_2**		**F_3**	
	Postfemur	Posttibia	Postfemur	Posttibia	Postfemur	Posttibia
Prüfgröße (F)	9,29	6,27	3,34	3,15	9,92	5,92
kritischer F-Wert	2,15	2,25	2,98	3,01	3,95	3,61

Die Werte wurden auf die zweite Dezimalstelle gerundet

Tab. 3.4-2: Prüfgröße und kritischer F-Wert der Messergebnisse der Beinlängen der Männchen. Geprüft wurden die gezüchteten Populationen je Generation.

	F_1		**F_2**		**F_3**	
	Postfemur	Posttibia	Postfemur	Posttibia	Postfemur	Posttibia
Prüfgröße (F)	25,35	15,01	7,1	4,35	7,3	11,51
kritischer F-Wert	2,26	2,26	2,82	2,96	3,57	3,67

Die Werte wurden auf die zweite Dezimalstelle gerundet

Die Tiere der dritten Filialgeneration der Populationszuchten wiesen etwa gleiche Beinlängen auf wie die erste Filialgeneration. Die Populationszucht *Ludolfshausen* brachte jedoch in der dritten Filialgeneration größere Tiere hervor als die erste Filialgeneration. In der dritten Filialgeneration konnten allerdings nur zwei Männchen (und drei Weibchen) bis zum Adultus aufgezogen werden (Abb. 3.4-5). Im Versuchsansatz zur Inzucht mit Tieren der Population *Ludolfshausen* erreichten die Tiere der dritten Filialgeneration die gleiche Größe wie Tiere der ersten Filialgeneration der Populationszucht *Ludolfshausen*.

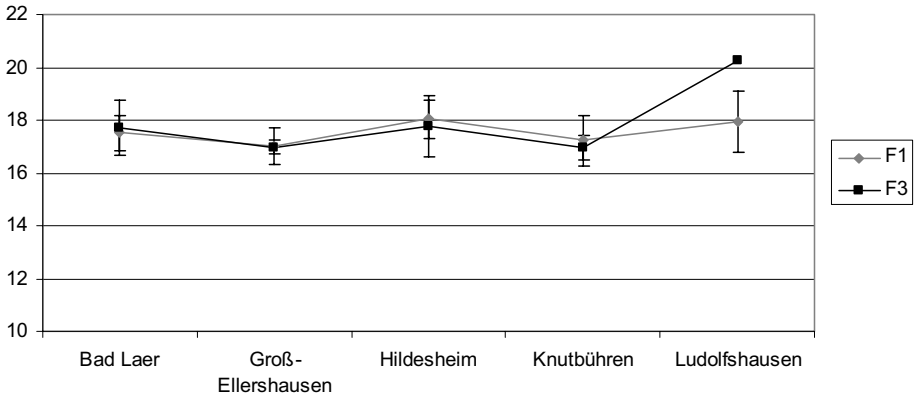


Abb. 3.4-5: Generationenvergleich der ersten und dritten Filialgeneration (Posttibia Männchen).

Dieser bis in die dritte Generation ingezüchtete Versuchsansatz mit Tieren der Population *Ludolfshausen* zeigte mit einer Prüfgröße von 0,1 und einem kritischen F-Wert von 7,19 keine signifikanten Größenunterschiede im Vergleich zu Tieren der Populationszucht Ludolfshausen (F_1) oder der ersten Generation von Populationshybriden mit einem weiblichen Elterntier aus der Population *Ludolfshausen* (Abb. 3.4-6; dargestellt sind die Messwerte für die Männchen).

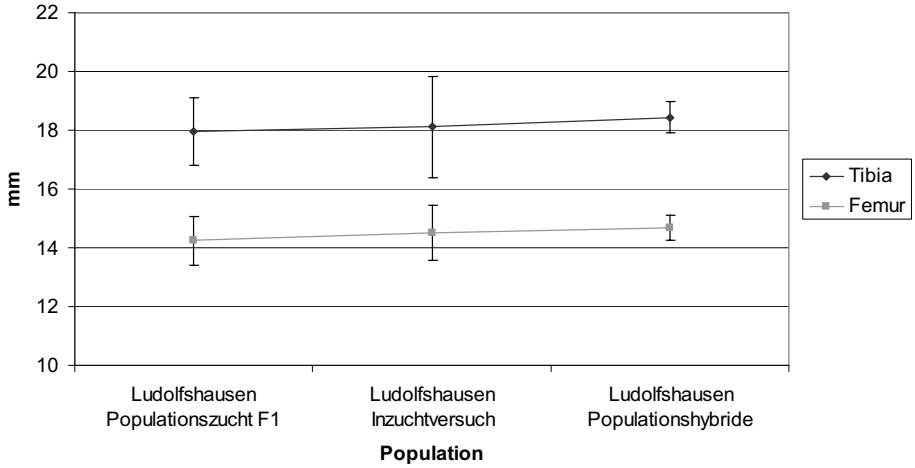


Abb. 3.4-6: Mittelwerte und Standardabweichung der Beinlängen (Postfemur und Posttibia) der Männchen von im Labor gezüchteten Tieren der Population Ludolfshausen, den Populationshybriden der ersten Filialgeneration und dem Inzuchtansatz der dritten Filialgeneration.

Die erste Filialgeneration von Populationshybriden unterschied sich in der Größe signifikant von den Tieren der Herkunftspopulation des Männchens, aber nicht des Weibchens (Abb. 3.4-7).

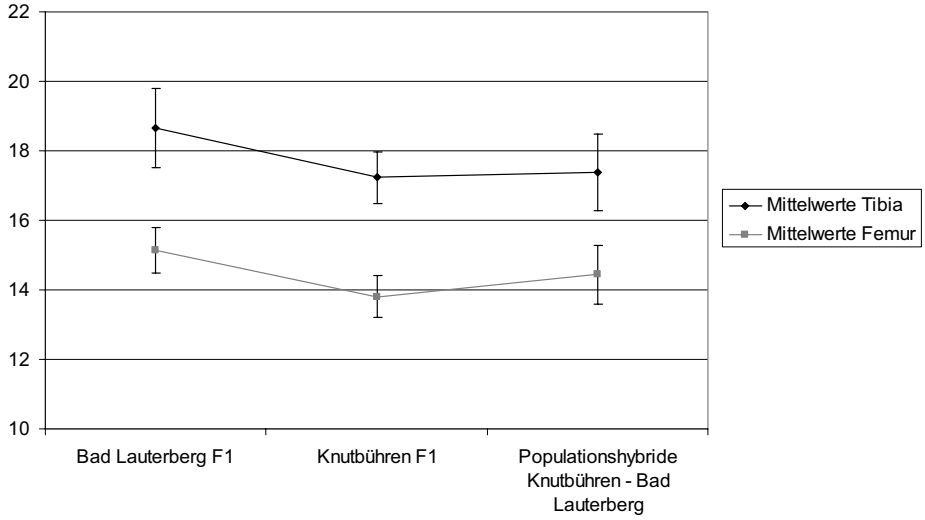


Abb. 3.4-7: Mittelwerte der Beinlängen (Postfemur und Posttibia) der Männchen von im Labor gezüchteten Tieren der ersten Filialgeneration von Populationshybriden mit einem weiblichen Elterntier aus der Population *Knutbühren* und einem männlichen Elterntier aus der Population *Bad Lauterberg* im Vergleich zu den Populationszuchten der Elterntiere.

Von den Eiern, die von Tieren der ersten Filialgeneration stammen, wurden 1212 Eier vermessen. Als Messfehler wurden hier – dem Abstand zwischen Teilstrichen des Messokulars entsprechend – 0,06 mm angenommen.

Die Eilängen wiesen mit einer Prüfgröße von 10,31 und einem kritischen F-Wert von 1,63 signifikante Unterschiede zwischen den Populationen aus. Hier dargestellt ist die Eilänge der F_1-Generation (Abb. 3.4-8).

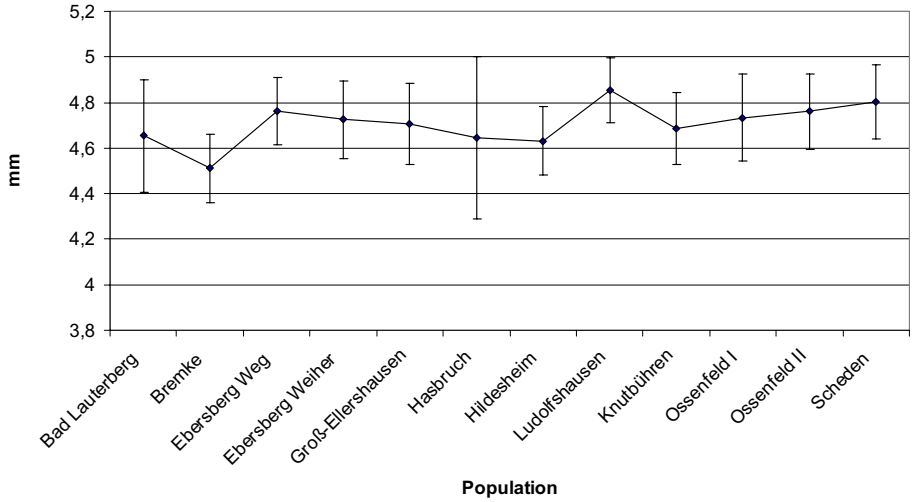


Abb. 3.4-8: Mittlere Länge der Eier, die von Tieren der ersten Filialgeneration abgelegt wurden.

Nur von vier der gezüchteten Populationen konnten Eier der dritten Filialgeneration vermessen werden. Hier zeigte sich, dass die Messwerte in den Populationen *Bad Laer*, *Hildesheim* und *Knutbühren* nur unwesentlich voneinander abweichen. Lediglich Tiere der Population *Ludolfshausen* legen in der dritten Filialgeneration durchschnittlich größere Eier ab als in der ersten Filialgeneration (Abb. 3.4-9). Der Größenunterschied war jedoch nicht signifikant.

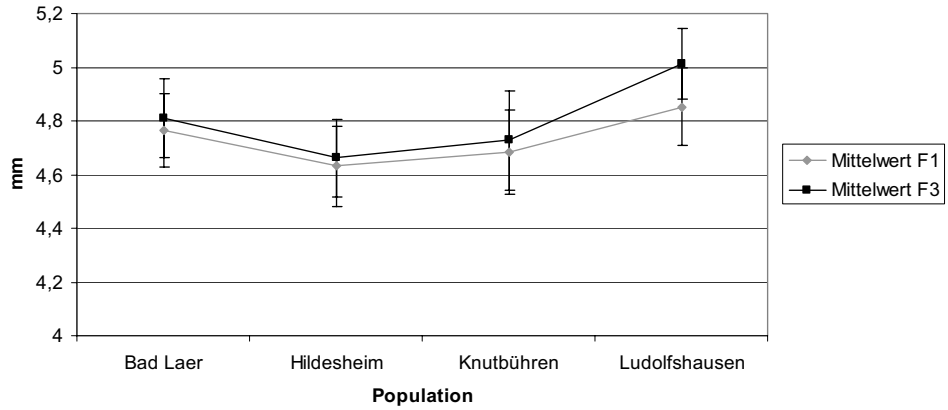


Abb. 3.4-9: Vergleich der Eilänge zwischen der ersten Filialgeneration und der dritten im Labor gezüchteten Filialgeneration verschiedener Populationen. Berücksichtigt wurden Populationen mit mehr als 20 abgelegten Eiern.

Wurden Weibchen mit Männchen anderer Populationen gepaart, legten die Tiere signifikant kleinere Eier ab als die Weibchen der Populationszuchten. Abb. 3.4-10 zeigt beispielhaft den Größenunterschied zwischen Eiern, die von Tieren der Populationszucht *Groß-Ellershausen* abgelegt wurden und Eiern, die von Tieren abgelegt wurden, die in den Partnerwahlversuchen das populationsfremde Männchen gewählt hatten. In der einfaktoriellen Varianzanalyse konnte in diesem Fall mit einer Prüfgröße von 25,91 und einem kritischen F-Wert von 6,95 ein signifikanter Größenunterschied zwischen Eiern von Tieren der Populationszucht und Eiern aus der Paarung von Tieren mit einem fremden Männchen bestätigt werden.

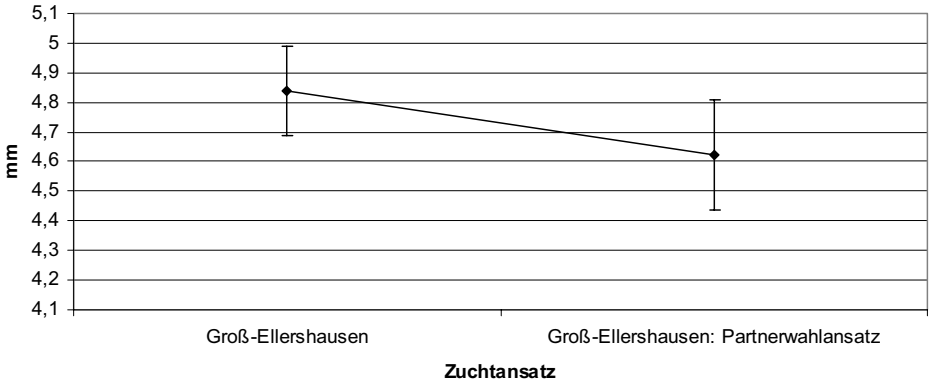


Abb. 3.4-10: Länge der Eier, die aus den Verpaarungen in den Partnerwahlversuchen hervorgegangen sind, in denen die Weibchen aus der Population *Groß-Ellershausen* das Männchen aus der Population *Bad Lauterberg* gewählt haben im Vergleich zur Länge von Eiern der Populationszucht *Groß-Ellershausen*.

Genau so legten Tiere aus den Populationen *Bad Laer*, *Ludolfshausen* und *Scheden*, die ebenfalls mit einem populationsfremden Männchen verpaart wurden, signifikant kleinere Eier ab als die Tiere der Populationszuchten.

Die Populationshybriden, deren Zucht bis in die dritte Filialgeneration gelang, legten in der ersten Filialgeneration signifikant kleinere Eier ab als in der dritten Filialgeneration (Abb. 3.4-11; Prüfgröße: 22,52, kritischer F-Wert: 6,77).

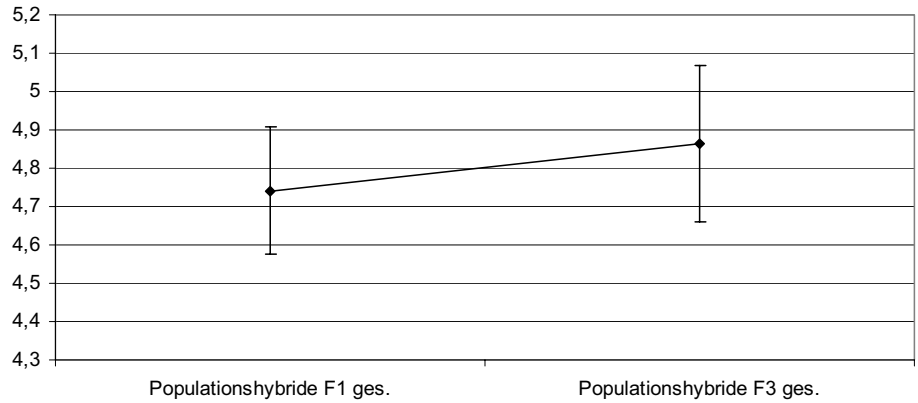


Abb. 3.4-11: Eilänge der ersten Filialgeneration erfolgreich gezüchteter Populationshybriden gegenüber der dritten Filialgeneration (jeweils von Tieren, die in jeder Generation untereinander verpaart wurden).

Die Tiere aus dem Versuchsansatz zur Inzucht in der Population *Ludolfshausen* legten in der dritten Filialgeneration kleinere Eier als die dritte Filialgeneration der Populationszucht, welche auch größere Individuen hervorbrachte. Die Eier der Inzucht waren aber etwa ebenso groß wie die Eier der ersten Filialgeneration der Populationszucht (Abb. 3.4-12).

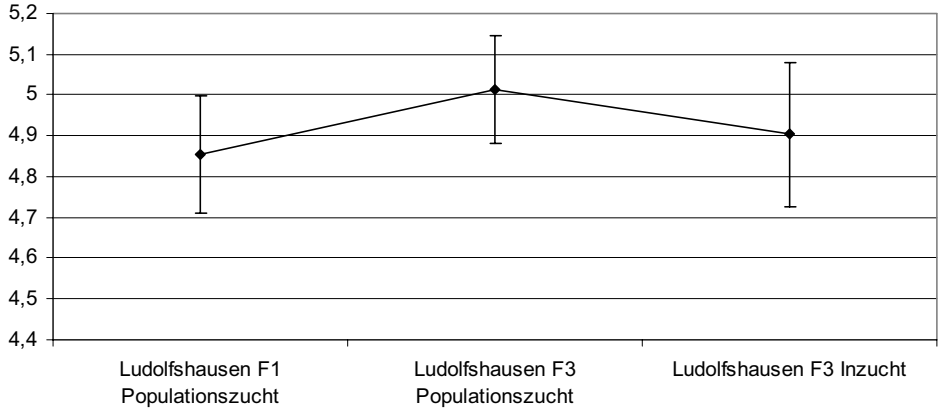


Abb. 3.4-12: Länge der Eier von Tieren mit der Herkunft *Ludolfshausen* aus verschiedenen Zuchtansätzen.

3.4.2 Morphologie

In beiden Geschlechtern traten bei Populationen aus dem süddeutschen Raum Tiere entweder mit einem geraden hinteren Pronotumrand oder einer Kerbe im

hinteren Rand des Pronotums auf. Der hintere Rand des Pronotums ist bei den meisten Tieren aus den norddeutschen Populationen eingekerbt (Abb. 3.4-13). Lediglich Tiere aus der Population *Bad Lauterberg* (Abb. 3.4-14) besitzen einen geraden Pronotumrand. Bei einigen Individuen aus dem Alpenvorland fehlte ebenfalls die Kerbe am Pronotum. Es zeigen allerdings nicht alle Tiere einer Population die Ausprägung dieses Merkmals in der gleichen Intensität.

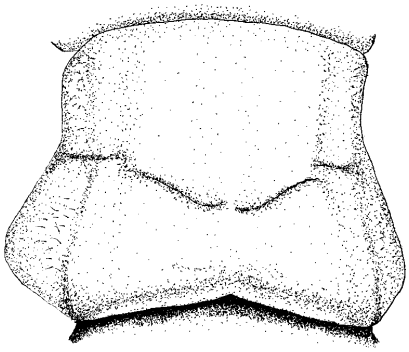


Abb. 3.4-13: Dorsale Ansicht des Pronotums eines männlichen Tieres aus der Population *Knutbühren*.

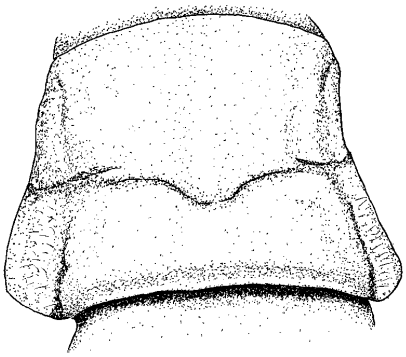


Abb. 3.4-14: Dorsale Ansicht des Pronotums eines männlichen Tieres aus der Population *Bad Lauterberg*.

Merkmale, wie sie von Galvagni & Fontana (1992) für die Beschreibung der Art *B. vicetinus* herangezogen wurden, erwiesen sich für eine morphologische Differenzierung der untersuchten *B. serricauda*-Populationen als nicht tauglich. Die Form (mit Ausnahme der oben beschriebenen Kerbe am hinteren Rand) und Furchung des Pronotums erwiesen sich individuell als zu variabel, um anhand dieses Merkmals Tiere bestimmten Herkunftspopulationen zuordnen zu können. Auch die Cerci der Männchen wiesen individuelle Unterschiede in ihrer Krümmung und Verjüngung zum distalen Dorn hin auf.

Die Subgenitalplatte der Männchen konnte im Rahmen dieser Untersuchung nicht hinreichend bearbeitet werden, da nur Tiere untersucht wurden, die eines natürlichen Todes aus Altersgründen gestorben waren und nicht immer unmittelbar nach ihrem Tode fixiert werden konnten. Die Tiere wurden auch in den Versuchen zur Überlebenswahrscheinlichkeit eingesetzt. Die relativ weichen Strukturen könnten durch Verwesung bzw. Austrocknung nicht in ihrer ursprünglichen Form erhalten geblieben sein, sodass die hier festgestellten Unterschiede, die ebenfalls zwischen den Individuen ausgeprägter waren als zwischen Tieren verschiedener Populationen, als nicht aussagekräftig angesehen werden müssen.

3.5 Partnerwahlversuche

3.5.1 Präferenz der Weibchen im Mittel aller Populationen

Zur Ermittlung des weiblichen Präferenzverhaltens, was neben den Untersuchungen der Zeitintervalle des Männchengesangs Aufschluss über mögliche sich entwickelnde prägame Isolationsmechanismen geben sollte, wurden insgesamt 242 Wahlversuche durchgeführt. Bei sehr warmer Witterung haben in einigen Fällen im Versuch eingesetzte Männchen Gewicht verloren. Es wurde angenommen, dass sich Männchen mit dem – in diesen Fällen meist erheblich – größeren Gewichtsverlust verpaart hatten. Die Männchen wurden eingehender untersucht. Auch das Abdomen verlor nach einer Kopula an Volumen.

In 87 Versuchen (Tab. 3.5-1) kam es zu einer Kopulation, d. h., dass der Anteil der erfolgreich verlaufenen Kopulationen an den insgesamt erfolgten Versuchsansätzen bei etwa einem Drittel lag. Dabei wurden nur Verpaarungen ausgewertet, bei denen das Weibchen einen anhaftenden Spermatophylax aufwies. Es war zu beobachten, dass sich in den Zuchten, in denen nur wenige Individuen nachgezogen werden konnten, fast alle Weibchen verpaarten. Stammten die Individuen aus Zuchtkäfigen, in denen verhältnismäßig viele Tiere (mehr als etwa sechs Tiere) während ihrer postembryonalen Entwicklung untergebracht waren, konnten weniger Kopulationen beobachtet werden. Es wurden dann auch mit den Weibchen der entsprechenden Zuchten geringe Quoten bei Partnerwahlversuchen registriert, da diese stets mit Tieren aus verhältnismäßig starken Zuchten durchgeführt wurden. Hier ist offenbar der Anteil an Weibchen, die nicht am Reproduktionsprozess teilnehmen, größer. Allerdings verpaarten sich auch einige Weibchen nicht, die separiert aufgezogen wurden. In der Gesamtheit der registrierten Verpaarungen haben sich 66 % der Weibchen für das ihnen fremde Männchen entschieden. Das Männchen der Population, aus der das Weibchen selbst stammte, wählten nur 32 % (Abb.: 3.5-1). Nur in zwei Fällen (gerundet: 2 %) war eine Zuordnung nicht möglich: in einem Versuchsansatz verstarb eines der Männchen über Nacht, in einem anderen Fall konnte aufgrund des fast gleichen Gewichtsverlustes keine sichere Zuordnung vorgenommen werden.

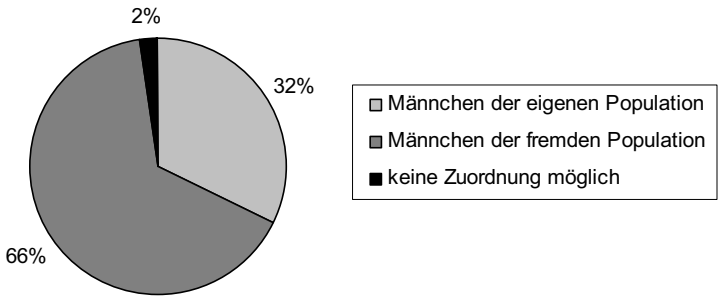


Abb. 3.5-1: Prozentuale Wahl des Weibchens in den erfolgreichen Partnerwahlversuchen (n = 87). Alle Populationen wurden zusammengefasst betrachtet.

Die statistische Überprüfung eines Zusammenhangs zwischen der Herkunft eines Weibchens und ihrer Wahl eines Männchens als Kopulationspartner wurde mittels Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Es ergab sich eine Beziehung zu dem Merkmal Herkunft der Kopulationspartner im Partnerwahlversuch mit einem Kontingenzkoeffizienten von $K_* = 0{,}54$.

3.5.2 Wahl einzelner Populationen

Die meisten erfolgreich verlaufenen Partnerwahlversuche konnten mit in ausreichender Anzahl verfügbaren Weibchen der Population *Knutbühren* durchgeführt werden. Hier wurden 28 Verpaarungen bei 42 Versuchen dokumentiert. In 14 Versuchen wurde als populationsfremdes Männchen ein Tier aus der Population *Bad Lauterberg* angeboten, in zwei Versuchen stand ein Männchen aus *Ossenfeld I* zur Wahl und in vier Versuchen wurde ein Männchen aus *Hasbruch* angeboten. In den restlichen Versuchen wurde ein Männchen aus der Population *Bremke* für den Wahlversuch genutzt. Die genetische Distanz (nach Nei) basierend auf den Daten der RAPD-Analyse (Anhang *A*: Tab. 3.7*A*-3), betrug zur Population *Bad Lauterberg* 0,1553, zur Population *Ossenfeld I* 0,1306, zur Population *Hasbruch* 0,0606 und zur Population *Bremke* 0,1126. Die Erfolgsquote in den häufigsten Versuchsanordnungen war mit 39 % bei der Kombination mit einem Männchen aus *Bremke* und mit 41 % bei der Kombination mit einem Männchen aus *Bad Lauterberg* nahezu gleich. In den Versuchsansätzen mit Männchen aus *Bad Lauterberg* konnten zwölf Verpaarungen registriert werden, davon sechs mit dem populationsfremden Männchen. In der Versuchskonstellation mit einem Männchen aus *Bremke* wählte ein Weibchen aus *Knutbühren* in vier von neun Fällen das po-

pulationsfremde Tier. In den Versuchen mit Tieren aus *Ossenfeld I* wurden zwei; mit Männchen aus *Hasbruch* eine Kopulation registriert. Bei beiden Konstellationen wurde im Falle einer Kopulation das populationsfremde Männchen ausgewählt.

In den beiden Kombinationen mit *Bremke* oder *Bad Lauterberg* waren keine klaren Präferenzen erkennbar. Auch unter Einbeziehung der anderen Wahlkonstellationen zeigten die Weibchen aus der Population *Knutbühren* mit einer Bevorzugung des populationsfremden Männchens (54 %) gegenüber einem Männchen aus der eigenen Population keine klare Präferenz.

Obwohl die meisten Versuche mit Weibchen der Lokalität *Ludolfshausen* durchgeführt wurden (n = 50), wurden doch nur elf Verpaarungen registriert. Alle Verpaarungen erfolgten mit Männchen aus *Ebersberg* (39 Versuche). Es wurden acht Versuche durchgeführt, in denen ein Männchen aus *Hildesheim* (genetische Distanz: 0,1707) alternativ zum populationseigenen Männchen angeboten wurde. Hinzu kamen weitere drei Wahlversuche mit einem Männchen aus *Bad Lauterberg* (genetische Distanz: 0,1854). In den beiden letztgenannten Versuchskonstellationen konnte keine Kopulation beobachtet werden. Die Weibchen aus *Ludolfshausen* bevorzugten mit 55 % das populationseigene Männchen. Die Population *Ludolfshausen* wies zur Population *Ebersberg Weiher* in der RAPD-Analyse eine genetische Distanz von 0,2023 auf. Männchen der Population *Ludolfshausen* zeigten etwa eine vergleichbare Verteilung der Zeitintervalle im Gesang (vgl. hierzu Abschnitt 3.6.2 und 3.6.3).

Deutlicher fiel das Ergebnis der Wahlversuche mit Weibchen der Population *Bad Laer* aus. Diese bekamen neben dem Männchen der eigenen Population ein Männchen der Population *Knutbühren* (genetischer Distanzwert: 0,1363) angeboten. Diese Versuchskonstellation wurde 34-mal durchgeführt; 11 Verpaarungen wurden registriert. Die Weibchen bevorzugten Männchen aus *Knutbühren* mit 82 % deutlich gegenüber den angebotenen Tieren aus der eigenen Population (Männchen der Lokalität *Knutbühren* weisen in ihrem Gesang gegenüber Männchen der Population *Bad Laer* insgesamt etwas längere Zeitintervalle auf; vgl. Kapitel 3.6.2 und 3.6.3).

Alternativ hierzu wurde 13 Weibchen aus der Population *Bad Laer* ein Männchen aus der Population *Oberkatzbach* (genetische Distanz: 0,2881) angeboten. Hier bevorzugten 50 % der Weibchen in den sechs erfolgreich verlaufenen Wahlversuchen das populationsfremde Männchen gegenüber dem Männchen der eigenen Population. Weibchen der Population *Oberkatzbach* wurde ein Männchen der Population *Bad Laer* zur Wahl angeboten. In allen fünf erfolgreich verlaufenen Versuchen wählten diese Tiere das populationsfremde Männchen.

Ein ähnliches Ergebnis wie in der Versuchskonstellation mit einem Weibchen aus der Population *Bad Laer* und einem Männchen aus *Knutbühren* wurde in den Wahlversuchen mit Weibchen der Population *Groß-Ellershausen* erzielt. Hier bevorzugten die Weibchen mit 83 % das angebotene Männchen aus der Population *Bad Lauterberg* (mit einer genetischen Distanz von 0,1539 in der RAPD-Analyse) gegenüber den Männchen der eigenen Population. Allerdings konnten

in dieser Konstellation nur neun Versuche durchgeführt werden, von denen es in sechs Fällen zu einer Verpaarung kam.

Ein mit den für Weibchen der Population *Bad Laer* erzielten Ergebnissen vergleichbares Bild ergab sich bei den Wahlversuchen mit Weibchen der Population *Hasbruch*. Diesen Tieren wurden als populationsfremde Männchen Individuen der Populationen *Göttingen* oder *Knutbühren* (je drei Versuche) zur Wahl angeboten. Von sechs aus der Population *Hasbruch* in den Wahlversuchen eingesetzten Weibchen verpaarten sich im ersten Versuchdurchgang fünf. Wurde ein Männchen aus *Knutbühren* (die ermittelte genetische Distanz betrug hier 0,0606) angeboten, konnte keine Bevorzugung festgestellt werden. Wenn ein Männchen aus *Göttingen* (genetische Distanz: 0,0712) angeboten wurde, fiel die Wahl des Weibchens auf dieses Tier (Männchen aus der Population *Göttinger Wald* wiesen im Verhältnis zu den Männchen aus *Hasbruch* kürzere Zeitintervalle im Gesang auf; vgl. Kapitel 3.6.2 und 3.6.3).

Auch bei größeren Distanzwerten zwischen zwei Populationen wählte ein Weibchen das populationsfremde Männchen. In Versuchen mit Weibchen der Population *Scheden* beispielsweise, denen neben den populationseigenen Männchen Tiere aus der Population *Zwölfgehren* mit einer genetischer Distanz von 0,2394 angeboten wurden, wählte in einem der zwei erfolgreich verlaufenen Versuche ein Weibchen das populationsfremde Männchen (zusammenfassend: Abb. 3.5-2).

Außer den oben detaillierter beschriebenen Versuchskonstellationen wurden noch Weibchen aus den Populationen *Ossenfeld*, *Hildesheim*, *Bad Lauterberg*, *Kaufunger Wald* und *Ebersberg* in den Partnerwahlversuchen eingesetzt. Eine Einzelbetrachtung dieser Populationen wird jedoch nicht vorgenommen, da es nur in wenigen Fällen zu einer Verpaarung kam. Die erfolgreichen Versuche sind in Tab. 3.5-1 aufgeführt.

Sieben der in den Wahlversuchen eingesetzten Weibchen konnten ein weiteres Mal in einer identischen Versuchsanordnung verpaart werden. Fünf Tiere wählten ein Männchen mit der gleichen Herkunft wie im vorangegangenen Versuch.

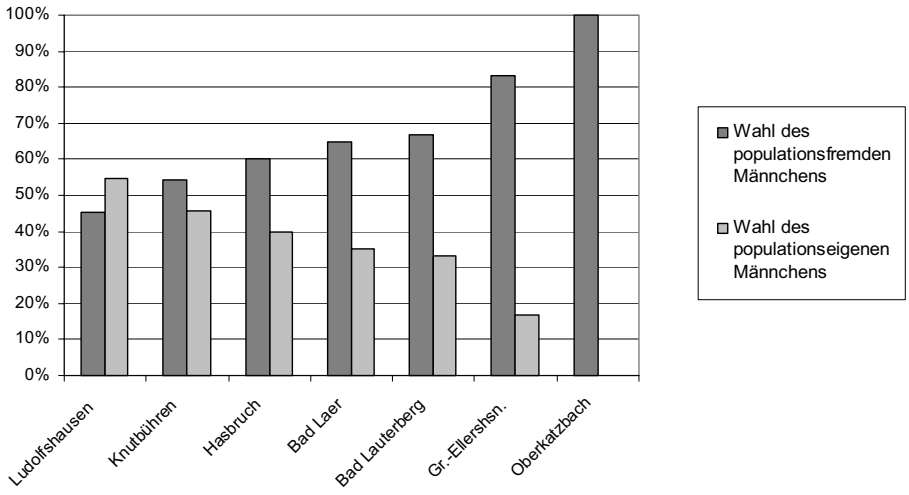


Abb. 3.5-2: Wahl der Weibchen einzelner Populationen im Partnerwahlversuch. Dargestellt für Weibchen aus sieben untersuchten Populationen (je Population wurden zwischen fünf und 24 Kopulationen ausgewertet).

Tab. 3.5-1: Registrierte Kopulationen in den Partnerwahlversuchen. Der Geschlechtspartner des Weibchens wurde über die Gewichtsdifferenz ermittelt (detaillierte Daten im Anhang *A*; Tab. 3.5*A*-1)

Herkunft Weibchen	Herkunft Männchen 1	Gewichts-differenz (%)	Herkunft Männchen 2	Gewichts-differenz (%)	populations-fremdes Männchen	populations-eigenes Männchen
Knutbühren	Bremke	-3	Knutbühren	10		1
Knutbühren	Bremke	18	Knutbühren	39		1
Knutbühren	Bremke	-5	Knutbühren	21		1
Knutbühren	Bremke	18	Knutbühren	3	1	
Knutbühren	Bremke	0	Knutbühren	8	1	
Knutbühren	Bremke	-3	Knutbühren	22		1
Knutbühren	Hasbruch	21	Knutbühren	0	1	
Knutbühren	Knutbühren	3	Bad Lauterberg	9		1
Knutbühren	Knutbühren	16	Bad Lauterberg	2		1
Knutbühren	Knutbühren	0	Bad Lauterberg	14	1	
Knutbühren	Knutbühren	2	Bad Lauterberg	12	1	
Knutbühren	Knutbühren	10	Bad Lauterberg	-1		1
Knutbühren	Knutbühren	18	Bad Lauterberg	0		1
Knutbühren	Knutbühren	1%	Bad Lauterberg	15	1	
Knutbühren	Knutbühren	0%	Bremke	9	1	
Knutbühren	Knutbühren	-1	Bad Lauterberg	10	1	
Knutbühren	Knutbühren	2	Bremke	12	1	
Knutbühren	Knutbühren	0	Ossenfeld I	20	1	
Knutbühren	Knutbühren	5	Ossenfeld I	26	1	
Knutbühren	Knutbühren	2	Bad Lauterberg	12	1	
Knutbühren	Knutbühren	9	Bad Lauterberg	-3		1
Knutbühren	Bremke	10	Knutbühren	-4	1	
Knutbühren	Knutbühren	7	Bad Lauterberg	-5		1
Knutbühren	Knutbühren	9	Bad Lauterberg	-2		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	0	Ebersberg	16	1	
Ludolfshausen	Ludolfshausen	22	Ebersberg	0		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	11	Ebersberg	-1		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	10	Ebersberg	5		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	17	Ebersberg	1		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	8	Ebersberg	4		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	1	Ebersberg	9	1	
Ludolfshausen	Ludolfshausen	-3	Ebersberg	9	1	
Ludolfshausen	Ludolfshausen	-3	Ebersberg	13	1	
Ludolfshausen	Ludolfshausen	-4	Ebersberg	13	1	
Ludolfshausen	Ludolfshausen	16	Ebersberg	6		1
Bad Laer	Bad Laer	-6	Knutbühren	21	1	
Bad Laer	Bad Laer	7	Knutbühren	21	1	
Bad Laer	Bad Laer	10	Knutbühren	2		1
Bad Laer	Bad Laer	-25	Knutbühren	46	1	
Bad Laer	Bad Laer	2	Knutbühren	8	1	
Bad Laer	Bad Laer	-2	Knutbühren	20	1	
Bad Laer	Bad Laer	-4	Knutbühren	14	1	
Bad Laer	Bad Laer	15	Knutbühren	0		1
Bad Laer	Bad Laer	2	Knutbühren	14	1	
Bad Laer	Bad Laer	8	Knutbühren	13	1	
Bad Laer	Bad Laer	-4	Knutbühren	13	1	
Bad Laer	Bad Laer	-1	Oberkatzbach	11	1	
Bad Laer	Bad Laer	11	Oberkatzbach	-4		1

Herkunft Weibchen	Herkunft Männchen 1	Gewichts-differenz (%)	Herkunft Männchen 2	Gewichts-differenz (%)	populations-fremdes Männchen	populations-eigenes Männchen
Bad Laer	Bad Laer	0	Oberkatzbach	5	1	
Bad Laer	Bad Laer	0	Oberkatzbach	13	1	
Bad Laer	Bad Laer	9	Oberkatzbach	0		1
Bad Laer	Bad Laer	11	Oberkatzbach	-2		1
Oberkatzbach	Bad Laer	18	Oberkatzbach	-1	1	
Oberkatzbach	Bad Laer	11	Oberkatzbach	-1	1	
Oberkatzbach	Bad Laer	14	Oberkatzbach	0	1	
Oberkatzbach	Bad Laer	9	Oberkatzbach	-1	1	
Oberkatzbach	Bad Laer	8	Oberkatzbach	-2	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	61	Bad Lauterberg	0		1
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	1	Bad Lauterberg	17	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	4	Bad Lauterberg	10	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	1	Bad Lauterberg	11	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	-3	Bad Lauterberg	9	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	2	Bad Lauterberg	25	1	
Hasbruch	Hasbruch	9	Göttingen	19	1	
Hasbruch	Hasbruch	-3	Göttingen	21	1	
Hasbruch	Hasbruch	18	Knutbühren	0		1
Hasbruch	Hasbruch	4	Knutbühren	14	1	
Hasbruch	Hasbruch	19	Knutbühren	2		1
Ossenfeld I	Bad Laer	16	Ossenfeld II	1	1	
Ossenfeld I	Bad Laer	3	Ossenfeld I	15		1
Ossenfeld II	Bad Laer	—	Ossenfeld II	10	—	—
Ossenfeld II	Ossenfeld I	13	Ossenfeld II	3	1	
Hildesheim	Hildesheim	1	Ludolfshausen	15	1	
Hildesheim	Hildesheim	15	Ludolfshausen	-2		1
Hildesheim	Hildesheim	19	Ludolfshausen	1	1	
Kaufunger Wald	Bad Lauterberg	6	Kaufunger Wald	0	1	
Kaufunger Wald	Bad Lauterberg	12	Kaufunger Wald	-2	1	
Kaufunger Wald	Bad Lauterberg	-1	Kaufunger Wald	7		1
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	14	Hildesheim	12	—	—
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	-5	Hildesheim	9	1	
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	-1	Hasbruch	3	1	
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	-1	Hasbruch	11	1	
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	2	Hasbruch	22	1	
Scheden	Scheden	16	Zwölfgehren	31		1
Scheden	Scheden	19	Zwölfgehren	-11	1	
Ebersberg	Ludolfshausen	8	Ebersberg	1	1	
Bremke	Bremke	10	Bad Laer	-27	1	

3.6 Untersuchungen zur Bioakustik

3.6.1 Bestimmung der Silben- und der Strophenlänge

Es konnten im Sommer 2006 von insgesamt 96 männlichen Tieren die Gesänge aufgenommen werden. Die Tiere stammten aus 14 der in Zucht genommenen

Populationen (Tab. 3.6-1). Die Umgebungstemperatur betrug während der Aufnahmen 24 ± 2 °C. Dieser Temperaturunterschied wird als vernachlässigbar erachtet.

Tab. 3.6-1: Anzahl aufgenommener Männchen je in die Untersuchung einbezogener Population, sowie die Gesamtzahl der Intervalle, die für jede Population in die Untersuchungen einbezogen wurden

Population	**Anzahl Männchen (n)**	**Ausgewertete Intervalle je Population (n)**
Bad Laer	8	2194
Bremke	3	973
Göttinger Wald	4	1201
Hasbruch	4	8323
Knutbühren-Bank	21	8608
Knutbühren-Kreuzung	6	3659
Ludolfshausen	13	5203
Ossenfeld I	6	1883
Ossenfeld II	3	992
Bad Lauterberg	7	2324
Ebersberg Weiher	6	1804
Groß-Ellershausen	8	1954
Hildesheim	3	800
Scheden	4	2804

Dabei konnten aus zwei Teilpopulationen mehr als zehn Individuen untersucht werden. So ließ sich die Variation innerhalb einer Population erfassen. Aus dem Habitat *Knutbühren* wurden zwei Populationen untersucht, zwischen denen eine Distanz von etwa 200 m lag. Das Habitat wird als günstig für die Tiere eingeschätzt, sodass angenommen werden kann, dass es zwischen den beiden Populationen zu gelegentlichem Austausch kommt.

B. serricauda singt in Versen, die aus aneinander gereihten Strophen bestehen. Diese wiederum setzen sich aus oft drei bis vier Silben zusammen (Stumpner & Meyer 2001; Abb. 3.6-1).

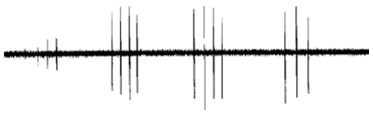


Abb. 3.6-1: Gesangsmuster von *B. serricauda* (Abb. aus: Stumpner & Meyer 2001).

Zwischen den Versen können längere Ruhephasen liegen. In der Auswertung der aufgezeichneten Zeitabstände wurden daher größere Zeitintervalle vernachlässigt und nur gemessene Werte für 40 Größenklassen bis 1000 ms einbezogen. Die Histogramme der untersuchten Populationen zeigen in den Größenklassen stets zwei Maxima (Peaks; beispielhaft: Abb. 3.6-2: Population *Bad Laer*).

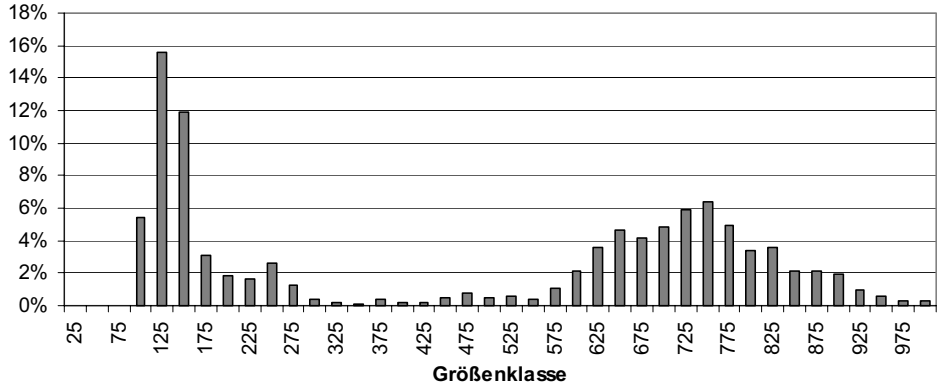


Abb. 3.6-2: Histogramm der Zeitintervalle (n = 2194) in 20 Größenklassen für die Gesamtpopulation *Bad Laer* (acht Individuen konnten aufgenommen werden).

In den Größenklassen 125-175 ms ist bei den meisten Populationen die relativ größte Häufigkeit von Intervallen registriert worden. Ein zweites, wenngleich wesentlich kleineres Maximum, liegt zwischen 650 und 850 ms. Das erste Maximum zeigt das Intervall zwischen den Silben, das zweite Maximum ist als der zeitliche Abstand zwischen hintereinander vorgetragenen Strophen zu deuten. Der zeitliche Abstand zwischen Versen wurde nicht berücksichtigt.

Die Auftragung der durchschnittlichen Silbenintervalle gegenüber den durchschnittlichen Strophenintervallen für die untersuchten Populationen (Abb. 3.6-3) zeigt, dass die Variabilität zwischen Populationen bei den Zeitabständen zwischen den vorgetragenen Silben nicht so groß ist wie bei den Strophen (Werte und Standardabweichungen in Anhang *A* Tab. 3.6*A*-16). Der zeitliche Abstand zwischen den Silben ist nur schwach korreliert mit dem Abstand zwischen den Strophen (Korrelationskoeffizient: 0,36). Die Population *Hasbruch* etwa weist eine im Verhältnis zu den anderen Populationen schnelle Abfolge von Silben, aber eine verhältnismäßig langsame Abfolge von Strophen auf. Anders verhält sich etwa die Population *Göttinger Wald*, deren Zeitintervalle zwischen den Silben relativ lang sind, während die Strophen in schneller Abfolge vorgetragen wurden.

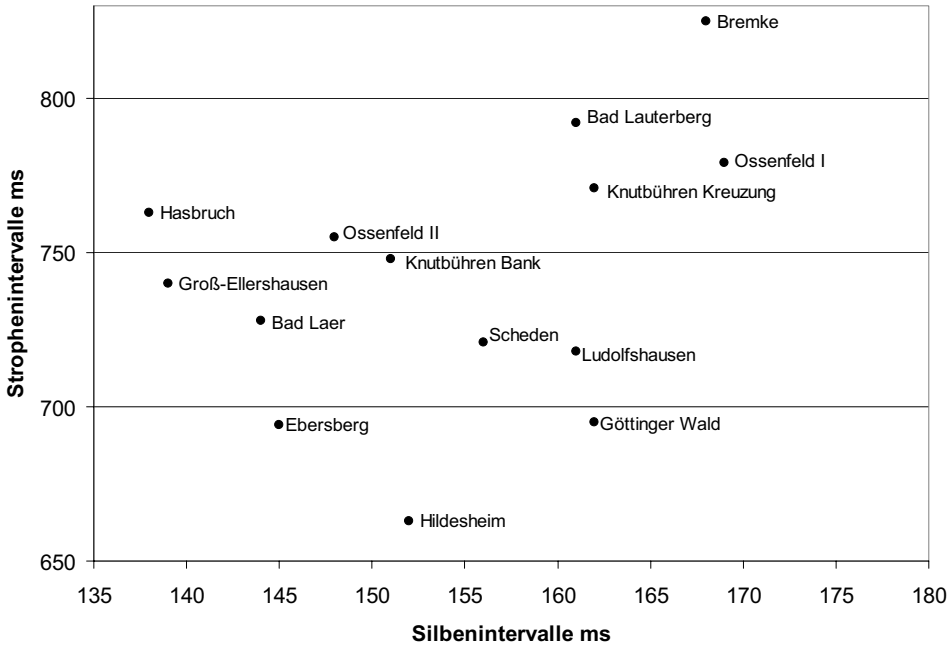


Abb. 3.6-3: Mittelwerte der Strophenintervalle gegenüber den Mittelwerten der Silbenintervalle von den untersuchten Populationen. Standardabweichung des Silbenabstandes zwischen 8,7 ms (Population *Hildesheim*) und 33,01 ms (Population *Knutbühren Bank*); Standardabweichung des Strophenabstandes zwischen 18,89 ms (Population *Göttinger Wald*) und 69,14 ms (Population *Ossenfeld I*).

3.6.2 Das Zeitintervall zwischen Silben

Von den 14 untersuchten Populationen zeigen zwölf Populationen eine Häufung der Zeitintervalle in den Größenklassen 125 bis 150 ms. Lediglich bei den Populationen *Hildesheim* und *Bremke* liegt das Maximum in der Größenklasse 175 ms (Abb. 3.6-4 und 3.6-5). In den beiden untersuchten Populationen der Lokalität *Knutbühren*, sowie in den Populationen *Ossenfeld I*, *Ossenfeld II*, *Scheden*, *Bad Lauterberg*, *Hasbruch*, *Ebersberg* und *Ludolfshausen* ist allerdings auch ein höherer Wert in der Größenklasse 175 ms zu verzeichnen. Während also bei Tieren der Populationen *Hildesheim* und *Bremke* das Zeitintervall zwischen den Silben verglichen mit den anderen untersuchten Populationen am längsten ist, so ist es bei Tieren der Populationen aus *Knutbühren*, *Ossenfeld*, sowie bei Tieren aus *Ludolfshausen*, *Scheden*, *Bad Lauterberg*, *Hasbruch* und *Ebersberg* im Mittel etwas kürzer. Die Populationen *Göttingen*, *Bad Laer* und *Groß-Ellershausen* weisen hingegen ein im Mittel deutlich kürzeres Zeitintervall zwischen den Silben auf. In der Größenklasse 175 ms wurden bei den beiden erstgenannten Populationen unter 5 % der Zeitintervalle aufgezeichnet. Bei Tieren der Population *Groß-Ellershausen* lag der Wert bei 6 %. Bei den gemittelten Werten für die Populationen *Bad Laer*

und *Groß-Ellershausen* fiel zudem ein verhältnismäßig hoher Anteil an Intervallen von etwa 5 % in der Größenklasse 100 ms auf.

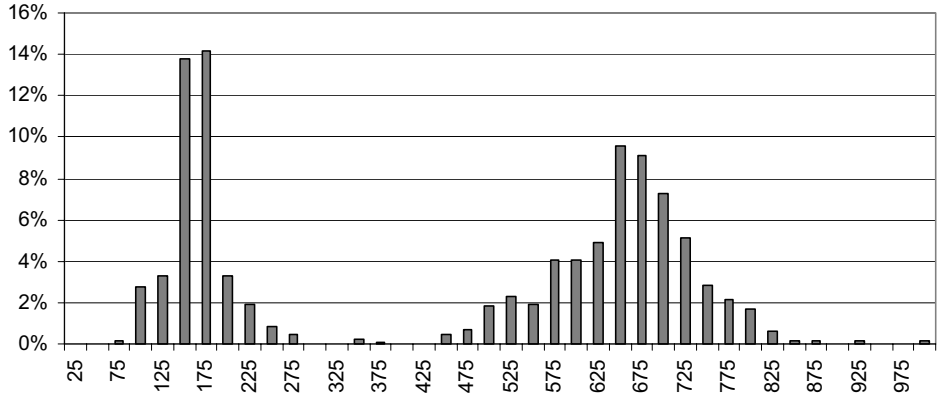


Abb. 3.6-4: Histogramm der Zeitintervalle (n = 800) für die Population *Hildesheim*, aufgenommen wurden drei Individuen.

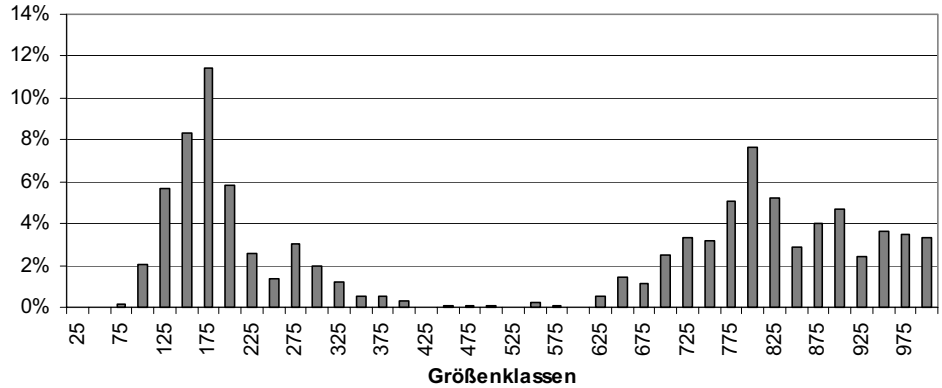


Abb. 3.6-5: Histogramm der Zeitintervalle (n = 973) für die Population *Bremke* (drei Individuen).

Werden die Histogramme der Individuen aus den Populationen betrachtet, zeigt sich eine zum Teil höchst unterschiedliche Verteilung der Zeitintervalle. So ist bei der Gesamtpopulation *Knutbühren Kreuzung* (Abb. 3.6-6) beispielsweise eine relative Häufung der Zeitintervalle in der Größenklasse 150 ms festzustellen. Diese Häufung kann z. B. bei Individuum 3 (Abb. 3.6-7) wieder gefunden werden. Das Individuum 6 (Abb. 3.6-8) aus dieser Population weist jedoch eine Verteilung der Größenklassen auf, wie es für das Histogramm der Gesamtpopulation *Bremke* oder *Hildesheim* zu erwarten wäre. Auf individueller Ebene liegt

eine so hohe Variabilität vor, dass anhand der Histogramme keine Zuordnung eines Individuums zu einer Population möglich ist.

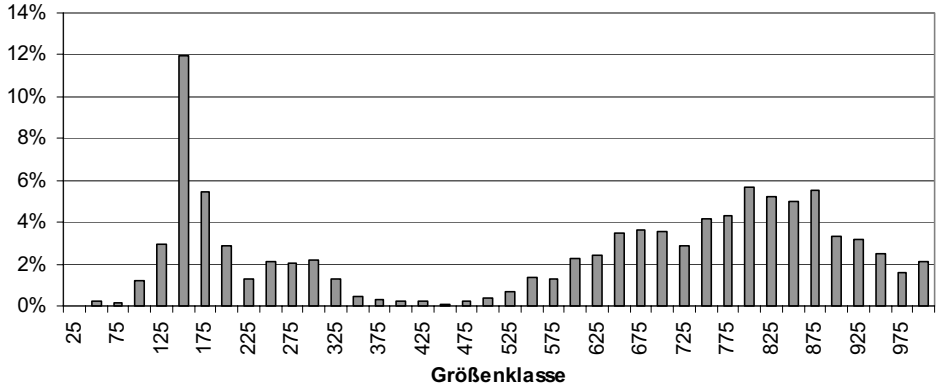


Abb. 3.6-6: Histogramm der Zeitintervalle für die Population *Knutbühren Kreuzung*. In die Auswertung sind sechs Individuen mit insgesamt 3659 Zeitintervallen eingegangen.

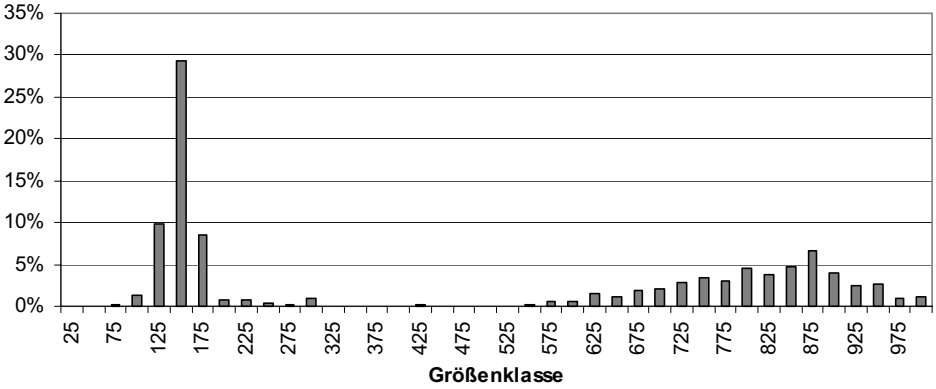


Abb. 3.6-7: Histogramm der Zeitintervalle (n = 532) des Individuums 3 der Population *Knutbühren Kreuzung*.

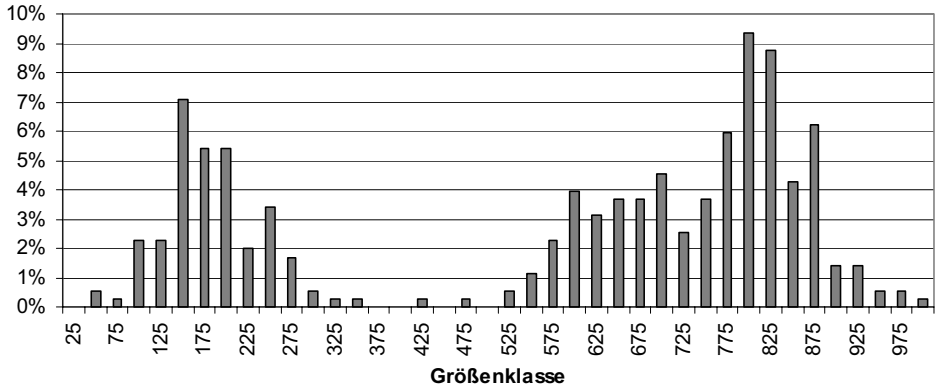


Abb. 3.6-8: Histogramm der Zeitintervalle (n = 353) des Individuums 6 der Population *Knutbühren Kreuzung*.

Ein Anteil von kurzen Intervallen in der Größenklasse 50 ms, der wahrscheinlich durch die von Meyer & Stumpner (2001) beschriebene zusätzliche Silbe verursacht wurde, ist bei einzelnen Männchen aller untersuchten Populationen zu finden (z. B. Abb. 3.6-8).

Eine Häufung kürzerer Intervalle als für die Herkunftspopulation typisch, zeigt der relative Vergleich der Mengenverteilung von der Gesamtpopulation *Ludolfshausen* mit einem einzelnen Individuum dieser Population. Die gemittelten Werte aller Tiere (Abb. 3.6-9) weisen eine in den meisten Populationen zu beobachtende Intervallhäufigkeit von deutlich unter 5 % in der Größenklasse 100 ms auf. Bei einzelnen Individuen dieser Population betrug der Anteil dieser Größenklasse jedoch bis zu 22 % (Abb. 3.6-10). Bei einem anderen Tier aus der gleichen Population konnte wiederum in dieser Größenklasse kein Signal registriert werden (Abb.: 3.6-11). Hier war das Zeitintervall zwischen den Silben deutlich länger, was durch einen Anteil von annähernd 20 % in der Größenklasse 175 ms deutlich wird. Ähnliches kann auch bei den Daten zu den Populationen mit prozentual höherem Anteil der Zeitintervalle in der Größenklasse 100 ms gefunden werden. Der Gesang der Individuen weist auch im Auftreten sehr kurzer Zeitintervalle, ebenso wie in der zeitlichen Abfolge der Silben einer Strophe, eine hohe Variabilität auf.

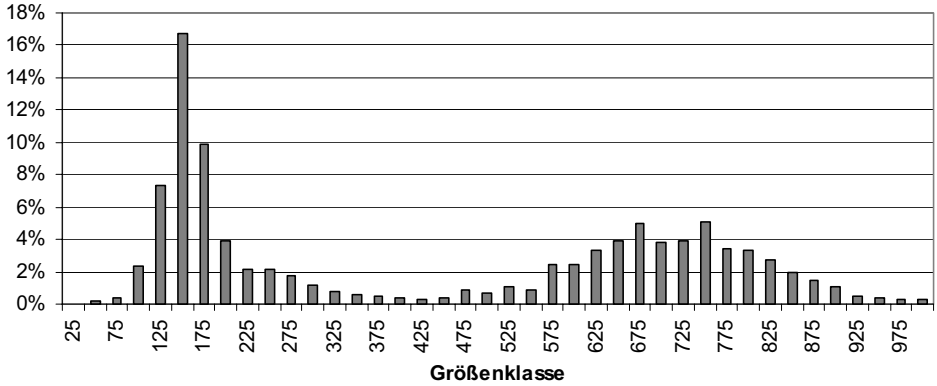


Abb. 3.6-9: Histogramm der Zeitintervalle (n = 5203) für die Population *Ludolfshausen* (13 Individuen).

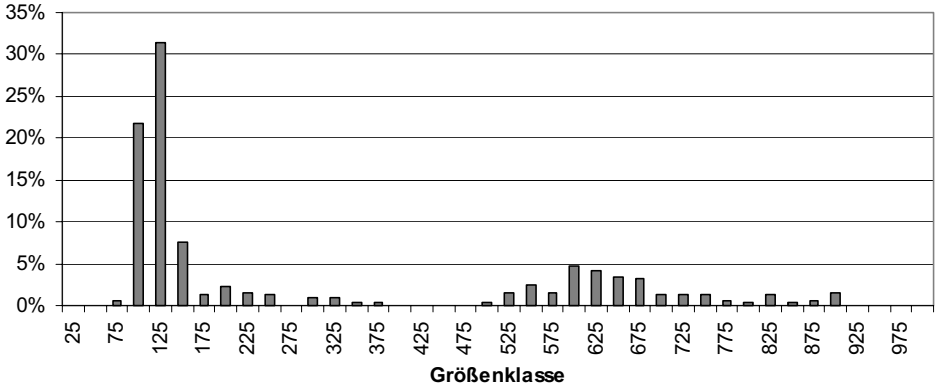


Abb. 3.6-10: Histogramm der Zeitintervalle (n = 318) des Individuums 1 der Population *Ludolfshausen*.

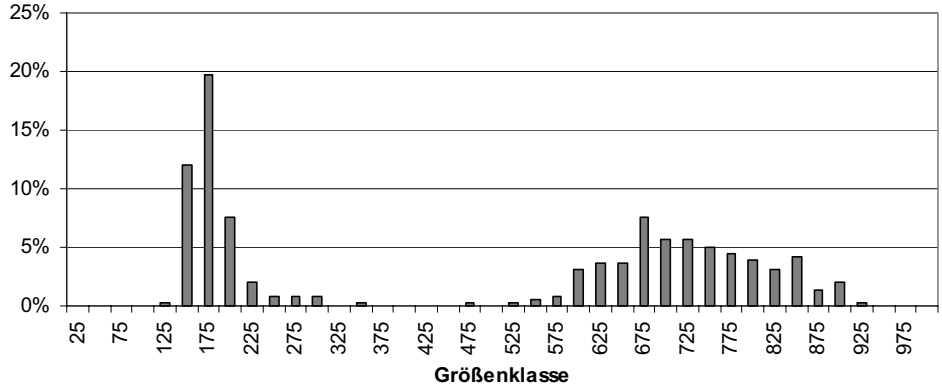


Abb. 3.6-11: Histogramm der Zeitintervalle (n = 356) des Individuums 6 der Population *Ludolfshausen*.

Auch statistisch kann bei den Silbenintervallen kein signifikanter Unterschied zwischen den Populationen gefunden werden (die Prüfgröße liegt mit einem kritischen F-Wert von 2,35 bei 2,19).

3.6.3 Das Zeitintervall zwischen Strophen

Der zeitliche Abstand zwischen den Strophen, repräsentiert durch das etwas breitere Maximum zwischen 650 und 850 ms, variiert ebenfalls bei den auf die Gesamtpopulation gemittelten Daten. Bei Tieren der Populationen *Hildesheim* (Abb.: 3.6-4) und *Ebersberg* (Abb.: 3.6-12), die eine geographische Distanz von etwa 700 km aufweisen, liegen die Zeitintervalle zwischen den Strophen bei etwa 650 bis 700 ms, bei Tieren der Populationen *Bremke* (Abb.: 3.6-5) oder *Hasbruch* (Abb.: 3.6-13) oder bei beiden Populationen aus *Knutbühren* (Abb.: 3.6-5 und 3.6-14) im Mittel um 750 bis 850 ms.

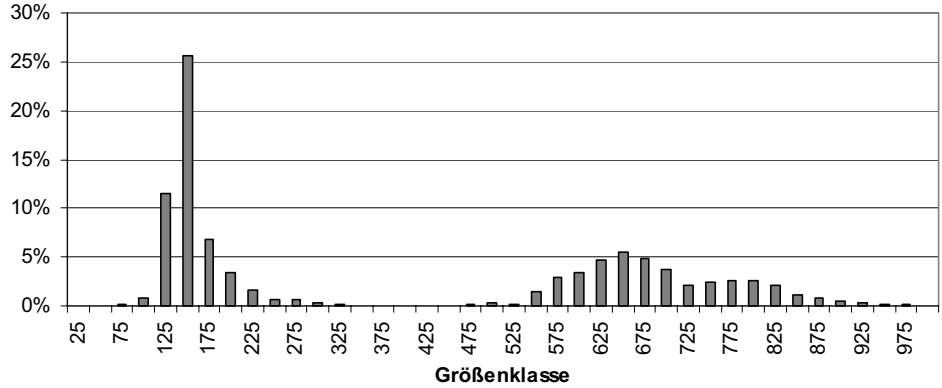


Abb. 3.6-12: Histogramm der Zeitintervalle (n = 1804) für die Population *Ebersberg* (sechs Individuen). Diese Population weist eine geographische Distanz von etwa 400 km zu den südniedersächsischen Populationen auf.

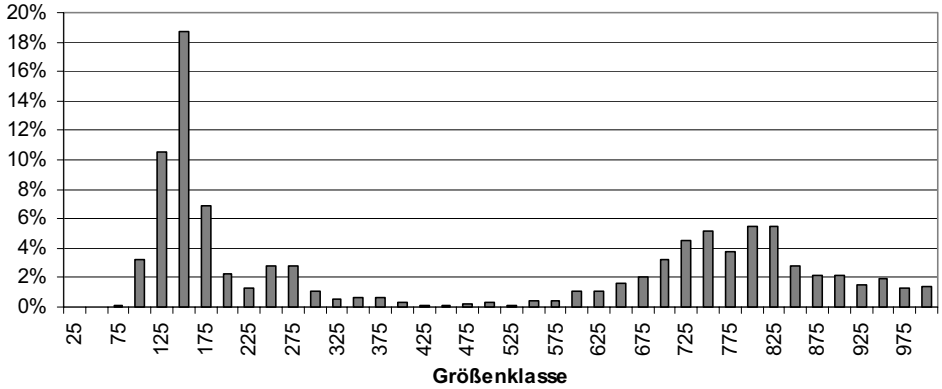


Abb. 3.6-13: Histogramm der Zeitintervalle (n = 8323) für die Population *Hasbruch* (vier Individuen).

Die Populationen aus *Knutbühren* mit möglichem genetischen Austausch wiesen ein kaum unterschiedliches Histogramm auf (Abb.: 3.6-6 und 3.6-14). Bemerkenswert war allenfalls eine geringe Verschiebung bei der Häufung der Größenklasse des Intervalls zwischen den Strophen. So war der durchschnittliche Abstand bei der Population *Knutbühren Kreuzung* gegenüber der Population *Knutbühren Bank* um 23 ms länger. In dieser Population waren auch Männchen vertreten, die, anders als bei der Population *Knutbühren Kreuzung*, ein kürzeres Intervall zwischen den Strophen aufwiesen, beispielsweise Individuum 15 (Abb.: 3.6-15).

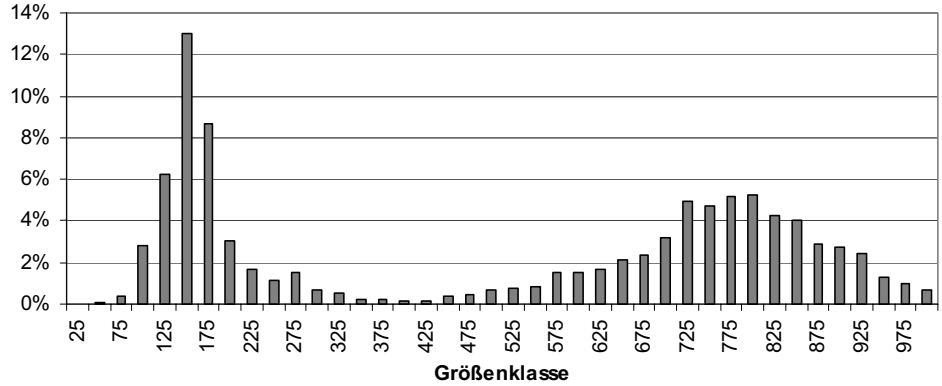


Abb. 3.6-14: Histogramm der Zeitintervalle (n = 8603) für die Population *Knutbühren Bank* (21 Individuen).

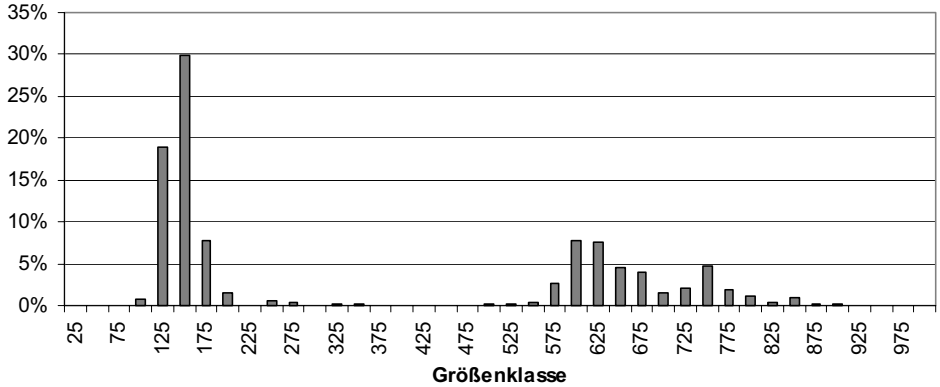


Abb. 3.6-15: Histogramm der Zeitintervalle (n = 697) des Individuums 15 der Population *Knutbühren Bank*.

In einigen Populationen, wie beispielsweise der Population *Bad Lauterberg* (Abb.: 3.6-16), konnte eine breite Streuung in der Häufigkeit der Zeitintervalle zwischen den Strophen aufgezeichnet werden.

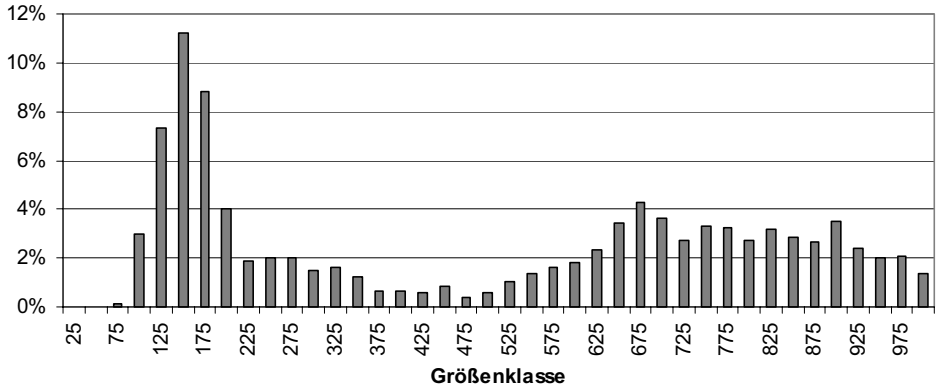


Abb. 3.6-16: Häufigkeitsverteilung der Zeitintervalle (n = 2324) in der Population *Bad Lauterberg* (sieben Tiere). Die Signale in den Größenklassen 300 bis 550 ms sind durch die lange Zeitdauer der Aufnahmen verursacht.

Bei diesem Merkmal ist auch bei einzelnen Individuen teilweise eine sehr breite Streuung der Intervallhäufigkeiten zu beobachten, wie Abb. 3.6-17 bei einem Tier der Population *Ossenfeld II* zeigt. Allerdings ergaben Wiederholungsmessungen an verschiedenen Tagen, dass Individuen (Abb.: 3.6-18 und 3.6-19) keine wesentlichen Schwankungen bei der Häufigkeitsverteilung der vorgetragenen Zeitmuster zeigen. Die Individuen weisen lediglich eine geringfügige Variabilität in den Abständen zwischen den Silben auf. Zeitintervalle zwischen Strophen hingegen sind bei demselben Tier stets relativ gleich.

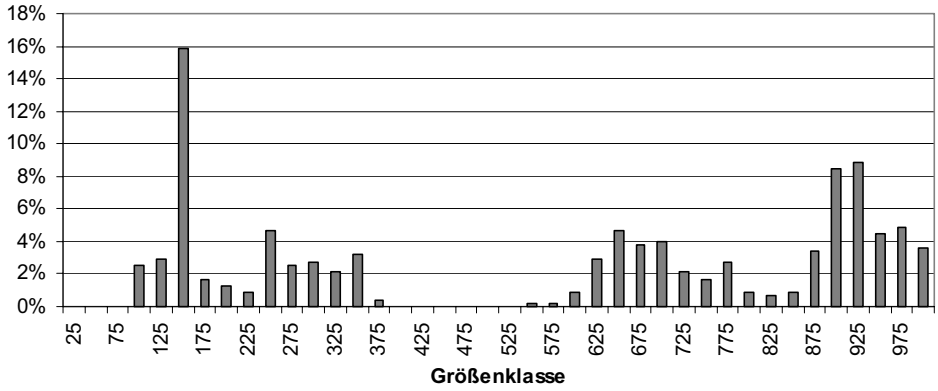


Abb. 3.6-17: Histogramm der Zeitintervalle (n = 473) des Individuums sechs der Population *Ossenfeld I*.

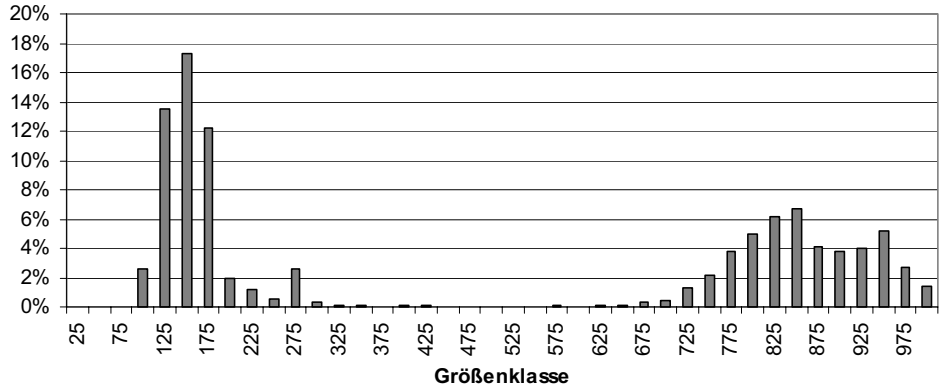


Abb. 3.6-18: Histogramm der Zeitintervalle (n = 1403) des Individuums zwei der Population *Knutbühren Bank*.

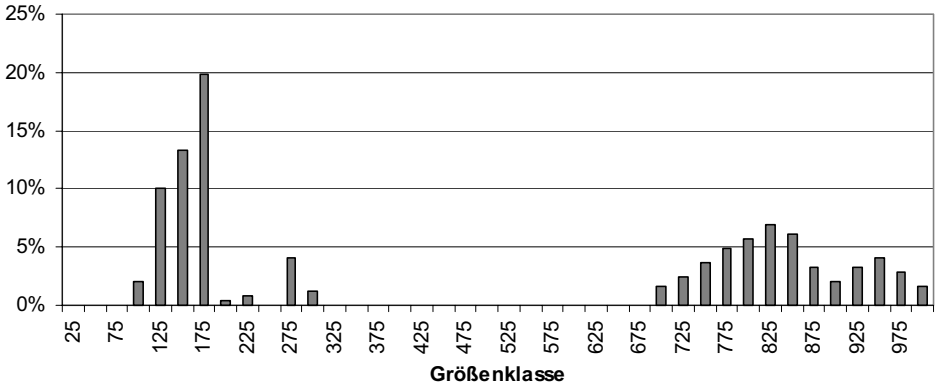


Abb. 3.6-19: Histogramm der Zeitintervalle (n = 247) des Individuums zwei der Population *Knutbühren Bank* in der Wiederholungsmessung.

Entsprechend weist die einfaktorielle Varianzanalyse signifikante Unterschiede für die Strophenabstände zwischen den untersuchten Populationen mit einer Prüfgröße von 4,01 gegenüber dem kritischen F-Wert von 2,35 aus.

Im Anhang *A* (Tab. 3.6*A*-1 bis 3.6*A*-15) sind die relativen Anteile von Intervallen an den gebildeten Größenklassen sowohl für die Gesamtpopulationen, als auch für die einzelnen Individuen in tabellarischer Form aufgeführt. Die Größenklassen wurden zur Übersichtlichkeit in einer Abstufung von 50 ms gewählt.

3.7 Molekulargenetische Analysen

3.7.1 DNA-Isolation

Sowohl aus dem Kopf der Tiere als auch aus dem Muskelgewebe des Femurs konnte eine ausreichende Menge DNA isoliert werden (Konzentrationen zwischen 200 und 1200 ng/µl). Hierbei konnten weder Unterschiede in der Qualität isolierter DNA (λ 260/280 nm) von tief gefrorenen und in Alkohol konservierten Tieren festgestellt werden, noch gab es Unterschiede zwischen Proben, bei denen der Kopf verwendet wurde und Proben, bei denen die Femurmuskulatur zur Untersuchung herangezogen wurde. Gewebe aus gefrorenen Tieren konnte allerdings besser isoliert werden, da die Konservierung der Tiere in Alkohol zur Austrocknung des Gewebes führte, welches sich während der Präparation elektrostatisch auflud. Für die AFLP-Analyse reichte allerdings zum Teil die Probenquantität bei Isolation aus dem Gewebe eines Postfemurs nicht aus, um die gelöste Menge DNA auf die gewünschte Konzentration zu bringen. (Anhang *A*; Tab. 3.7*A*-1).

3.7.2 RAPD-PCR

Von den neun Primern, die zur der Etablierung ausgewählt wurden, konnten lediglich acht in die Auswertung einbezogen werden (Tab. 3.7-1). Eine Amplifikation mit dem Primer „GMS 13“ lieferte zwar eine ausreichende Anzahl polymorpher Banden, bei vielen Proben konnten jedoch, trotz Wiederholung der PCR, keine Amplifikate erzielt werden. Mit diesem Primer wurde nur eine Gesamtquote erfolgreicher Amplifikationen von 89,5 % erzielt. Als Konsequenz wurde der Primer „GMS 13“ aus der Auswertung herausgenommen. Eine erfolgreiche RAPD-Amplifikation ist auch bedeutend vom eingesetzten Primer abhängig.

Tab. 3.7-1: Erfolgsquote der RAPD-PCR

Primer	Amplifikationen ges.	davon erfolgreich	(%)
GMS1	124	108	87
GMS7	124	124	100
GMS13	124	72	58
GMS3/12	124	119	96
GMS4/5	124	122	98
Cr1/Cr2	124	121	98

In die Analyse gingen insgesamt 90 polymorphe Fragmente ein. Eine Aufschlüsselung nach Primern wird aus Tab. 3.7-2 ersichtlich.

Tab. 3.7-2: Polymorphe Fragmente je nach Primer/-kombination

Name	Sequenz (5' - 3')	Anzahl polymorpher Fragmente
GMS 1	AGC AAG CCG G	20
GMS 7	CAC GGC TGC G	15
GMS 3 + GMS 12	AAG CGT GCA A; ACC ACC CAC C	22
GMS 4 + GMS 5	TTG CTG GGC G; CTG AGG TCT C	17
Cr1 + Cr2	GTG CAA TAC T ; ACT GCT GGT G	16

3.7.3 Reproduzierbarkeit der RAPD-PCR

Tests zur Reproduzierbarkeit, in denen identische Template–Primerkombinationen an verschiedenen Tagen bzw. in verschiedenen Thermocyclern, aber auch in Reaktionsgefäßen unterschiedlicher Hersteller getestet wurden, zeigte keine erheblichen Mängel der Methode auf: Bandenmuster wichen nicht wesentlich voneinander ab. Teilweise wiesen aufgetragene PCR-Produkte, die in Biometra-Cyclern amplifiziert wurden, im Vergleich zu den im Robo–Cycler amplifizierten eine geringfügig stärkere unspezifische Amplifikation („Hintergrundschmier") auf.

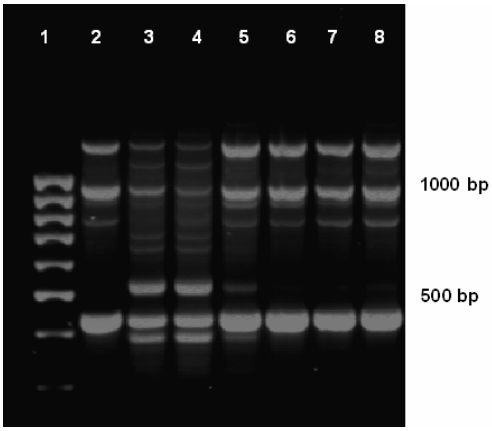


Abb. 3.7-1: RAPD-PCR (Primerkombination: cr 1 / cr 2) vom 10.11.2004; Labor Groner Landstr., Stratagene Robo-Cycler, Biozym-Tubes, MWG-Biotech Gelkammer, Beads.
Spur 1: 100 bp DNA-Größenmarker, Spuren 2-8: Individuen der Population *Hildesheim*.

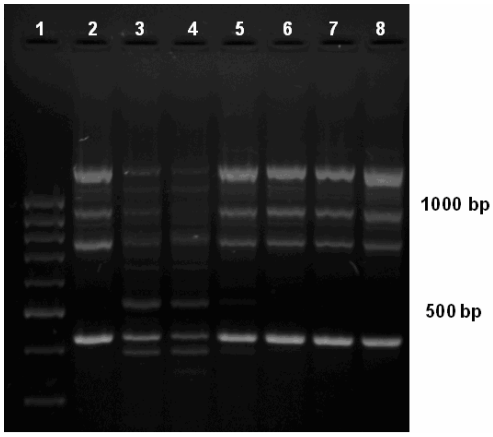


Abb. 3.7-2: RAPD-PCR (Primerkombination: cr 1 / cr 2) vom 21.2.2006; Labor Burckhardtweg 2, Biometra T 3000, VWR-Tubes, Biorad Gelkammer, Beads.
Spur 1: 100 bp DNA-Größenmarker, Spuren 2-8: Individuen der Population *Hildesheim*.

In den Abb. 3.7-1 und 3.7-2 sind zwei aufgetragene Amplifikate aus den Tests zur Reproduzierbarkeit abgebildet. Die Tests wurden mit isolierter DNA von Individuen der Population *Hildesheim* durchgeführt. Das geringfügig andersartige Erscheinungsbild resultiert hauptsächlich aus der Verwendung unterschiedlicher Gelkammern und Kämme, was zur Folge hat, dass die Banden in dem Ansatz vom 21.2.2006 etwas schmaler aussehen. Auch das unterschiedliche Gelelektrophoresedokumentationssystem trägt durch ein etwas blasseres Erscheinungsbild der Fotografie zur leicht abweichenden Optik bei. Das Bandenmuster und die Größe der amplifizierten Banden entsprechen, obwohl das Protokoll nicht auf die unterschiedliche Arbeitsweise der eingesetzten Thermocycler optimiert wurde, dennoch dem PCR-Produkt vom 10.11.2004.

3.7.4 AFLP-Amplifikation

Eine Ergebniskontrolle der mehrere aufeinander aufbauende Arbeitszwischenschritte erfordernden Methode ist exemplarisch unter 2.6.6 bereits abgehandelt. Obwohl nach der präselektiven PCR die DNA-Proben der Tiere bereits in drei Schritten bearbeitet wurden, mussten von den insgesamt 208 Tierproben nur drei wiederholt werden. Das entspricht einer Quote von etwa 1,5 %. Auch die

Ausfallquote in der selektiven PCR lag bereits bei der ersten Amplifikation mit 9 % im Durchschnitt aller Primerkombinationen etwas niedriger (Tabelle 3.7-3 aufgeschlüsselt nach Primerkombinationen) als bei der RAPD-PCR. Bei einigen Tieren konnte auch nach wiederholter Aufbereitung der DNA keine Amplifikation von Fragmenten erzielt werden, was auf z. T. schlechte Ausgangsqualitäten der Gewebe (fortgeschrittene Verwesung; Zersetzung der DNA) zurückzuführen ist. Die Amplifikation der AFLP-Fragmente kann insgesamt als stabiler betrachtet werden als die Amplifikation der RAPD-Fragmente.

Tab. 3.7-3: Polymorphe Fragmente je nach Primerkombination in der AFLP-Analyse

Primer-kombination	**Kürzel der Kombination**	**Amplifikationen ges. (n)**	**davon erfolg-reich (n)**	**in Prozent (%)**
EcoR1-CAG / Mse1-CTGG	t	208	185	89
EcoR1-CAG / Mse1-CAT	x	208	197	95
EcoR1-CAG / Mse1-CA	z	208	191	92
EcoR1-CA / Mse1-CTGG	k	208	198	95
EcoR1-CA / Mse1-CGTC	l	208	189	91
EcoR1-CA / Mse1-CG	p	208	195	94
EcoR1-CG / Mse1-CTGG	a	208	190	91
EcoR1-CG / Mse1-CAAG	b	208	194	93
EcoR1-CC / Mse1-CAT	e	208	191	92
EcoR1-CG / Mse1-CTC	d	208	185	89
EcoR1-CG / Mse1-CGTC	c	208	192	92

Von den getesteten Primerkombinationen für die selektive PCR zeichneten sich Kombinationen mit dem fluoreszenzmarkierten EcoRI-Primer mit zwei zusätzlichen Basen und dem MSEI-Primer mit drei oder vier zusätzlichen Basen durch gut voneinander unterscheidbare Bandenmuster aus (Tab. 3.7-3). Die in Vorversuchen ermittelte DNA-Menge wurde in der selektiven PCR für alle Auftrennungen eingesetzt.

3.7.5 Distanzanalyse: Bandenmuster

Die im Folgenden abgebildeten RAPD-Fingerprints sind Fotografien der Agarose-Gele, auf die das PCR-Produkt nach der Amplifikation aufgetragen wurde. Zur Größenbestimmung der in vertikaler Richtung aufgetrennten DNA-Fragmente finden sich auf dem Bild ebenfalls aufgetragene Größenmarker. In den abgebildeten AFLP-Fingerprints werden Amplifikate von Fragmenten analog zu den Banden der RAPD-Fingerprints als Peaks in den horizontalen Linien sichtbar. Amplifikate, die sich deutlich von DNA-Fragmenten unspezifischer Amplifikationen abheben, sind automatisch durch eine Markierung gekennzeichnet, die die Größe des Fragments in Basenpaaren (bp) angibt. Da nicht alle Fragmente einer selektiven PCR bei der AFLP-Analyse polymorph sind und somit für eine populationsgenetische Untersuchung ohne Aussagekraft bleiben oder bei einigen der untersuchten Tiere nicht deutlich zu differenzieren waren, wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit nur ein Ausschnitt der vollständigen Amplifikation dargestellt (in den folgenden Abb. kann sich aufgrund der Darstellung durch das Programm Genotyper die Ordinate bei den verschiedenen Tieren in einer Darstellung unterscheiden).

Zur Illustration eines RAPD-Fingerprints ist das aufgetragene PCR-Produkt mit dem RAPD-Primer „7“ (5´- CAC GGC TGC G - 3´) zweier norddeutscher Populationen in Abb. 3.7-3 abgebildet. Die hier untersuchten Individuen der Fundorte *Scheden* und *Hildesheim* zeichnen sich innerhalb der Population durch eine geringe genetische Variabilität aus. Die Tiere 1 bis 3, sowie die Tiere 6 bis 8 aus der Population *Scheden* (Spuren 2-8) weisen ein nahezu identisches Bandenmuster auf, wobei bei Tier 7 die Banden aufgrund einer geringeren Amplifikation nicht so deutlich sichtbar sind, wie bei den anderen Tieren. Die Tiere 4 und 5 wiederum zeigen ein untereinander gleiches Bandenmuster, was aber von dem der vorher genannten Tiere verschieden ist. Tiere der Population *Hildesheim* werden durch die Bandenmuster 13 bis 19 repräsentiert. Hier zeigt sich, dass die Tiere 1 (Spur 13) sowie 4-7 (Spuren 15-19) ein gleiches Amplifikationsmuster aufweisen (in der Elektrophorese-Auftrennung des PCR-Produkts von Tier 1 war beim Gießen des Agarose-Gels ein Luftblaseneinschluss in Laufrichtung der DNA-Fragmente geraten, der zu einem etwas verzerrtem Bild führt). Der Fingerprint der Tiere 2 und 3 (Spuren 14, 15) weicht wiederum etwas von dem der anderen Tiere dieser Population ab.

Vergleichbare Fingerprints lieferte auch die AFLP-Analyse für dieselben Tiere. Abb. 3.7-4 und 3.7-5 zeigen einen Ausschnitt des genetischen Fingerabdrucks von Individuen der Populationen *Scheden* und *Hildesheim*. Amplifiziert wurde in der selektiven PCR mit der Primerkombination „C“ (5´- GAC TGC GTA CCA ATT CG - 3´/5´- GAT GAG TCC TGA GTA ACG TC - 3’). Die Tiere 2, 4 und 6 der Population *Scheden* in Abb. 3.7-4 entsprechen einander. Polymorphismen sind bei den Tieren 3, 5, 7 und 8 zu sehen.

Tiere der Population *Hildesheim* (Abb. 3.7-5) zeigen ein ähnliches Verteilungsmuster der Peaks in ihrem genetischen Fingerabdruck. Hier sind die Individuen 2, 3 und 5 untereinander ähnlich, während die Individuen 1, 4, 6 und 7 eine Gruppe bilden, die von den erstgenannten Tieren unterscheidbar ist.

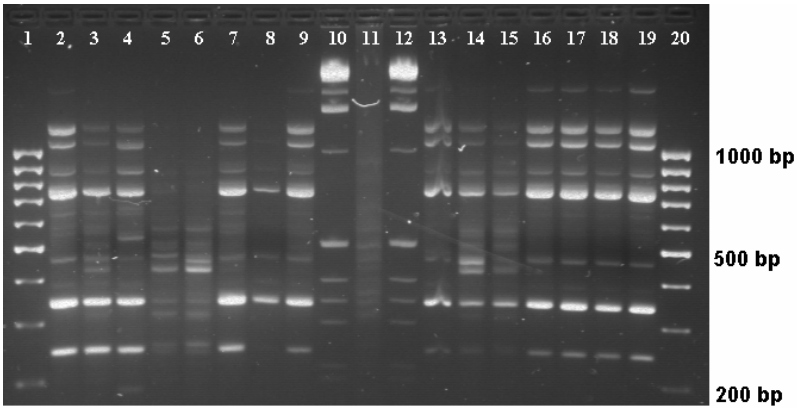


Abb. 3.7-3: RAPD-Ansatz (Primer 7) an Individuen der Populationen *Scheden* und *Hildesheim*:
Spuren 1, 20: 100 bp DNA-Größenmarker
Spuren 10, 12: 1 kb DNA-Größenmarker
Spuren 2-9: Individuen der Population *Scheden*
Spuren 13-19: Individuen der Population *Hildesheim*
Spur 11: Individuum der Art *B. obtusus*.

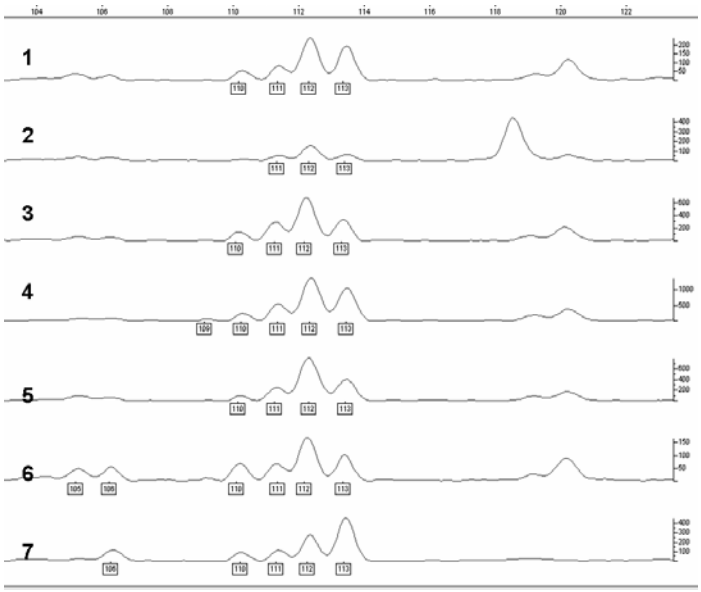


Abb. 3.7-4: AFLP Plots (Primerkombination C) der Individuen 2-8 der Population *Scheden*. Peaks für Fragmente in der Größe von 104 bis 114 bp sind automatisch markiert.

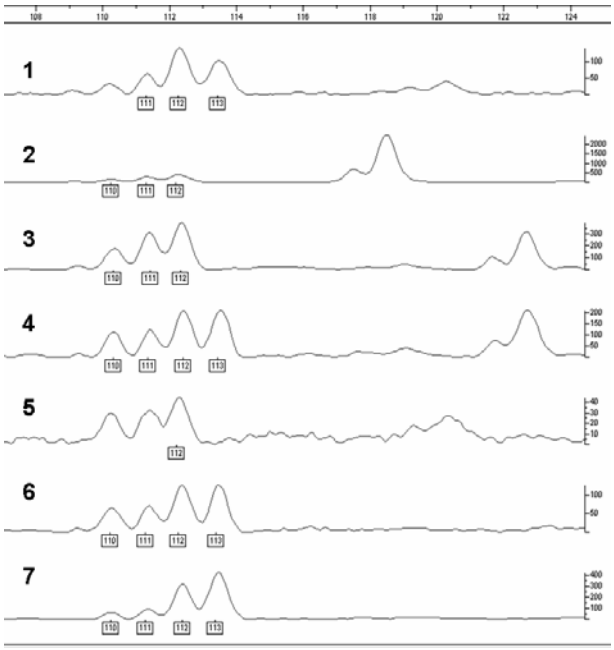


Abb. 3.7-5: AFLP Plots (Primerkombination C) der Individuen 1-7 der Population *Hildesheim*. Peaks für Fragmente in der Größe von 104 bis 114 bp sind automatisch markiert.

Verglichen mit Tieren der Populationen *Hildesheim* und *Scheden* weisen Tiere der südniedersächsischen Populationen *Göttinger Wald* und *Weißwassertal* (Abb. 3.7-6) im RAPD-Fingerprint eine deutlich höhere Diversität innerhalb der Population auf. Die Spuren 2 bis 8 zeigen den genetischen Fingerabdruck der Population *Göttinger Wald*, der ebenfalls mit RAPD-Primer „7“ amplifiziert wurde. Während die Tiere 4 und 6 (Spuren 5 und 7) ein sich gleichendes Bandenmuster ihres genetischen Fingerabdrucks aufweisen, unterscheiden sich die anderen Tiere durch polymorphe Fragmente sowohl untereinander als auch von den oben genannten. Tiere der Population *Weißwassertal* (Spuren 10-17), deren DNA-Proben mit dem gleichen Primer amplifiziert wurden, weisen eine analoge Struktur auf. Während Tier 2 und Tier 8 (Spuren 11, 17) ähnliche Bandenmuster zeigen, weisen die anderen Tiere ein heterogenes Erscheinungsbild bei der Anordnung der aufgetrennten Fragmente auf.

Auch in der AFLP-Analyse werden diese Ergebnisse widergespiegelt. Obwohl in der Abb. 3.7-7 bei den Tieren 3 und 4 der Population *Göttinger Wald* eine unzureichende Amplifikation stattfand und hier keine aussagekräftigen Fragmente sichtbar sind, lassen doch die anderen Tiere eine größere Heterogenität in der Population erkennen: Tier 1 und 2 weisen ein identisches Bandenmuster auf,

von dem sich die anderen erfolgreich amplifizierten DNA-Proben unterscheiden. Noch deutlicher treten Polymorphismen in der Population *Weißwassertal* (Abb. 3.7-8) zutage. Hier erscheint der genetische Fingerabdruck jedes Individuums verschieden zu dem eines anderen Tieres der gleichen Population zu sein. Die PCR mit den DNA-Proben der beiden Populationen wurden mit der Primerkombination „A“ (5´- GAC TGC GTA CCA ATT CG - 3´/5´- GAT GAG TCC TGA GTA ACT GG - 3´) durchgeführt. Mit der gleichen Primerkombination ist in Abb. 3.7-9 das PCR-Produkt von Tieren der Population *Bremke* zu sehen. Diese Tiere weisen im Vergleich zu Tieren der beiden erstgenannten Populationen weniger Polymorphismen auf. Die Vegetation im Habitat der Population *Bremke* ist ähnlich strukturiert wie bei den Populationen Scheden oder Hildesheim. Das Habitat der Populationen *Göttinger Wald* und *Weißwassertal* weist eine andere Vegetationsstruktur auf als bspw. das Habitat der Population *Scheden* (Kapitel 2.1.1).

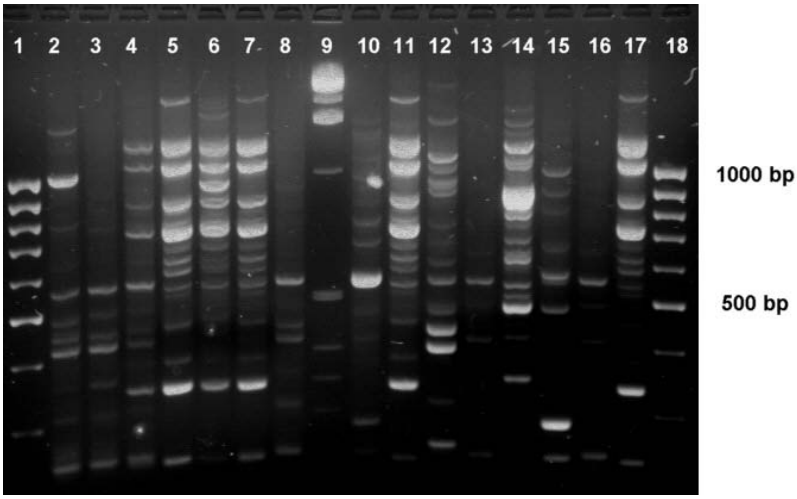


Abb. 3.7-6: RAPD-Ansatz (Primer 7) an Individuen der Populationen *Göttinger Wald* und *Weißwassertal*:
Spuren 1, 18: 100 bp DNA-Größenmarker
Spur 9: 1 kb DNA-Größenmarker
Spuren 2-8: Individuen der Population *Göttinger Wald*
Spuren 10-17: Individuen der Population *Weißwassertal*.

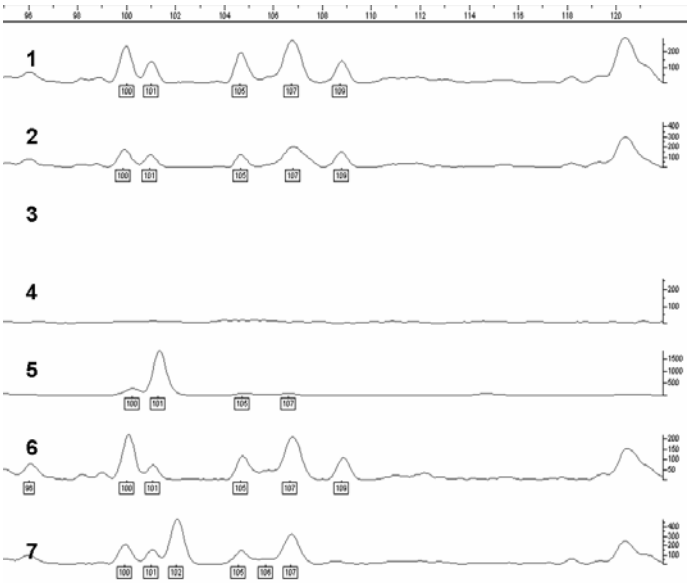


Abb. 3.7-7: AFLP-Plots (Primerkombination A) der Individuen 1-7 aus der Population *Göttinger Wald*. Bei Tier 3 und 4 ist keine bzw. eine mangelhafte Amplifikation sichtbar. Peaks für Fragmente in der Größe von 96 bis 110 bp sind automatisch markiert.

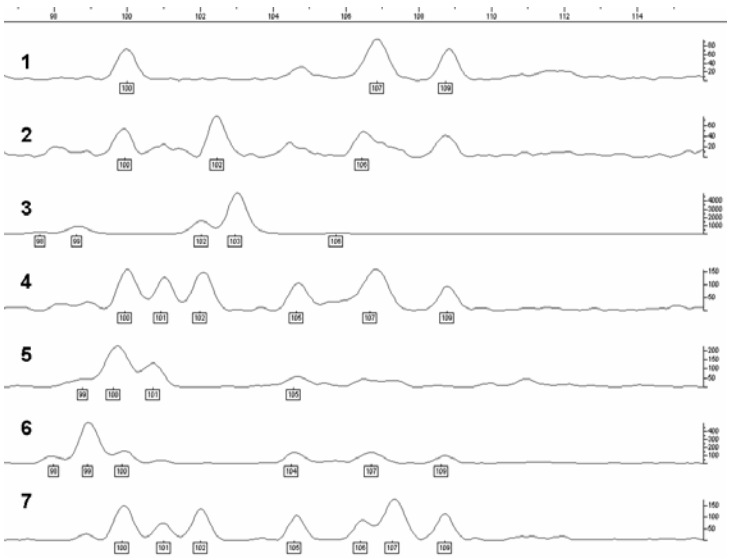


Abb. 3.7-8: AFLP-Plots (Primerkombination A) der Individuen 1-7 der Population *Weißwassertal*. Peaks für Fragmente in der Größe von 96 bis 110 bp sind automatisch markiert.

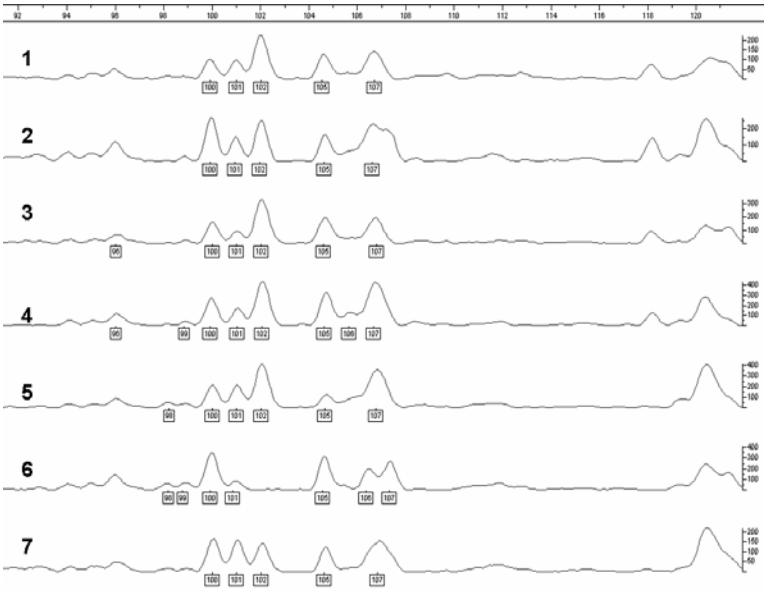


Abb. 3.7-9: AFLP-Plots (Primerkombination A) der Individuen 5-9 der Population *Bremke*. Peaks für Fragmente in der Größe von 96 bis 110 bp sind automatisch markiert.

Die RAPD-Bandenmuster der süddeutschen Populationen lassen vielfach eine größere Variabilität zwischen den Individuen erkennen als es bei den norddeutschen Populationen der Fall ist. Abb. 3.7-10 zeigt den Vergleich einer norddeutschen Population (*Hildesheim*) mit einer Population aus dem Alpenvorland (*Oberkatzbach*), die beide mit dem RAPD-Primer „7“ amplifiziert wurden. Die Individuen der Population *Oberkatzbach* (Spuren 10 -17) sind im genetischen Fingerabdruck sehr verschieden. Besonders deutlich wird das durch den Vergleich mit der Auftragung von Tieren der Population *Hildesheim*, deren aufgetrenntes Bandenmuster durch die Spuren 2-8 dargestellt wird. Die Vegetationsstruktur in der Population *Oberkatzbach* (Abb. 3.7-11) ist ähnlich der Vegetationsstruktur der Population *Weißwassertal* (Abb. 3.7-12). Die AFLP-Analyse weist ebenso wie die RAPD-Analyse für die Population *Oberkatzbach* aus dem nördlichen Voralpengebiet eine im Vergleich zu den norddeutschen Populationen höhere Heterogenität auf (Kapitel 2.1.1).

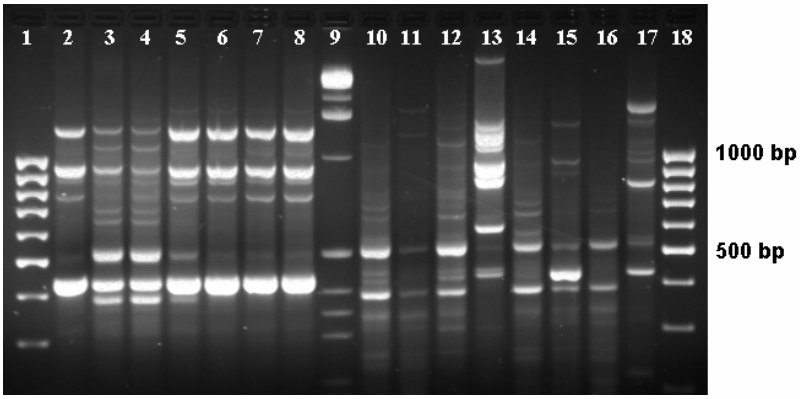


Abb. 3.7-10: RAPD-Ansatz (Primerkombination cr1+cr2) an Individuen der Populationen *Hildesheim* und *Oberkatzbach*:
Spuren 1, 18: 100 bp DNA-Größenmarker
Spur 9: 1 kb DNA-Größenmarker
Spuren 2-8: Individuen der Population *Hildesheim*
Spuren 10-17: Individuen der Population *Oberkatzbach*.

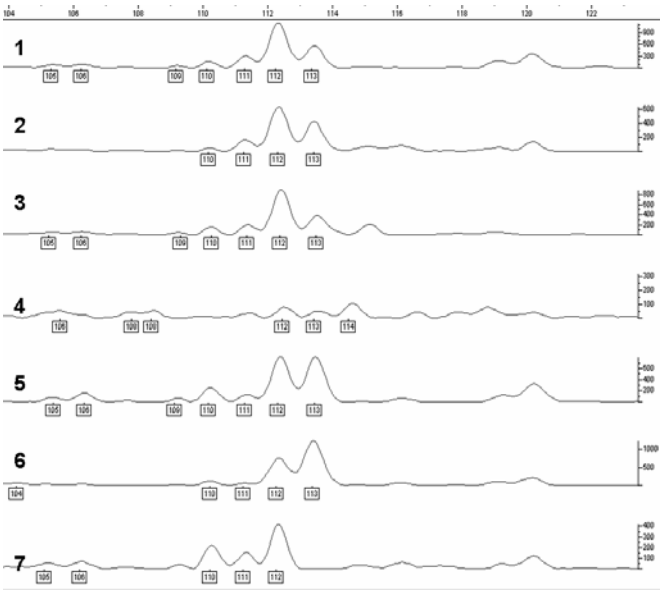


Abb. 3.7-11: AFLP-Plots (Primerkombination C) der Individuen 1-7 aus der Population *Oberkatzbach* am Alpenrand. Peaks für Fragmente in der Größe von 104 bis 114 bp sind automatisch markiert.

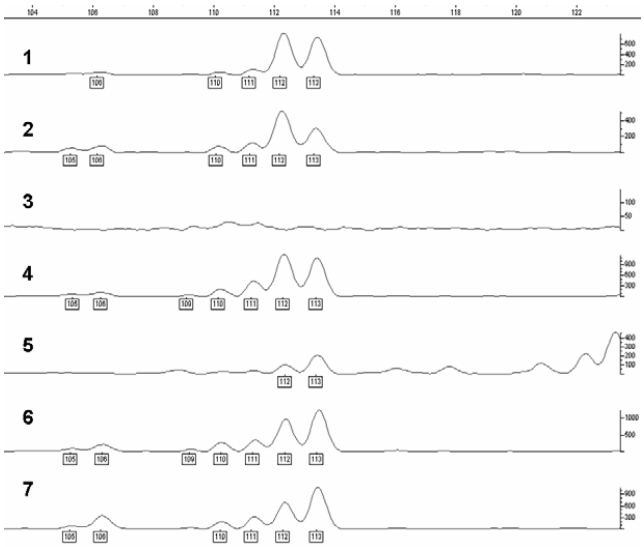


Abb. 3.7-12: AFLP-Plots (Primerkombination C) von Individuen 1-7 der Population *Weißwassertal*. Peaks für Fragmente in der Größe von 104 bis 114 bp sind automatisch markiert.

Auffallend bei den RAPD-Fingerprints ist, dass Individuen der Populationen aus dem südniedersächsischen Raum häufig anhand der Bandenmuster in zwei Gruppen unterteilt werden können. Auch die AFLP-Plots bestätigen diese Beobachtung. In Abb. 3.7-13 ist der genetische Fingerabdruck von Tieren der Population *Göttinger Wald* dargestellt. Die Fragmente wurden hier mit der Primerkombination „Z“ (5´- GAC TGC GTA CCA ATT CAG - 3´/5´- GAT GAG TCC TGA GTA ACA - 3´) amplifiziert. Die Tiere 1-3 und das Tier 7 zeigen ein identisches Bandenmuster. Das Tier 5 weist ein davon deutlich verschiedenes Amplifikat auf, während Individuum 3 und 5 die Banden aller anderen untersuchten Tiere teilen. Ein vergleichbares Verteilungsmuster trifft auch auf andere untersuchte Populationen aus dem norddeutschen Raum zu. In Abb. 3.7-14 ist der genetische Fingerabdruck von vier Individuen der Population *Bad Laer* abgebildet. Es wurde der gleiche Primer eingesetzt wie bei den zuvor besprochenen Tieren der Population *Göttinger Wald*. Hier entsprachen sich das Tier 1 und 4, sowie das Tier 2 und 3 hinsichtlich des amplifizierten Bandenmusters. Die gleiche Primerkombination spiegelt noch einmal für die Population *Hildesheim* (Abb. 3.7-15) die geringe genetische Variabilität in dieser Population im Vergleich wider.

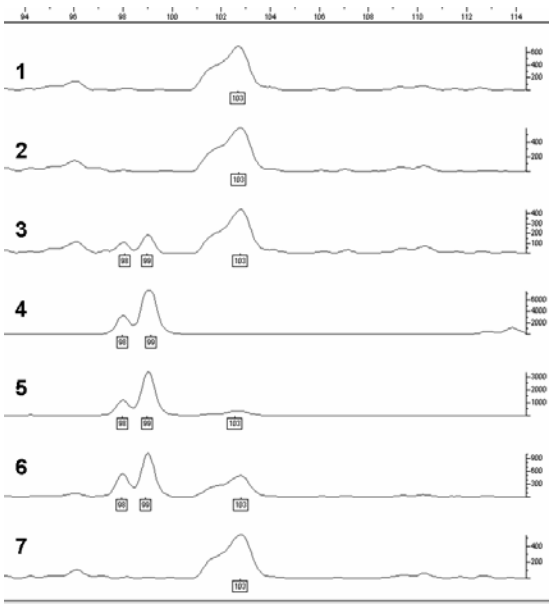


Abb. 3.7-13: AFLP-Plots (Primerkombination Z) der Individuen 1-7 der Population *Göttinger Wald*. Peaks für Fragmente in der Größe 97 von bis 106 bp sind automatisch markiert.

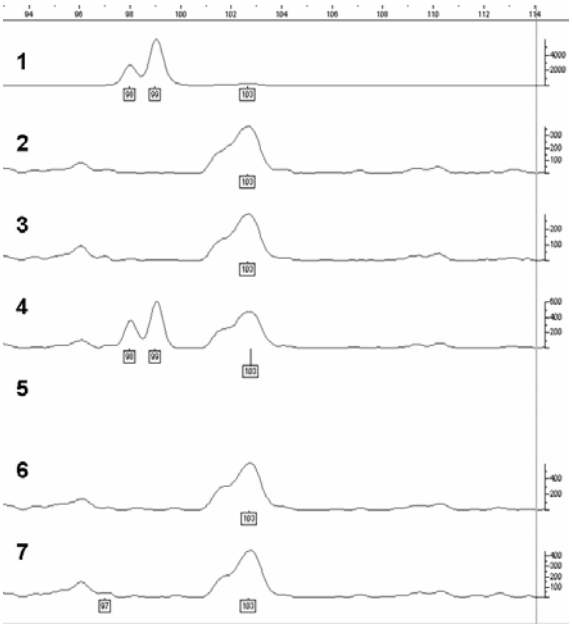


Abb. 3.7-14: AFLP-Plots (Primerkombination Z) der Individuen 1-4 der Population *Bad Laer*. Peaks für Fragmente in der Größe von 97 bis 106 bp sind automatisch markiert.

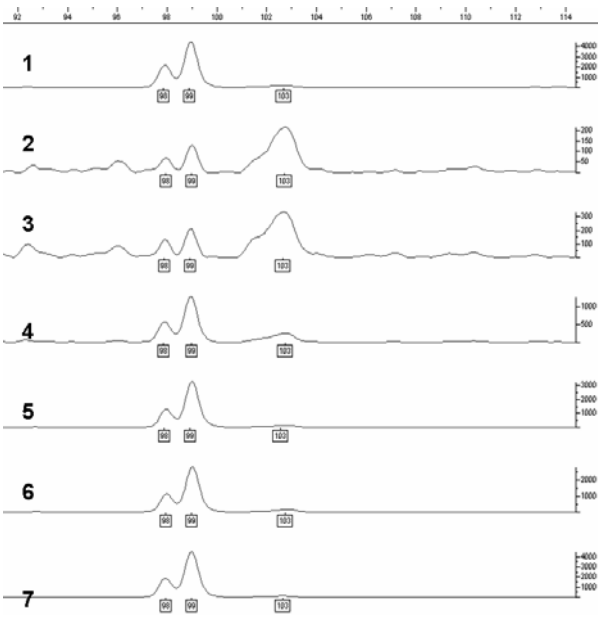


Abb. 3.7-15: AFLP-Plots (Primerkombination Z) der Individuen 1-7 der Population *Hildesheim*. Peaks für Fragmente in der Größe 97 von bis 106 bp sind automatisch markiert.

3.7.6 Intrapopulationsanalyse

Die Analyse der Struktur innerhalb von Populationen wurde mit den Programmen „Hickory 1.04." und „Popgene 1.31" durchgeführt. In die Analyse wurden lediglich genetische Daten von Tieren aus den Populationen herangezogen, von denen mehr als fünf Individuen in die Auswertung einbezogen werden konnten. Werte, die aus Wiederholungen der bayesianischen Analyse resultieren, konnten in der dritten oder vierten Dezimalstelle voneinander abweichen. In diesem Falle wurden sie gemittelt.

Ermittelt wurde der durchschnittliche f-Wert (entspricht dem Inzuchtkoeffizienten F_{IS}), der durchschnittliche θ^B-Wert (θ^B entspricht der mittleren Diversität aller Populationen) und der Wert *hs* je untersuchter Population im „full model run"-Test für die Daten aus der RAPD- und aus der AFLP-Analyse. Bayesianische Diversitätsindizes werden nur aus dem „full model" aufgeführt. Die Werte der Modelle „$f = 0$" und „f free" weichen von diesem nur unwesentlich (in einer Dezimalstelle) ab.

Vergleichsberechnungen mit den Bedingungen $f = 0$ und $\theta = 0$ wurden durchgeführt, um anhand des ermittelten Wertes für DIC die Wahrscheinlichkeit für die im ersten Modell errechneten Inzucht- und Diversitätswerte zu bestimmen. Daneben wurde der DIC-Wert mit dem „f free model", in dem der f-Wert unberücksichtigt bleibt und effektiv um den Wert 0,5 schwankt, verglichen. Da sich dominante Markersysteme nur eingeschränkt zur Ermittelung eines In-

zuchtindex analog zum Inzuchtkoeffizienten F_{IS} eignen (Holsinger & Lewis 2004 manual), sind die hier gewonnenen Daten jedoch mit Vorbehalt zu bewerten. Für die Analysen blieben die MCMC *(Marcov Chain Monte Carlo)*-Parameter, wie durch den Autor empfohlen, unverändert.

Die für die genetische Diversität innerhalb der Populationen ermittelten Werte (*hs*) wurden mit den entsprechenden Indizes „Nei's diversity index within populations" und „Shannon's information index" (Programm: Popgene 1.31) verglichen.

Die AFLP- und die RAPD-Analyse basierten bei einigen Populationen auf einer unterschiedlichen Anzahl von Individuen. Um einen Hinweis auf die Validität des auf dominanten Markersystemen basierenden Inzuchtkoeffizienten zu erhalten, wurden daher der durchschnittliche θ^B-Wert und f-Wert für die gleichen Tiere aus sieben Populationen vergleichend für die AFLP-Daten und die RAPD-Daten ermittelt.

In der AFLP-Analyse wurden Daten der Populationen *Knutbühren Bank* (20 Tiere), *Knutbühren Kreuzung* (zwölf Tiere), *Ludolfshausen* (sechs Tiere), *Bad Lauterberg* (elf Tiere), *Bremke* (zehn Tiere), *Hasbruch* (14 Tiere), *Hildesheim* (sieben Tiere), *Kaufunger Wald* (acht Tiere), *Scheden* (acht Tiere), *Weißwassertal* (acht Tiere) und *Oberkatzbach* (neun Tiere) einbezogen. Der für die AFLP-Daten erhobene Inzuchtkoeffizient beträgt für diese Populationen im Mittel 0,9439 mit einer Standardabweichung von 0,0515. Der tatsächliche Inzuchtkoeffizient liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit zwischen dem 2,5 % Grenzrang (f = 0.8018) und dem 97,5 % Grenzrang (f = 0.9984). Die Wahrscheinlichkeit der Höhe und die daraus resultierenden Dichten des f-Wertes („Posterior distributions") für die Daten der AFLP-Analyse sind in den Abb. 3.7-16 und 3.7-17 graphisch dargestellt.

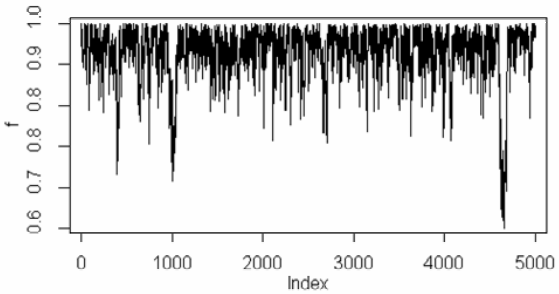


Abb. 3.7-16: Verteilung der „Posterior distributions" für den f-Wert in der Analyse der AFLP-Daten.

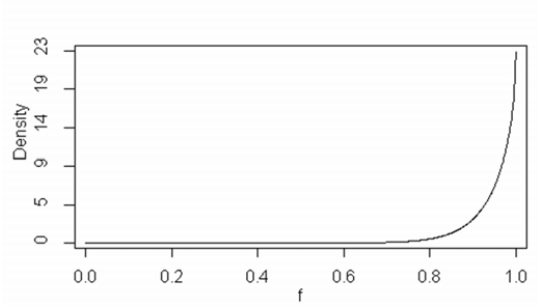


Abb. 3.7-17: Häufigkeitsverteilung des *f*-Werts auf Grundlage der AFLP-Daten für die Ermittelung der Intrapopulationsanalyse.

Der Wert für die mittlere Diversität (θ^B) beträgt 0,1814 mit einer Standardabweichung von 0,0104. *B. serricauda*-Populationen weisen somit einen hohen Grad an Inzucht innerhalb von Populationen auf (Tab. 3.7-4).

Tab. 3.7-4: Anhand der AFLP-Daten ermittelte Werte des „full model run".
Es wurden nur Werte für Populationen errechnet, von denen mindestens sechs Individuen analysiert werden konnten. Der *hs*-Wert ist ein Äquivalent für genetische Diversität innerhalb von Populationen

Population	Ø	Std.-Abweichung	2.5%-Grenzwert	97.5%-Grenzwert
f	0.9439	0.0515	0.8018	0.9984
θ^B	0.1814	0.0104	0.1619	0.2036
hs Knutbühren Kreuzung	0.3294	0.0087	0.3118	0.3457
hs Knutbühren Bank	0.3377	0.0069	0.3239	0.3510
hs Ludolfshausen	0.3025	0.0115	0.2790	0.3247
hs Bad Lauterberg	0.2917	0.0092	0.2742	0.3096
hs Bremke	0.3353	0.0086	0.3184	0.3518
hs Hasbruch	0.3076	0.0088	0.2902	0.3245
hs Hildesheim	0.2822	0.0115	0.2604	0.3054
hs Kaufunger Wald	0.3186	0.0100	0.2990	0.3375
hs Scheden	0.2890	0.0116	0.2663	0.3121
hs Weißwassertal	0.3400	0.0096	0.3208	0.3581
hs Oberkatzbach	0.3231	0.0093	0.3050	0.3413

Aus den Daten der RAPD-Analyse wurden die Populationen *Knutbühren* (Tiere wurden bei einer früheren Begehung im Jahr 2003 gesammelt; sechs Individuen), *Ludolfshausen* (sechs Individuen), *Hasbruch* (sechs Individuen), *Hildesheim* (sieben Individuen), *Kaufunger Wald* (acht Individuen), *Scheden* (acht Individuen), *Weißwas-*

sertal (acht Individuen) und *Oberkatzbach* (acht Individuen) zur Berechnung von θ^B und f ausgewählt (Tab. 3.7-5). Der Inzuchtkoeffizient beträgt hier für die untersuchten Populationen im Mittel 0,9253 mit einer Standardabweichung von 0,0665 und weicht damit nicht wesentlich von den mit den AFLP-Daten ermittelten Werten ab. Auch die Werte des 2,5 %-Grenzwertes (0.7466) und 97,5 %-Grenzwertes (0.9982) liegen auf vergleichbarem Niveau. Der anhand der RAPD-Daten ermittelte Wert (0.2372) für die mittlere Diversität ist mit den AFLP-Daten vergleichbar. Die Standardabweichung liegt hier bei 0,0169.

Tab. 3.7-5: Werte des „full model run" für die RAPD-Daten.
Es wurden nur Werte für Populationen errechnet, von denen mindestens sechs Individuen analysiert werden konnten. Der *hs*-Wert ist ein Äquivalent für genetische Diversität innerhalb von Populationen

Population	**Ø**	**Standard-Abweichung**	**2.5% Grenzwert**	**97.5% Grenzwert**
f	0.9253	0.0665	0.7466	0.9982
θ^B	0.2372	0.0169	0.2047	0.2713
hs Hasbruch	0.3364	0.0113	0.3146	0.3585
hs Hildesheim	0.2401	0.0143	0.2122	0.2681
hs Kaufunger Wald	0.3504	0.0111	0.3283	0.3713
hs Knutbühren	0.3224	0.0124	0.2980	0.3462
hs Oberkatz-bach	0.3125	0.0116	0.2895	0.3351
hs Scheden	0.2651	0.0124	0.2408	0.2891
hs Weißwas-sertal	0.3744	0.0097	0.3554	0.3933

Aus den Daten beider verwendeten genetischen Methoden geht hervor, dass *B. serricauda*-Populationen einen hohen Grad an Inzucht innerhalb von Populationen aufweisen. Damit geht eine geringe Diversität innerhalb der Populationen (niedriger θ^B-Wert) einher.

Ein im Vergleich zu den alternativ berechneten Modellen niedriger Wert für das „Deviance Information Criterion" (DIC) gibt Auskunft über die größere Wahrscheinlichkeit, dass die hier ermittelten Werte besser zu den auf der Analyse basierenden Daten passen. Sowohl für die RAPD- als auch für die AFLP-Analyse liegen im Vergleich der verschiedenen Modelle (Tab. 3.7-6) bei dem „full model run" die DIC-Werte am niedrigsten. Die Differenz von 26 Einheiten bei den AFLP-Daten (resp. 21 Einheiten bei den RAPD-Daten) lässt die Aussage zu, dass der „full model run", welcher die kalkulierten f-Werte einbezieht, deutlich gegenüber dem $f = 0$ Modell präferiert wird. Auch im Vergleich mit dem $\theta = 0$ Modell wird für die AFLP-Daten mit 1350 (für die RAPD-Daten mit 823) Einheiten Unterschied deutlich der „full model run" bevorzugt. Das f free Modell

weist in beiden Untersuchungen ebenfalls einen höheren DIC-Wert auf als das full model. Hier wies der pD-Wert gleiche Modellgrößen auf. Zudem zeigten in etwa gleiche Dbar-Werte eine vergleichbare Passung der Werte zu den jeweiligen Modellen.

Hierdurch wird deutlich, dass in den untersuchten Populationen die Allelfrequenzen innerhalb von Populationen gering, die genetische Diversität somit niedrig ist. Die Annahme, dass *B. serricauda*-Populationen Inzucht aufweisen, wird durch die Daten bestätigt.

Tab. 3.7-6: DIC-Werte für die verschiedenen Modelle

Modell	DIC für RAPD-Daten	DIC für AFLP-Daten
Full model run	1911,9539	3856,3590
$f = 0$ model	1932,5131	3882,0472
$\theta = 0$ model	2734,8382	5205,4549
f free model	1948,6825	3923,9087

Zur Betrachtung der Allelfrequenzen innerhalb von Populationen, die über die genetische Diversität Auskunft geben können, werden (vergleichend zur Überprüfung der Konsistenz ermittelter Daten) zu den *hs*-Werten (als Äquivalent für genetische Diversität innerhalb von Populationen) der bayesianischen Statistik, Nei's gene diversity index und der Shannon Index herangezogen. Die Daten der AFLP-Analyse widersprechen in der Intrapopulationsanalyse nicht den Daten, die aus der RAPD-Analyse gewonnen werden konnten (Tab. 3.7-4, 3.7-5, 3.7-7, 3.7-8). Daher werden die Ergebnisse hier nicht nach Methodik getrennt dargestellt. In den unterschiedlichen genetischen Verfahren sind allerdings nicht stets dieselben Tiere herangezogen worden. Daraus lassen sich geringfügige Abweichungen in den Populationen *Bremke*, *Bad Lauterberg* und *Hasbruch* erklären.

Die ermittelte genetische Diversität in Populationen, aus denen eine verhältnismäßig große Anzahl von Individuen untersucht werden konnte, wie z. B. *Knutbühren Bank* (20 Tiere) oder *Bad Lauterberg* (elf Tiere), unterscheidet sich nicht von der Diversität in Populationen, von denen weniger als zehn Tiere in die Untersuchung einbezogen wurden.

Die für die Populationen *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung* ermittelten Daten (hier konnte nur auf eine AFLP-Analyse zurückgegriffen werden) zur genetischen Diversität liegen im Vergleich zur genetischen Diversität der mit sechs Tieren deutlich kleineren Stichprobe, die zwei Jahre zuvor gesammelt wurde, etwas höher (*hs*: 0,27; die Kalkulation wurde separat durchgeführt; Werte sind nicht tabellarisch dargestellt).

Die genetische Diversität in den Populationen *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung* liegt etwa auf dem gleichen Niveau. Das Habitat der Tiere ist ein reich strukturierter Waldsaum mit starkem krautigem Unterwuchs. Eine vergleichsweise hohe genetische Diversität weisen die Tiere der Population *Weißwas-*

sertal in der quantitativen Analyse auf. Die Vegetationsstruktur des Habitats der untersuchten Tiere ist vergleichbar mit dem Habitat der Populationen aus dem Waldrand bei *Knutbühren*. Auch hier wird bestätigt, was sich in den Fragmentauftrennungen der einzelnen PCRs angedeutet hatte. Die Populationen *Bremke*, *Kaufunger Wald* und *Hasbruch* wurden an inneren Waldsäumen gesammelt, die einen reich strukturierten Unterwuchs aufwiesen. Für diese Populationen konnten ebenfalls höhere Diversitätswerte festgestellt werden als für Populationen aus wenig strukturierten Habitaten (zum Habitat vgl. auch Abschnitt 3.1.2).

Die aus dem Alpenvorland stammende Population *Oberkatzbach* weist eine ähnlich hohe Diversität innerhalb der Population auf, wie jene norddeutschen Populationen, in deren Habitat – ähnlich wie es bei der Population *Oberkatzbach* der Fall ist – ein stärkerer Unterwuchs in der Krautschicht zu finden ist.

Die für die Populationen *Hildesheim* und *Scheden* ermittelte Diversität innerhalb der Populationen, wie schon durch die Fingerprints angedeutet, ist deutlich geringer als in anderen untersuchten Populationen, wie beispielsweise den Populationen aus *Knutbühren*, welche in einem Habitat mit einer anderen Vegetationsstruktur zu finden sind. Im Habitat der Populationen *Hildesheim* oder *Scheden* findet sich eine Strauch- und Baumvegetation ohne krautigen Unterwuchs (Abschnitt 3.1.2). Tiere der Population *Bad Lauterberg* und *Ludolfshausen* wurden Habitaten entnommen, deren Unterwuchs lediglich aus Brombeere und einigen Jungbäumen bestand. Auch hier finden sich verhältnismäßig niedrige Indizes für die genetische Diversität innerhalb der Populationen.

Tab.3.7-7: Werte für Nei's Genetische Diversität und Shannon-Index für AFLP-Daten

Population	**Nei's Genetische Diversität Ø**	**Std.-Abweichung ±**	**Shannon Index Ø**	**Std.-Abweichung ±**
Knutbühren Kreuzung	0.3194	0.1801	0.4718	0.2406
Knutbühren Bank	0.3211	0.1718	0.4765	0.2291
Ludolfshausen	0.1926	0.1958	0.2904	0.2813
Bad Lauterberg	0.2207	0.1882	0.3384	0.2625
Bremke	0.2920	0.1760	0.4382	0.2399
Hasbruch	0.2827	0.1855	0.4231	0.2534
Hildesheim	0.1609	0.1935	0.2438	0.2770
Kaufunger Wald	0.2750	0.1911	0.4090	0.2663
Scheden	0.1619	0.1927	0.2449	0.2779
Weißwassertal	0.2764	0.1757	0.4169	0.2451
Oberkatzbach	0.2712	0.1950	0.4026	0.2719

Tab. 3.7-8: Werte für Nei's Genetische Diversität und Shannon-Index für RAPD-Daten

Population	Nei's Genetische Diversität Ø	Std.-Abweichung ±	Shannon Index Ø	Std.-Abweichung ±
Hasbruch	0.2703	0.1669	0.4121	0.2338
Hildesheim	0.1266	0.1902	0.1879	0.2743
Kaufunger Wald	0.3132	0.1666	0.4685	0.2224
Knutbühren	0.2735	0.1919	0.4059	0.2699
Oberkatzbach	0.2236	0.1888	0.3399	0.2684
Scheden	0.2070	0.2157	0.3029	0.3048
Weißwassertal	0.3162	0.1485	0.4769	0.1990

Um Rückschlüsse auf eine mögliche Inzuchtdepression ziehen zu können, sowie um das Ausmaß der Inzucht in frei lebenden Populationen einzuschätzen, wurden für eine F3-Generation aus der Laborzucht die Diversitätsindizes basierend auf den Daten der AFLP-Analyse errechnet (Tab. 3.7-9). Durch reine Inzucht mit nur zwei Elterntieren je Generation sinkt bis zur untersuchten F3-Generation der Index für genetische Diversität nicht wesentlich und bewegt sich etwa auf dem Niveau der Wildfänge. Die Kontrollgruppe weist gegenüber der Inzuchtgruppe einen geringfügig niedrigeren Wert auf.

Tab. 3.7-9: Indizes genetischer Diversität der untersuchten F3-Inzuchtpopulation, der F3-Kontrolle sowie der die Zucht bildenden Tiere als Herkunftsgeneration

Population	*hs*-B (full model run)	Std.-Fehler ±	Nei's Genetische Diversität	Std.-Fehler ±	Shannon-Index	Std.-Fehler ±
Inzuchtgruppe F3	0,2955	0,0099	0.2619	0.2042	0.3863	0.2852
Kontrollgruppe F3	0,2785	0,0122	0.1860	0.2047	0.2757	0.2936
Herkunftsgeneration P (Ludolfshausen)	0,3025	0,0115	0.1926	0.1958	0.2904	0.2813

Um einen Hinweis vor allem auf die Validität der berechneten f-Werte zu bekommen, wurden für eine Probeberechnung sieben Populationen ausgewählt und sowohl in der Analyse der RAPD- als auch der AFLP-Daten dieselben Tiere herangezogen. Die mittleren θ-und f-Werte wichen dabei nur minimal voneinander ab, obwohl die zu Grunde liegende Erhebung auf verschiedenen genetischen Methoden beruht (Tab. 3.7-10).

Tab. 3.7-10: Vergleich mittlerer θ-und *f*-Werte beider Fingerprint-Methoden bei derselben Stichprobe

Genetische Analysemetho-de	Mittlerer *f*-Wert	Std.-Abweichung ±	Mittlerer θ^B-Wert	Std.-Abweichung ±
RAPD	0,9253	0,0665	0,2372	0,0169
AFLP	0,9383	0,0579	0,2103	0,0168

Zusammenfassend lassen sowohl die Betrachtung der Diversitätsindizes als auch der direkte Vergleich von anhand derselben Tiere erhobenen Daten die Aussage zu, dass die allgemeinen Aussagen zur genetischen Struktur von isolierten *B. serricauda* Populationen aus den Ergebnissen der AFLP- und RAPD-Analyse gleichermaßen abzuleiten sind.

Die Populationen weisen vielfach eine geringe Diversität auf, die allerdings abhängig von der Vegetationsstruktur ist. In den Habitaten, wo eine sehr flächige Krautschicht aufzufinden war, ist die genetische Variabilität innerhalb der Populationen in der Regel größer. Populationen mit vielen Individuen zeigen nur eine unwesentlich höhere Diversität als Populationen mit wenigen Individuen. In Experimenten sinkt bis zur F3-Generation der Diversitätsindex einer Inzuchtpopulation nicht wesentlich gegenüber dem einer Kontrollgruppe und er weicht auch nicht wesentlich gegenüber den Indizes der dem Freiland entnommenen Populationen ab. Diesen Daten entsprechend kann der hohe Inzuchtkoeffizient *f* als verlässlich angesehen werden.

3.7.7 Distanzanalyse zwischen Populationen: Statistische Analyse

Durch die Erhebungen der Populationsgrößen (in der Regel weniger als 15 Individuen) ist davon auszugehen, dass in die genetischen Untersuchungen ein größerer Teil der jeweiligen Gesamtpopulationen eingegangen ist. Es wäre daher zwar nicht nötig, die Distanzwerte nach der modifizierten Berechnung nach Nei (1978) zu erheben, sondern ausreichend, auf den unkorrigierten Algorithmus von Nei (1972) zurückzugreifen. Da sich ersteres aber etabliert hat, wurde die modifizierte Berechnung dennoch durchgeführt.

Basis für die weitergehende Analyse stellt sowohl für die AFLP-Daten als auch vergleichend für die RAPD-Daten die korrigierte Berechnung der Distanzwerte nach Nei, sowie der Distanzwerte F_{ST} dar (Lynch & Milligan 1994), wie sie vom Programm AFLP-SURV 1.0 errechnet wurden.

Nach Nei (1978) ist die Validität der Distanzwerte von zwei Faktoren abhängig: Die Anzahl der untersuchten Individuen aus einer Population muss korreliert sein mit der Anzahl der untersuchten Marker. Bei ausreichender Anzahl untersuchter Marker ist es auch möglich, Distanzen zwischen Populationen nur anhand eines Individuums verlässlich ermitteln zu können, da in diesem Fall die

Distanzwerte sich annähern würden. Die Erhebung der genetischen Distanz ist nach Nei (1978) auch geeignet, verwandtschaftliche Beziehungen auf Gattungsniveau einzuschätzen.

Die graphische Darstellung der rechnerisch ermittelten genetischen Distanzen ist die Darstellung einer Cluster-Analyse der berechneten Distanzmatrizen. Es wurde die „Neighbour Joining"-Methode (im Folgenden: NJ) für alle Topologien ausgewählt, da diese nicht, wie die alternative Methode „UPGMA" eine gleiche Evolutionsgeschwindigkeit für alle Taxa unterstellt. Um die direkte Vergleichbarkeit der dargestellten Topologien zu gewährleisten, wird auf eine Abbildung von Distanzgrafiken, deren Berechnung auf verschiedenen Methoden beruht, verzichtet. Die mögliche alternative Methode „Minimum Evolution" ergab die gleichen Topologien wie NJ. In den Baumdiagrammen wurde auf Kennzeichnung von Bootstrap-Werten von unter 40 % zugunsten einer besseren Übersichtlichkeit verzichtet.

Die Distanzen wurden zunächst nach Nei errechnet (Tab. 3.7*A*-2, Anhang *A* für die Daten der AFLP-Analyse; Tab. 3.7*A*-3, Anhang *A* für die Daten der RAPD-Analyse). Für Distanzanalysen mit dominanten Markersystemen wird, wenn keine diesbezüglichen Informationen aus anderen Untersuchungen vorliegen, angenommen, dass sich die untersuchten Populationen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) befinden. Die Daten der Distanzanalyse bilden auch die Grundlage der topologischen Darstellung der genetischen Ähnlichkeiten zwischen Populationen. Alternativ wurden dieselben Daten mit der „Wright's fixation index"-(F_{ST})-Methode berechnet. Die F_{ST}-Statistik war ursprünglich zur Analyse von codominanten Markersystemen mit zwei Allelen per Locus konzipiert. Eine ungleiche Anzahl beprobter Individuen pro Population kann sich verfälschend auswirken (Long 1986). Dennoch wurde eine entsprechende Distanzmatrix zu Vergleichszwecken erstellt, da Werte, beruhend auf dieser Statistik, häufig zur graphischen Erstellung von Clusteranalysen, auch basierend auf Daten dominanter Markersysteme, eingesetzt werden (Tab. 3.7*A*-4, Anhang *A* für die AFLP-Daten und Tab. 3.7*A*-5, Anhang *A* für die RAPD-Daten). Die aus einer solchen Distanzmatrix resultierenden Topologien weichen allerdings nicht wesentlich von denjenigen aus der Analyse nach Nei ab. Der für ausgewählte Populationen ermittelte *f*-Wert (0,93) wurde vergleichend zur Ermittelung paarweiser F_{ST}-Werte unter Bedingungen des Hardy-Weinberg-Ungleichgewichts (HWD) herangezogen (Tab. 3.7*A*-6, Anhang *A*) und mit Ergebnissen verglichen, die auf der Annahme $F_{IS} = 0$ (HWE) beruhen.

Um einen relativen Bezug herzustellen, wurden auch Tiere anderer Arten der Gattung einbezogen. Die Distanzwerte nach Nei unterscheiden sich in der Höhe bei der AFLP-Analyse nicht wesentlich von denen der RAPD-Analyse. Sie liegen auf vergleichbar hohem Niveau.

In der AFLP-Analyse setzen sich allerdings die zu Vergleichszwecken ebenfalls analysierten Tiere anderer *Barbitistes*-Arten deutlich von den *B. serricauda*-Populationen ab. In der RAPD-Analyse weisen hingegen Tiere der Art *B. constric-*

tus und *B. obtusus* vielfach keine höheren Distanzwerte zu *B. serricauda*-Populationen auf als diese untereinander.

Die ermittelten Distanzwerte zwischen zwei konkreten Populationen weichen bei den RAPD-Daten von den Werten, die in der AFLP-Analyse ermittelt wurden, geringfügig ab. Die Aussage, dass es zwischen Populationen geringen bis keinen genetischen Austausch gibt, wird durch die Höhe der Werte gestützt.
Auch in der graphischen Darstellung (NJ) der genetischen Distanz nach Nei werden die Populationen in der AFLP-Analyse scheinbar zusammenhanglos gruppiert (Abb. 3.7-18). Lange terminale Äste und kurze Verzweigungen an der Basis weisen auf die hohen Distanzwerte zwischen den einzelnen Populationen hin.

Gruppiert werden lediglich Populationen, zwischen denen eine geographische Distanz von weniger als etwa einem Kilometer liegt. So sind die beiden Populationen *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung* (Distanz 0.0074), die nicht in der RAPD-Analyse vertreten waren und eine geographische Distanz von etwa 200 m aufweisen, in einer Gruppe und verhältnismäßig gut durch Bootstrap-Werte gestützt. Auch die jeweils zwei untersuchten Populationen aus Moosach (Distanz 0,0657) und Ossenfeld (Distanz 0,0890) mit einer räumlichen Distanz von etwa 600 bis 800 m wurden in der Cluster-Analyse gruppiert, die genetische Distanz ist aber hier ungefähr um den Faktor 10 höher als bei den Populationen aus Knutbühren. Zwischen den Populationen *Ebersberg Weg* und *Ebersberg Weiher* lag eine Distanz von ca. 1,5 km. Diese beiden Populationen, die allerdings auch etwa doppelt so hohe Distanzwerte (0,1514) wie die Populationen Moosach und Ossenfeld zueinander aufweisen, wurden nicht gruppiert. Ebenso bemerkenswert ist, dass die Population *Groß-Ellershausen* nicht zu der Population *Ossenfeld II* gruppiert wurde, die zu ihr räumlich die geringste Entfernung aufweist (etwa 2,5 km; genetische Distanz zwischen diesen Populationen: 0,1481). Grundsätzlich werden südniedersächsische Populationen in Teilbereichen eines phylogenetischen Baumes gruppiert. Eine Korrelation zur räumlichen Nähe ist aber nicht feststellbar. Die Populationen aus dem weiteren Umfeld sind völlig bezuglos zu räumlichen Distanzen untereinander im phylogenetischen Baum dargestellt.

Klar separiert stehen die anderen untersuchten *Barbitistes*-Arten. Niedrige Bootstrap-Werte an den Ästen deuten auf eine schlechte Stützung des Baumes hin.

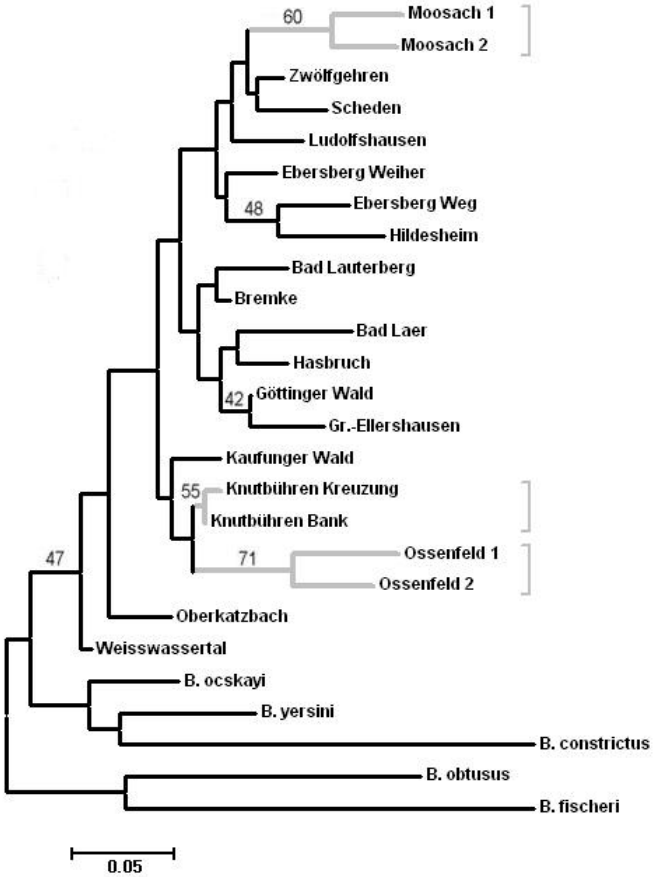


Abb. 3.7-18: Graphische Darstellung (NJ) der AFLP-Distanzanalyse nach Nei zwischen *B. serricauda*-Populationen unter Einbeziehung anderer untersuchter Arten der Gattung *Barbitistes*. Die Astlänge repräsentiert den Grad der genetischen Differenzierung zwischen den untersuchten Populationen. Es wurden 1000 Bootstrap-Wiederholungen durchgeführt. Die Analyse wurde unter der Annahme des HWE durchgeführt. Geographisch sehr nahe beieinander liegende Populationen sind farblich gekennzeichnet und mit einer Klammer versehen.

Die graphische Darstellung der genetischen Distanzen nach Nei unter Zugrundelegung der RAPD-Daten führt zu einer anderen Topologie als mit den Daten der AFLP-Analyse (Abb. 3.7-19). Die terminalen Zweige sind auch hier lang (entsprechend der genetischen Distanz). Die im Vergleich zur Topologie, die auf den AFLP-Daten beruht, noch kürzeren Verzweigungen an der Basis weisen auf eine grundsätzlich sehr schlechte Stützung des phylogenetischen Baumes hin. Viele Äste der Topologie weisen geringe Bootstrap-Werte auf. Die Stützung der Verzweigungen liegt in einer Größenordnung zwischen 10 und 30 %.

Die Populationen *Ossenfeld I* und *Ossenfeld II* werden hier zwar basierend auf den Originaldaten gruppiert (genetische Distanz zwischen den beiden Populati-

onen: 0,0486). Diese Verzweigung wird jedoch nicht in jeder Bootstrap-Berechnung gestützt. Durch einen Bootstrap-Wert von 97 % gut gestützt ist hingegen die Gruppierung der Populationen *Scheden* und *Hildesheim* mit einer genetischen Distanz von 0,0897. Beide weisen eine geringe genetische Variabilität innerhalb der Populationen auf.

Populationen, die in demselben Waldgebiet leben, jedoch durch größere räumliche Distanzen voneinander getrennt sind, weisen in der statistischen Analyse eine ähnlich große genetische Distanz zueinander auf wie Populationen, die durch erhebliche räumliche Distanzen voneinander getrennt sind. Entsprechend kann die Topologie auf Basis der RAPD-Daten nicht mit räumlichen Distanzen zwischen den Habitaten der untersuchten Populationen korreliert werden.

Die anderen in die RAPD-Analyse einbezogenen *Barbitistes*-Arten lieferten zwar ebenfalls auswertbare Bandenmuster. Jedoch standen hier weniger Individuen als bei der AFLP-Analyse zur Verfügung.

Tiere der Art *B. ocskayi* zeigten deutlich größere Distanzwerte zu den Populationen von *B. serricauda* als *B. serricauda*-Populationen untereinander. Dies wird graphisch durch die Astlänge in der Darstellung wiedergegeben. Die Art *B. obtusus* allerdings kann nicht deutlich abgegrenzt werden und wird entsprechend zwischen *B. serricauda*-Populationen gestellt. *B. constrictus* liefert in der RAPD-Analyse vergleichbare Distanzwerte zu *B. serricauda*-Populationen wie diese untereinander. Entsprechend wurde *B. constrictus* in der graphischen Darstellung ebenfalls unter die *B. serricauda*-Populationen gruppiert. Allerdings wurden in der RAPD-Analyse Tiere von *B. constrictus* aus der Laborzucht eingesetzt. In der AFLP-Analyse kamen hingegen Wildfänge zum Einsatz.

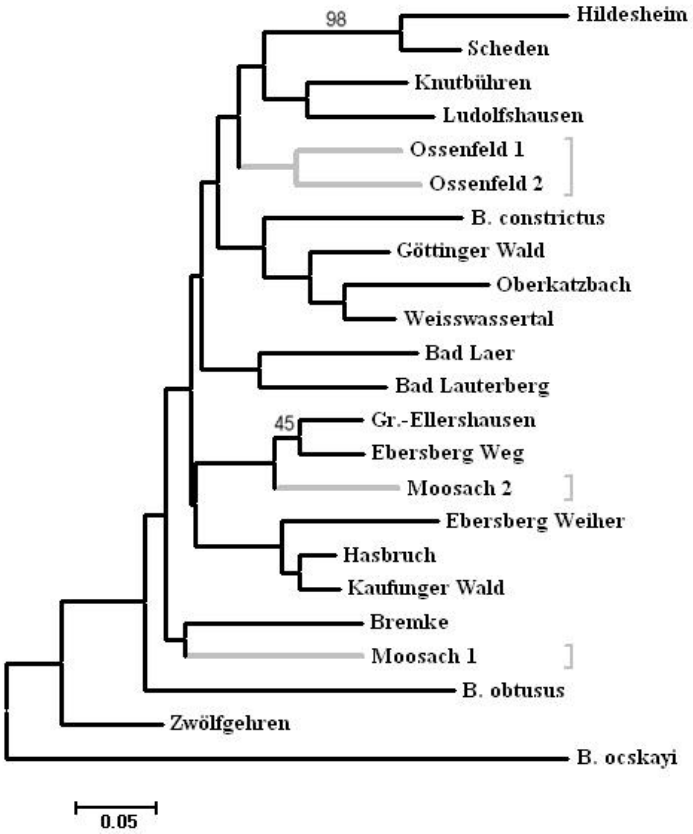


Abb. 3.7-19: Graphische Darstellung (NJ) der genetischen Distanzen von Populationen nach Nei basierend auf Ergebnissen der RAPD-Analyse unter Annahme des HWE. Vergleichend sind hier drei weitere *Barbitistes*-Arten in die Untersuchung einbezogen worden.

Auf Gattungsniveau bietet die RAPD-Analyse im Gegensatz zur AFLP-Analyse bei diesem Taxon eine nicht ausreichende Auflösung. Die AFLP-Daten liefern hier besser interpretierbare Ergebnisse (siehe Ende des Kapitels).

Abhängig vom jeweils zugrunde liegenden Algorithmus ist die Auflösung der RAPD-Daten geringfügig besser (Abb. 3.7-20). Zieht man zur Berechnung eines NJ-Baumes F_{ST}-Werte heran, werden auch die Populationen *Moosach I* und *Moosach II* gruppiert. Der Bootstrap-Wert liegt jedoch nur bei 22 %. Die Rate für die Paarung der beiden Populationen aus Ossenfeld steigt bei 1000 Wiederholungen im Bootstrap-Verfahren auf 43 %. Zugrunde liegt bei dieser Topologie die Annahme, dass in den Populationen eine deutliche Tendenz zur Inzucht vorhanden ist mit f = 0,93.

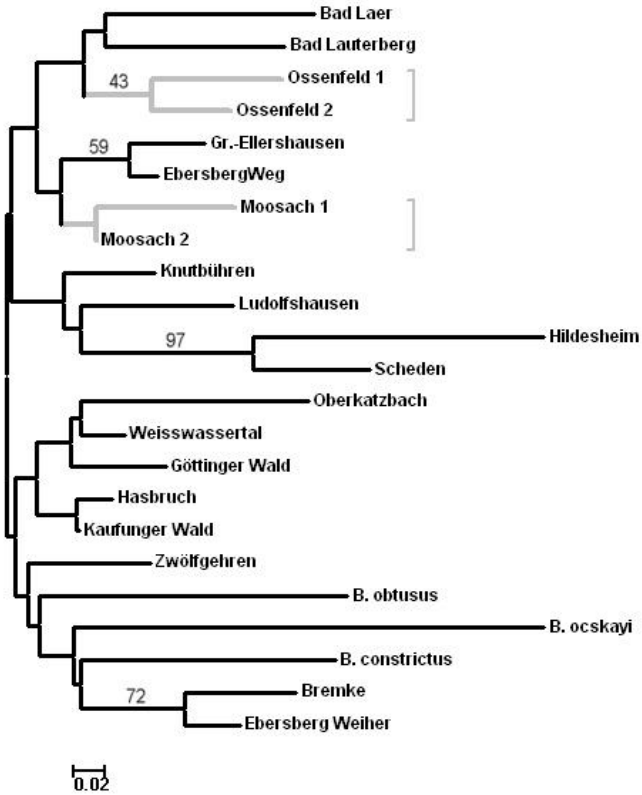


Abb. 3.7-20: Graphische Darstellung (NJ) der genetischen Distanzen von Populationen (F_{ST}) basierend auf Ergebnissen der RAPD-Analyse unter der Annahme eines Inzuchtkoeffizienten f = 0,93. Die Populationen *Moosach I* und *Moosach II* wurden hier zwar zusammengruppiert, wiesen aber im Bootstrap-Test lediglich einen Rang von 22 % auf.

Eine Topologie auf Grundlage der „Isolation by Distance"-Methode (F_{ST}) für die AFLP-Daten führt zu ähnlichen Gruppierungen wie die Berechnung der Distanz nach Nei (Abb. 3.7-21). Auch hier werden die nahe gelegenen Populationen *Moosach I* und *Moosach II*, *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung*, sowie *Ossenfeld I* und *Ossenfeld II* gruppiert. Die errechneten Bootstrap-Werte sind hier allerdings erheblich höher als bei der Topologie, die auf den Distanzen nach Nei beruht. Auch ist im Vergleich der Bootstrap-Werte die Stützung der Paarung *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung* besser als bei den Populationen *Ossenfeld I* und *Ossenfeld II*, zwischen denen eine größere, streckenweise nicht mit geeigneter Vegetation bewachsene, räumliche Distanz liegt. Die Populationen *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung*, wie aus der Abbildung ersichtlich, weisen eine deutlich geringere genetische Distanz untereinander auf als die Populationen *Ossenfeld I* und *Ossenfeld II*. Die Populationen aus Ossenfeld und Knutbühren werden in einem Arm des Baumes mit einer Stützung von 62 % gruppiert. Das Habitat die-

ser Populationen liegt westlich des Leinegrabens und weist eine Distanz von etwa fünf km auf, ist jedoch fragmentiert. Den Populationen aus Ossenfeld geographisch näher gelegen ist allerdings die Population aus *Groß-Ellershausen* mit einer Entfernung von etwa 2,5 km.

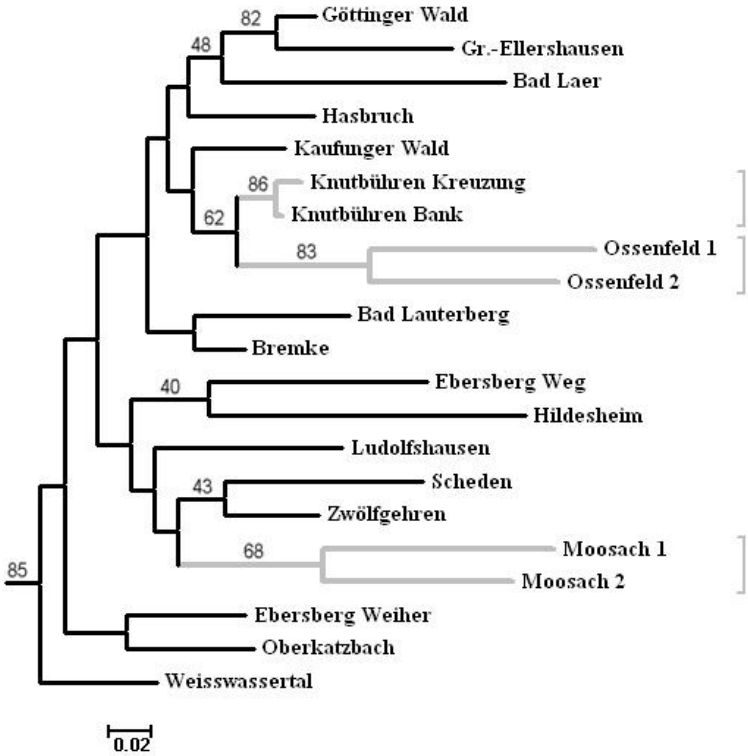


Abb. 3.7-21: Graphische Darstellung der genetischen Distanzen (F_{ST}) für die AFLP-Analysewerte unter der Annahme des HWE. Dargestellt sind lediglich die *B. serricauda*-Populationen mit dem Bootstrap-Wert an der Wurzel.

Während die Annahme eines Inzuchtkoeffizienten für die RAPD-Daten zu einer anderen Topologie für geographisch sehr nahe beieinander liegende Herkunftsgebiete untersuchter Populationen führt als im Falle einer Annahme des HWE, ergeben die AFLP-Daten im Gegensatz dazu identische Paarungen mit kaum abweichenden Bootstrap-Werten (Abb. 3.7-22 für f = 0,93). Die Länge der terminalen Äste unterscheidet sich nicht wesentlich von denen der graphischen Darstellung unter Annahme des HWE.

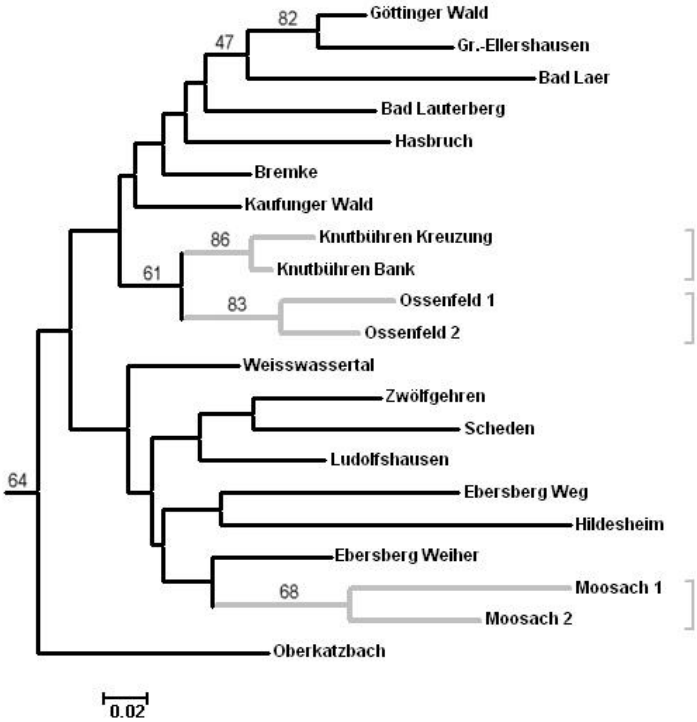


Abb. 3.7-22: Graphische Darstellung der genetischen Distanzen (F_{ST}) für die AFLP-Analysewerte unter der Annahme f = 0,93. Dargestellt sind lediglich die *B. serricauda*-Populationen mit dem Bootstrap-Wert an der Wurzel.

Die AFLP-Analyse bietet neben der rechnerischen und graphischen Auflösung der Distanzen zwischen Populationen der Art *B. serricauda* auch eine Auflösung der ebenfalls untersuchten Arten der Gattung *Barbitistes*. Die Bootstrap-Werte des ungewurzelten Baumes (Abb. 3.7-23) bewegen sich für die Arten der Gattung auf einem etwas höheren Niveau als für Populationen der Art *B. serricauda* (mit Ausnahme der geographisch dicht beieinander liegenden Populationen). Demnach scheinen aufgrund der genetischen Distanzwerte die am nächsten verwandten Arten von *B. serricauda* die südlich des Alpenhauptkammes zu findende *B. obtusus* und die hauptsächlich in Südwesteuropa beheimatete Art *B. fischeri* zu sein, die ihrerseits näher miteinander verwandt sind als mit *B. serricauda*. Diese Arten weisen eine genetische Distanz zu den ost- bzw. südosteuropäischen Arten auf. Als nächstverwandte Art zu den west- bzw. zentraleuropäischen Arten kann *B. constrictus* mit einer zentral- bis osteuropäischen Verbreitung betrachtet werden. Die südosteuropäischen Arten *B. yersini* und *B. ocskayi*, die ihrerseits zusammengruppiert werden, sind am nächsten mit *B. constrictus* verwandt. Diese Daten legen eine westliche Herkunft von *B. serricauda* nahe.

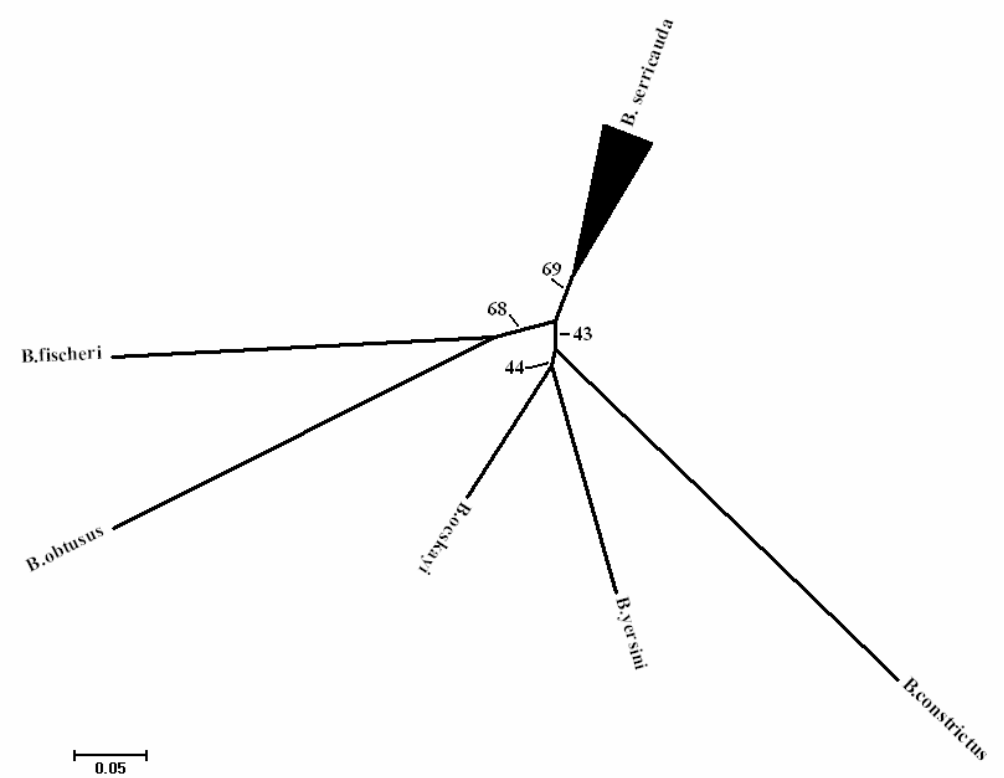


Abb. 3.7-23: Graphische Darstellung der genetischen Distanz unter Annahme des HWE zwischen Populationen der untersuchten Arten aus der Gattung *Barbitistes*. Als Grundlage dienen die Daten der AFLP-Analyse. Zur Ermittelung von Bootstrap-Werten wurde eine *B. serricauda*-Population (*Weißwassertal*) als Außengruppe definiert (Methode: NJ).

Die rechnerische Distanzanalyse zeigt, anders als es bei Populationen mit regelmäßigem Genfluss zu erwarten wäre (z. B. Nei 1987), keinen Zusammenhang zwischen genetischer Identität und räumlicher Nähe. Populationen, die in demselben Waldgebiet leben, jedoch durch räumliche Distanzen im Bereich der Mesoskala voneinander getrennt sind, können größere genetische Distanzwerte untereinander aufweisen als Populationen, die durch Distanzen im Bereich der Makroskala räumlich voneinander getrennt sind.

Generell sind die graphisch dargestellten verwandtschaftlichen Beziehungen nicht gut gestützt, was die Aussage zulässt, dass es, außer bei benachbarten Populationen, selten zum Genfluss zwischen Populationen kommt.

Die AFLP-Analyse produziert Daten, deren Auflösung sowie Stützung durch Bootstrapping besser ist als bei der RAPD-Analyse. Allerdings lassen sich auf Grundlage der RAPD-Analyse die gleichen zu verallgemeinernden Aussagen zur Populationsgenetik von *B. serricauda* treffen wie auf Basis der AFLP-Analyse: Die genetischen Distanzen zwischen den Populationen liegen auf einem hohem Ni-

veau. Mit beiden Methoden sind Populationen zu identifizieren, zwischen denen es mutmaßlich in jüngerer Vergangenheit und aufgrund der räumlichen Nähe zu einem Genfluss gekommen ist. Die großen genetischen Distanzen zwischen Populationen, die durch größere räumliche Abstände voneinander getrennt sind, weisen auf minimalen bis keinen genetischen Austausch zwischen Populationen hin.

4 Diskussion

Die Diskussion der Untersuchungsergebnisse folgt in ihrem Verlauf dem maßgeblichen Erkenntnisinteresse insofern, als die Ergebnisse ihrer Wichtigkeit nach für die zentrale Frage abgehandelt werden: Ob lokal isolierte Populationen von *B. serricauda* durch Inzuchtdepression, die zu einer Verminderung der biologischen Fitness führt, vom Aussterben bedroht sind oder ob es aufgrund genetischer Drift zu einer Diversifizierung kommt, die zu Speziationsprozessen führen kann. Dabei ist zu unterscheiden, ob der Ablauf der Speziation untersucht werden soll oder ob eine erfolgte Speziation betrachtet wird.

Eine allopatrische Speziation beginnt mit der Isolation von (kleinen) Populationen. Durch zufällige Verschiebung von Merkmalen kann es in solchen Populationen zu einer Diversifizierung kommen. Diese Phase einer unterschiedlichen Entwicklung in vereinzelten Populationen kann man als Speziationsprozess bezeichnen, da in diesen Populationen in der Isolation zunächst nur populationseigene Merkmale im Entstehen begriffen sind, diese Populationen also unter Umständen der Ursprung einer Art sein können. Erst wenn eine solche Diversifizierung abgeschlossen ist, sich also isolierte Populationen zu biologischen Arten entwickelt haben, kann eine tatsächlich erfolgte Speziation festgestellt werden.

Im Folgenden werden die Untersuchungspunkte in umgekehrter Reihenfolge zu ihrer Besprechung im Ergebnisteil dargestellt.

4.1 Populationsgenetik

4.1.1 Intrapopulationsanalyse

Für die Art *B. serricauda,* deren Adulti sich die meiste Zeit im Kronendach der Bäume aufhalten, ist es schwierig, Aussagen zur Populationsstruktur zu machen, da Beobachtungen aus dem Freiland nur zu den Entwicklungsstadien vorliegen. Daher stützen sich diesbezügliche Aussagen hauptsächlich auf die populationsgenetischen Untersuchungen.

In den populationsgenetischen Untersuchungen wurde eine genetische Diversität in den kleineren Populationen, wie etwa bei der Population *Weißwassertal*, festgestellt, die nicht oder nur unwesentlich geringer ist als in Populationen, in denen verhältnismäßig viele Tiere gesammelt werden konnten, wie etwa in der Population *Knutbühren Bank*. Diese Beobachtung spricht für die unter 4.7 noch

zu erörternde Annahme, dass sich unter veränderten Umweltbedingungen lokale Populationen kurzfristig vergrößern können.

Die genetische Diversität innerhalb einer Population ist zudem offenbar vom Bewuchs des Habitats beeinflusst. Die Individuen der Fundorte ohne flächig ausgeprägte Krautschicht zeichnen sich zumeist durch eine sehr geringe Variabilität innerhalb der Population aus. In den Habitaten, in denen eine flächige Krautschicht aufzufinden ist, ist die genetische Variabilität innerhalb der Populationen größer. Die Fundorte der Populationen *Hildesheim* und *Scheden* beispielsweise zeichneten sich durch geringen Bewuchs in der Krautschicht aus. Die Fundorte *Ludolfshausen*, *Weißwassertal* oder *Oberkatzbach* z. B. wiesen einen üppigen Krautschichtsaum vor den Gehölzen auf, der teilweise durch einen dichten flächigen Bestand von Brennnessel charakterisiert war. Während bei den erstgenannten Fundorten die Tiere lediglich auf einer Fläche von etwa fünf Quadratmetern zu finden waren, welche von zwei bis drei benachbarten Sträuchern bestanden war, saßen bei den letztgenannten Fundorten die Tiere größtenteils in der Krautschicht und waren hier aufgrund der fehlenden Sträucher etwas flächiger verstreut (bis zu 25 m²). Durch die Tendenz zur primär vertikalen Ortsveränderung gelangen die Tiere in Habitaten mit flächigem Bewuchs durch eine niedrige Vegetation nur bis in die Spitzen der Pflanzen und verteilen sich dann in der Fläche, die nicht mit höheren Pflanzen bestanden ist. Entsprechend oft ließen sich in derartigen Habitaten Tiere in den Spitzen von Brennnesseln finden, die nicht zu den bevorzugten Nahrungspflanzen gehören. Erst wenn die Tiere zu den Bäumen gelangten, die hinter dem meist saumartig ausgebildeten krautigen Bewuchs zu finden waren, konnten sie die Ortsveränderung in der Vertikalen vornehmen. Fehlte im Lebensraum der Heuschrecken eine Krautschicht, waren bereits Tiere des ersten und zweiten Entwicklungsstadiums in der Strauchschicht oder auf Jungbäumen zu finden. In diesen Habitaten wandern die Tiere offenbar unmittelbar nach ihrem Schlupf in die nächstgelegenen Sträucher, ohne sich wesentlich in der Fläche auszubreiten. Hierdurch kommt es zu einer Konzentration der Population auf engem Raum. Es werden hier also lokal höhere Dichten als in Habitaten mit flächiger Krautschicht erreicht. Daraus ist zu folgern, dass die Ausbreitung der Art nur erfolgt, wenn im Habitat viel niedriger Bewuchs zu finden ist, wie es unter natürlichen Bedingungen im Lebensraum dieser Tiere in den ersten Phasen einer Sukzession nach einem Windbruch der Fall ist.

Auch die Ergebnisse aus den Freilandbefunden, den Laborzuchten und den populationsgenetischen Untersuchungen deuten darauf hin, dass in reicher strukturierten Habitaten mehr Weibchen zur Reproduktion gelangen. So weisen beispielsweise die Fingerprints und die rechnerische Analyse der Population *Weißwassertal*, aber auch der Population *Kaufunger Wald* eine vergleichsweise hohe Diversität innerhalb der Population auf. In diesen Habitaten gelangen wahrscheinlich aufgrund einer stärkeren Dispersion wegen fehlender Strauch-, aber flächig ausgeprägter Krautschicht mehr Tiere zur Reproduktion. In anderen Habitaten, in denen die Tiere sehr früh in die Strauchvegetation gelangen, indizieren die

Fingerprints mit den Bandenmustern, anhand derer die Tiere einer Population oft in zwei bis drei Gruppen eingeteilt werden können, dass hier nur wenige – zwei bis drei – Weibchen zum Erhalt der lokalen Population beitragen. Die Ursache hierfür könnte, wie Laborbefunde (Kapitel 4.7) nahe legen, darin liegen, dass manche Tiere der Population nicht am Reproduktionsprozess teilnehmen.

Die Diversität innerhalb von Populationen ist offenbar nicht von der Anzahl der Individuen in der Population abhängig. So konnten von der Population *Weißwassertal*, einer Population mit hohen Diversitätsindizes, nur wenige Tiere aufgefunden werden. Diese wiesen eine ähnlich hohe Diversität auf wie Tiere der Population *Oberkatzbach*, von der viele Individuen gesammelt werden konnten. Viele Tiere wurden hier, ähnlich wie im Habitat der Population *Weißwassertal*, in der Spitze von flächig wachsenden Brennnesseln gefunden. Die Population *Knutbühren Bank* war die größte untersuchte Population. Hier wurden trotz der hohen Individuendichte keine höheren Diversitätsindizes ermittelt als bei Populationen, von denen nur wenige Tiere analysiert wurden.

Die Diversität innerhalb von Populationen lässt auch keine Aussage über die Überlebenswahrscheinlichkeit der unter standardisierten Bedingungen gezüchteten Tiere zu. So ließ sich die Population *Weißwassertal*, eine Population mit hohen Diversitätsindizes, trotz zweimaligen Versuchs nicht züchten. Populationen mit niedrigen Diversitätsindizes wiesen z. T. geringere Absterberaten auf als Populationen mit hoher Variabilität. Die Populationen *Scheden* und *Hildesheim* beispielsweise zeigen im Vergleich mit Populationen, die sich durch eine höhere Diversität auszeichnen, weder in der Embryonalentwicklung noch in der Postembryonalentwicklung eine erhöhte Mortalität (vgl. Abschnitt Überlebenswahrscheinlichkeit).

Eine verminderte biologische Fitness konnte auch bei Populationshybriden der ersten Filialgeneration festgestellt werden. Dies ist ein Hinweis darauf, dass Inzucht in kleinen Populationen im Regelfall ohne feststellbare negative Folgen bleibt. Viele Populationszuchten, wie auch Inzuchten mit den Nachkommen nur eines Elternpaares zeigten wenig Beeinträchtigungen der Überlebenswahrscheinlichkeit. So zeigte die Inzuchtlinie der Population *Ludolfshausen* bis zur dritten Filialgeneration eine zur Kontrollpopulation etwa vergleichbare genetische Diversität und eine nur etwas geringere als die Wildfänge. Vandergast et al. (2007) stellten bei *Stenopelmatus mahogani* (*Stenopelmatidae*), die in kleinen Populationen im dicht besiedelten Südkalifornien vorkommt, fest, dass der Verlust genetischer Diversität innerhalb von Populationen durch genetische Drift verstärkt wird wegen der geringen Anzahl von Individuen einer Population. Da die Inzuchtlinie der Population *Ludolfshausen* weder eine eingeschränkte Überlebenswahrscheinlichkeit (Kapitel 4.2) noch eine geringere genetische Diversität aufweist, ist anzunehmen, dass bei *B. serricauda* sehr geringe Individuenzahlen in Populationen nicht zu einem Verlust genetischer Diversität führen. Dies kann auf eine Anpassung an die Existenz in Subpopulationen mit nur gelegentlichem genetischen Austausch auch in für die Art optimalen Habitaten zurückzuführen

sein. Auch eine Störung des Geschlechterverhältnisses durch Inzucht, was wie Frankham & Wilcken (2006) in einem Überblicksartikel feststellen, zwar durchaus in einigen aber nicht in allen diesbezüglich untersuchten Populationen registriert wurde, konnte bei *B. serricauda*-Populationen im Freiland nicht festgestellt werden.

Die DIC-Werte geben in der rechnerischen Analyse des Programms Hickory eine deutliche Präferenz des Full model gegenüber den anderen Modellen an, welches einen hohen Inzuchtkoeffizienten errechnet hat. Hohe F_{IS}-Werte bei den RAPD-Daten sind zudem nahezu identisch mit denen der AFLP-Daten. Ebenso weist die graphische Auftragung von Distanzen unter der Annahme, dass sich die Populationen im HWE befinden, keine wesentlichen Abweichungen gegenüber einer Auftragung auf, die unter der Annahme eines Ungleichgewichts erstellt wurde. Trotz des als valide zu betrachtenden Inzuchtkoeffizienten von 0,93 konnten nur bei wenigen der untersuchten Populationen Anzeichen für eine Inzuchtdepression festgestellt werden. Dennoch stellten Reed et al. (2003) bei Laborzuchten von *Drosophila melanogaster* ein erhöhtes Aussterberisiko bereits bei einem kleineren Inzuchtkoeffizienten fest, sodass gefolgert werden kann, dass isolierte Populationen von *B. serricauda* einem erhöhtem Aussterberisiko ausgesetzt sein müssten (vgl. Kapitel 3.2 und 3.3).

Die Inzucht innerhalb der Populationen könnte noch durch ein codominantes Markersystem, etwa durch Allozyme, was in der vorliegenden Untersuchung mangels frischen Materials nicht in Frage kam, oder durch aufwendig zu etablierende Mikrosatelliten (etwa durch den Einsatz von „TOMMI"-Primern, Chen et al. 2005) verifiziert werden. Die Überprüfung eines Inzuchtkoeffizienten, der wie in der vorliegenden Untersuchung mit einem dominanten Markersystem wie etwa der AFLP-Analyse ermittelt wurde, kann allerdings auch durch eine weitere RAPD-Analyse sinnvoll erfolgen.

4.1.2 Distanz zwischen Populationen

Viele der untersuchten Populationen zeigten paarweise genetische Distanzen nach Nei von mehr als 0,16. Thorpe (1982) zieht die Artgrenze bei einer genetischen Distanz, die über dem Wert von 0,16 liegt. Die bei Nei (1987) aufgelisteten Untersuchungen auf Populations- und auf Artebene unterstützen diese Grenzziehung. In neueren molekularbiologischen Untersuchungen bei Arthropoden (in denen nach Nei die genetischen Distanzen berechnet wurden) konnten nur ausnahmsweise und nur bei Populationen, die sehr großräumig erfasst wurden, vergleichbare Werte beobachtet werden, bzw. lagen vergleichbare Distanzen nur auf Artniveau vor (z. B. Abatzopoulos et al., 2002, Baumann et al., 2003, Pesson et al., 2004).

Die ermittelten Werte des Fixation Index (F_{ST}) nach Wright aus der AFLP-Analyse liegen für die Populationen von *B. serricauda* mit 0,2486 unterhalb des Wertes von 0,504, den Pizzo et al. (2006) für Schwesterarten der Gattung

Onthophagus (*Scarabaeidae*) ermittelt haben. Allerdings erreichen auch die in die Untersuchung mit einbezogenen *Barbitistes*-Arten untereinander diese Werte nicht immer – der F_{ST}-Wert zwischen den Arten *B. yersini* und *B. ocskayi* liegt beispielsweise bei 0,2733. Einige Distanzen zwischen Populationen von *B. serricauda* übertreffen diesen Wert. So erreicht z. B. die Distanz zwischen den Populationen *Hildesheim* und *Ossenfeld II* bei einer Entfernung der Habitate dieser Populationen von 70 km den Wert von 0,4554. Sogar Populationen, die geographisch eine relativ geringe Entfernung zueinander aufweisen, wie etwa die Populationen *Ossenfeld I* und *Zwölfgehren* (Entfernung hier 6 km), erreichen einen F_{ST}-Wert von 0,3232. Nicht alle paarweisen Werte der Populationen von *B. serricauda* zu anderen Arten der Gattung *Barbitistes* erreichen ein solches Niveau, was die Annahme, dass die ermittelten Distanzen zwischen Populationen von *B. serricauda* auf einem Niveau nahe der Artgrenze liegen, unterstützt.

Auch zeigt die rechnerische Distanzanalyse anders als beispielsweise von Scataglini et al. (2000) bei Käfern der Art *Anthonomus grandis* festgestellt keinen Zusammenhang zwischen genetischer Identität und räumlicher Nähe. Dies bedeutet, dass selbst im Mesoskalenbereich zwischen den Populationen allenfalls ein äußerst geringer genetischer Austausch stattfindet. Die scheinbar zusammenhanglose Gruppierung der untersuchten Populationen in den graphischen Darstellungen (S. 187-192) visualisiert die genetische Isolation einzelner *B. serricauda*-Populationen. Eine Auflösung der verwandtschaftlichen Beziehungen mittels Darstellung der genetischen Distanzen zwischen Populationen ist also nicht möglich.

Ursachen für die Tatsache, dass genetische Unterschiede zwischen isolierten Populationen nicht in einen Zusammenhang mit ihrer räumlichen Distanz gesetzt werden können, sind zum einen in einem mangelnden genetischen Austausch und zum anderen in einer in kleinen Populationen auftretenden genetischen Drift zu suchen. Eine Zunahme der genetischen Differenz zwischen Teilpopulationen durch Isolation, die allerdings bei der Wintermotte *Operophtera brumata* mit einer Abnahme genetischer Differenzierung innerhalb untersuchter Teilpopulationen einhergeht, wurde von Van Dongen et al. (1998) beschrieben. Dieser Befund stützt auch die Hypothese, dass *B. serricauda* in der Regel in vielen kleinen Populationen mit geringem genetischen Austausch lebt. Die Distanzwerte zwischen den Populationen, die fast das Niveau der intraspezifischen Werte der Gattung erreichen, deuten auf längere Zeiträume der Isolation hin. Damit sind in isolierten Populationen die Voraussetzungen für eine divergierende Entwicklung gegeben, die durch die biometrischen Daten und die Untersuchungen zur Überlebenswahrscheinlichkeit bestätigt werden (Kapitel 3.2, 3.3 und 3.4). Obwohl neuere Modelle von einer schnelleren Evolutionsgeschwindigkeit in lokal isolierten Populationen ausgehen (Rieseberg et al. 2003), wenn diese einen gelegentlichen genetischen Austausch haben, und somit dem Konzept einer Speziation in Metapopulationen folgen (Levin 1985), ist hier davon auszugehen, dass aufgrund des geringen Dispersionsvermögens der Art ein solcher Austausch ein

sehr seltenes Ereignis ist. Daher muss sich die Diversifizierung nicht durch die Akkumulation nützlicher Mutationen, sondern ausschließlich durch genetische Drift in den isolierten Populationen dieser Art manifestieren, was durch die geringe Anzahl von Individuen verstärkt wird.

Sogar zwischen geographisch relativ nahe beieinander gelegenen Populationen kommt es offenbar nicht zu einem regelmäßigen genetischen Austausch. Darauf deuten die verhältnismäßig langen terminalen Äste der graphischen Darstellung (S. 187-192), d. h. die hohen Distanzwerte, hin. So ist sogar zwischen den Populationen *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung* ein genetischer Distanzwert von F_{ST} = 0,0142 feststellbar, obwohl diese Populationen aus einem für die Art günstigen Habitat entnommen wurden und zwischen den Fundorten eine Entfernung von lediglich etwa 200 Metern liegt. Allerdings wird aus der wesentlich geringeren Distanz zwischen diesen beiden Populationen ersichtlich, dass in solchen Lebensräumen ein Austausch stattfindet, aber dass dieser durch die Fragmentierung auch bereits im Mesoskalenbereich – umliegende Populationen sind *Ossenfeld I*, *Ossenfeld II*, *Zwölfgehren* und *Groß-Ellershausen* – nachhaltig gestört wurde. Es ist daher aus diesen Befunden abzuleiten, dass *B. serricauda* stets in Kleinstpopulationen mit nur gelegentlichem genetischen Austausch lebt, selbst wenn eine flächendeckende Verbreitung möglich wäre. Gradationserscheinungen, wie sie bei *B. constrictus* oder *B. ocskayi* vorkommen können, sind folglich bei dieser Art selbst unter äußerst günstigen Bedingungen nicht anzunehmen.

Populationen, die in demselben Waldgebiet leben, jedoch durch Rotbuchenbestände oder größere Distanzen getrennt sind, können größere genetische Distanzwerte untereinander aufweisen als Populationen, deren Habitat räumlich weit voneinander entfernt liegt. Die Population *Göttinger Wald* weist z. B. zur Population *Groß-Ellershausen* eine viel geringere genetische Distanz auf als zur Population *Weißwassertal,* obwohl zwischen den beiden Populationen *Göttinger Wald* und *Groß-Ellershausen* das seit dem frühen Mittelalter vollständig entwaldete Leinetal liegt, während die Population *Weißwassertal* zwar auch im Göttinger Waldgebiet vorkommt, von der Population *Göttinger Wald* aber durch einen Rotbuchenhochwald getrennt ist.

4.1.3 *B. serricauda* und die Beziehung zur Gattung

Artbildungsprozesse in Europa sind maßgeblich auf die starken Klimaschwankungen des Pleistozäns zurückzuführen (Hewitt 2000). Barrieren in ostwestlicher Richtung verhinderten eine einfache Arealexpansion der Arten nach Norden während der Interglaziale und ein Zurückweichen in Refugialräume während der Kaltzeiten in den Süden, wie es beispielsweise in Nordamerika möglich war. Durch die Isolation von Populationen einer Art in unterschiedlichen Refugien kam es zu Artaufspaltungen. Die Artaufspaltung der Gattung *Barbitistes* lässt sich ebenso auf die klimatischen Schwankungen des Pleistozäns zurückführen.

B. serricauda hat, wie *B. constrictus*, die allerdings ein kontinentales Klima bevorzugt, ihr Verbreitungsgebiet nördlich des Alpenhauptkammes. Das pleistozäne Refugium beider Arten wird von Detzel (1998) in Südosteuropa vermutet und dementsprechend dem kaspischen Faunenelement zugeordnet. Viele der von *B. serricauda* bevorzugten Nahrungspflanzen überdauerten jedoch die letzte Eiszeit in den westeuropäischen Refugien. Aufgrund der Herkunft vieler Nahrungspflanzen wäre auch zusammen mit der Ausbreitung der Pflanzen eine nacheiszeitliche Arealexpansion von *B. serricauda* aus einem westeuropäischen Refugium nach Zentraleuropa denkbar, wo sich dann mit flächendeckenden Eichenwäldern optimale Habitatbedingungen für die kühl-stenotherme Art einstellten. Ingrisch (1998) gibt für *B. serricauda* sowohl eine mögliche pontische, als auch eine mediterrane oder atlantische Herkunft an; für *B. constrictus* wird dagegen eine atlantische Herkunft angenommen. Die in der AFLP-Analyse errechneten genetischen Distanzen zwischen den Arten der Gattung *Barbitistes* ergeben den niedrigsten Distanzwert für die Arten *B. yersini* und *B. ocskayi* mit F_{ST} = 0,2733. Eine Aufspaltung dieser Arten dürfte am wenigsten weit zurückliegen. Aufgrund der nur wenig höheren Distanzwerte verglichen mit denen zwischen isolierten Populationen von *B. serricauda* kann angenommen werden, dass die Artaufspaltung von *B. yersini* und *B. ocskayi* während der letzten Eiszeit, die vor 10000 Jahren zu Ende ging und etwa vor 115000 Jahren begann (für Norddeutschland: Weichseleiszeit), stattgefunden hat. Annähernd doppelt so hohe Distanzwerte weist *B. constrictus* zu *B. yersini* und *B. ocskayi* auf (alle Distanzwerte in Tab. 3.7*A*-4). Folglich muss sich, unter Berücksichtigung der pleistozänen Geschichte Europas, *B. constrictus* während der Saaleeiszeit (die vor etwa 300000 Jahren begann und 122000 Jahre dauerte) von der gemeinsamen Stammart von *B. yersini* und *B. ocskayi* abgespalten haben. Die Distanz von *B. constrictus* zu *B. obtusus* (F_{ST} = 0,6629) ist wie zu *B. fischeri* (F_{ST} = 0,6568) jedoch größer, was den Schluss zulässt, dass eine Divergenz zwischen den westlichen und den östlichen Arten mindestens in der vorangegangenen Elstereiszeit, die vor 500000 Jahren begann und ebenfalls etwa 120000 Jahre dauerte, stattgefunden hat. Die Divergenz zwischen *B. fischeri* und *B. obtusus* ist auf die unterschiedlichen Refugien (auf der Iberischen Halbinsel und auf der Apenninen-Halbinsel) zurückzuführen. Entsprechend der großen Diversität innerhalb der *B. serricauda*-Populationen weisen einzelne Populationen auch sehr unterschiedliche Distanzen zu anderen Arten der Gattung auf. Zwar liegen viele Distanzwerte etwa in einem Bereich, der auf eine Artentstehung während der Saaleeiszeit schließen lässt; sie sind also ähnlich hoch wie jene zwischen *B. constrictus* einerseits und *B. yersini* sowie *B. ocskayi* andererseits. Doch genau so hoch sind auch die Distanzwerte zu *B. fischeri* und *B. obtusus*. Möglicherweise hat *B. serricauda* somit ihren Ursprung etwa in der Elstereiszeit, als sich die Arten der Gattung getrennt haben.

Die Annahme von Köhler (1988), dass es sich bei *B. constrictus* und *B. serricauda* um Schwesterarten handelt, konnte somit durch die hier erhobenen Daten nicht gestützt werden. *B. serricauda* könnte also stammesgeschichtlich älter sein

als die südeuropäischen und kontinentalen Arten der Gattung. Hierfür spricht zum einen, dass *B. serricauda* andere ökologische Anforderungen, v. a. ein anderes Licht- und Wärmebedürfnis, hat, zum anderen weist die Art auch einen von allen anderen diesbezüglich untersuchten Arten der Gattung grundsätzlich abweichenden Gesang auf (Stumpner & Meyer 2001).

4.1.4 Methodendiskussion zur Populationsgenetik

Die Zuverlässigkeit von RAPD-Daten wird auch in der neueren Literatur immer wieder in Zweifel gezogen (z. B. Behura 2006). Hauptkritikpunkt ist eine angeblich geringe Reproduzierbarkeit der Bandenmuster. Verwiesen wird dabei auf Black (1993). Dort wird jedoch die RAPD-Analyse als taugliches Mittel zur Populationsgenetik eingestuft, eine eingeschränkte Reproduzierbarkeit allerdings auf schwankende Konzentrationen in Reaktionsgemischen zurückgeführt. Die eigenen Untersuchungen haben diesen Kritikpunkt bestätigt. Ein Ansetzen von einer RAPD-PCR mit einzelnen Reaktionssubstanzen führt zu hohen Ausfallquoten beim PCR-Produkt. Dieses Problem kann man aber durch den Einsatz von Beads umgehen, da hierdurch die Konzentrationen weitestgehend gleich sind. Obwohl bei Verwendung von Beads auch Benecke (1998) für die RAPD-Fingerprint-Methode eine Standardisierung beschreibt, die zu einer guten Reproduzierbarkeit führt, empfehlen Bagley et al. (2001) anstatt der RAPD-Analyse den Einsatz der AFLP-Analyse aufgrund einer besseren Reproduzierbarkeit. In der vorliegenden Untersuchung konnten sogar die gleichen RAPD-Ergebnisse auf verschiedenen Thermocyclern erreicht werden, obwohl das Protokoll nicht auf die unterschiedliche Arbeitsweise der eingesetzten Geräte optimiert wurde. Dies spricht für eine sehr stabile Methode, die kostengünstig und mit verhältnismäßig geringem apparativen Aufwand zu realisieren ist. Allerdings führt die Amplifikation größerer Fragmente (über 500 bp) und die ungenaue Auflösung auf Agarose-Gelen zu einer limitierten Genauigkeit der Einordnung von Banden in Größenklassen.

Die RAPD-Analyse kann als sehr gut geeignete Analysemethode für populationsgenetische Untersuchungen angesehen werden, um zu klären, ob umfangreichere, mit höheren Kosten verbundene Untersuchungen am gewählten Gegenstand lohnenswert sind. Sie ist zudem eine Option, falls die mit erheblich höherem apparativen Aufwand verbundene AFLP-Analyse nicht genutzt werden kann (Kjølner et al. 2004).

Gleichwohl zeichnet sich die AFLP-Analyse gerade dadurch aus, dass die oben genannten Schwächen der RAPD-Analyse nicht auftreten: Die AFLP-Analyse zeigt eine sehr gute Reproduzierbarkeit der amplifizierten Fragmente, die sich in einer Größenordnung von etwa 50 bis 500 bp bewegen; zudem sind diese aufgrund der Auftrennung auf Polyacrylamid-Gelen bis auf eine Base in der Größe differenzierbar. Mit dieser Methodik können somit größenspezifischere Aussagen erreicht werden als mit der RAPD-Analyse.

Die genauere Zuordnung der amplifizierten Fragmente bei der AFLP-Analyse führt in der vorliegenden Untersuchung, im Vergleich zur RAPD-Analyse, zu etwas geringeren Distanzwerten (S. 271-275). Auch Geleta et al. (2007) erzielten beim vergleichenden Einsatz beider Methoden einen etwas höheren Fixation Index F_{ST} nach Wright auf der Basis der RAPD-Daten als auf der Basis der AFLP-Daten. Die Ursachen liegen zum Teil in den unterschiedlichen Methoden begründet. So wurden in der RAPD-Analyse in erster Linie nur deutlich voneinander differenzierbare Fragmente, die bei vielen Individuen erkennbar waren, ausgewertet, bei der AFLP-Analyse hingegen durch die Automatisierung auch seltener auftretende Fragmente. Nimmt man letztere heraus, können sich etwas höhere Distanzwerte ergeben. Zudem zeigten einige Amplifikate mit RAPD-Primern Bandenmuster, in denen viele Fragmente eine nur relativ wenig unterschiedliche Größe hatten, was v. a. bei Größenordnungen von mehr als 700 bp eine Klassifizierung erschwert.

In verschiedenen Taxa ergeben die ermittelten Distanzwerte zwischen Arten einer Gattung unterschiedliche Werte (Nei 1987). Ein direkter Vergleich von Distanzmatrizen aus mit unterschiedlichen Methoden durchgeführten Untersuchungen ist nur dann sinnvoll, wenn eine Außengruppe als Bewertungsmaßstab für die ermittelten Distanzwerte einbezogen wird. Diese dient zudem als Bewertungsmaßstab für die rechnerischen Distanzwerte zwischen Populationen, denn durch die subjektive Auswahl geeigneter Marker können sich Schwankungen in der absoluten Größe der Distanzwerte ergeben.

Die Leistung der RAPD-Analysetechnik könnte eventuell noch durch den Einsatz etwas längerer Primer verbessert werden. Dies würde zwar zu einer verminderten Anzahl amplifizierter Fragmente führen. Anstelle des – üblichen – Einsatzes nur eines Primers in der PCR könnte dieser Nachteil aber durch das Verwenden von zwei verschiedenen Primern in Kombination kompensiert werden, was auch in dieser Untersuchung zum Teil durchgeführt wurde. So ließen sich wenige gut differenzierbare Fragmente generieren, die die Zuordnung zu Größenklassen auf den nicht so hoch auflösenden Agarose-Gelen vereinfacht. Der Nachteil einer schwierigen Unterscheidung von verhältnismäßig großen Fragmenten, die in der Größe nur um wenige Basenpaare voneinander abweichen, bleibt allerdings bestehen.

Die Analyse der Populationsstrukturen führt mit beiden Methoden dennoch zu gleichen verallgemeinerbaren Ergebnissen in Bezug auf die Genetik der untersuchten Populationen von *B. serricauda*. Bei der Untersuchung der genetischen Distanzen unterscheidet sich die Höhe der Werte aus der AFLP-Analyse nicht wesentlich von derjenigen aus der RAPD-Analyse (S. 271-275). Die graphische Darstellung der Distanzmatrizen führt bei Auswertung der RAPD-Daten allerdings zu anderen Ergebnissen als in der Auswertung der AFLP-Analyse. Zudem sind die Distanzmatrizen der RAPD-Analyse durch Bootstrapping nicht so gut gestützt wie die Matrizen, die aus den AFLP-Daten resultieren.

Ein weiterer Punkt für das Zustandekommen nicht identischer Distanzmatrizen dürfte in der Größe der Stichproben zu suchen sein: In der RAPD-Analyse wurden 90 polymorphe Marker, in der AFLP-Analyse 106 polymorphe Marker ausgewertet. Würden bei jeder Methode mehr polymorphe Marker untersucht, würden sich die Ergebnisse vermutlich einander annähern. Allerdings erwiesen sich die Daten als hinreichend aussagekräftig.

Die Validität der erzielten Ergebnisse zeigt sich an der verwandtschaftlichen Beziehung zwischen geographisch sehr nah beieinander liegenden Populationen. So werden in einer Distanzmatrix nach Nei, genau so wie in einer Distanzmatrix der F_{ST}-Werte aus den Daten der AFLP-Analyse, die Populationen *Ossenfeld I* und *Ossenfeld II*, die Populationen *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung*, sowie die Populationen *Moosach I* und *Moosach II* (obwohl hier nur sehr wenige Tiere in die Analyse eingingen) gruppiert. Die aus den Daten der RAPD-Analyse errechnete Distanzmatrix zeigt in ihrer graphischen Darstellung nach Nei nur eine Gruppierung der Populationen *Ossenfeld I* und *Ossenfeld II* (die Populationen *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung* waren nicht in der RAPD-Analyse vertreten). *Moosach I* und *Moosach II* werden nur in der rechnerischen Aufbereitung der F_{ST}-Werte gruppiert. Der Bootstrap-Wert ist allerdings niedrig (22 %). Hinzu kommt, dass die RAPD-Analyse auf Gattungsniveau keine ausreichende Auflösung bietet. Die AFLP-Analyse hingegen liefert hier eine interpretierbare Distanzmatrix. Auch Ritchie et al. (1997) geben für populationsgenetische Analysen basierend auf RAPD-Fingerprints eine gute Auflösung an. Die Beziehungen bei größeren phylogenetischen Distanzen ließen sich jedoch mit dieser Methode auch von Ritchie et al. (1997) nicht darstellen. In der AFLP-Analyse setzen sich die zu Vergleichszwecken ebenfalls analysierten Tiere anderer *Barbitistes*-Arten deutlich von den *B. serricauda*-Populationen ab, obwohl nur wenige Individuen in der Analyse eingesetzt wurden. In der RAPD-Analyse hingegen weisen Tiere der Arten *B. constrictus* und *B. obtusus* nur unwesentlich höhere Distanzwerte zu etlichen *B. serricauda*-Populationen auf als diese untereinander.

Die RAPD-Analyse ist nach den hier vorliegenden Ergebnissen also grundsätzlich in der Populationsgenetik einsetzbar, bietet aber gegenüber der vorzuziehenden AFLP-Analyse eine nicht so sichere Auflösung, obwohl sie im Vergleich zur AFLP-Methode mehr polymorphe Banden produziert (Bagley et al. 2001).

4.2 Embryonalentwicklung

Die Untersuchungen zur Embryonalentwicklung von *B. serricauda* haben gezeigt, dass die Art unter Freilandbedingungen in der Regel einen zwei- bis dreijährigen Entwicklungszyklus hat. Dabei können drei Diapausestadien auftreten (Initial-, Medial- und Finaldiapause). Entgegen der von Gottwald et al. (2002) vertretenen Auffassung, die Finaldiapause sei obligat, konnte beobachtet werden, dass sich auch Embryonen, die sich in der Winterabkühlung in der Medialdiapause befan-

den, nach der ersten Abkühlungsperiode bis zum Schlupf entwickeln konnten. Somit ist für *B. serricauda* nur mindestens eine Diapause obligat, um die Embryonalentwicklung zu vollenden, aber es ist unerheblich, ob diese in der Medial- oder Finaldiapause erfolgt. Überdauert der Embryo die erste Winterabkühlung allerdings in der Initialdiapause, muss er noch mindestens einen weiteren Winter in einer Medial- oder Finaldiapause überdauern. Es können jedoch auch Embryonen zwischen den Abkühlungsperioden ohne weitere Entwicklung verbleiben.

Die verschiedenen Absterberaten in den Populationszuchten deuten auf Unterschiede in der Überlebenswahrscheinlichkeit trotz standardisierter Bedingungen hin. Aussagen zur biologischen Fitness der untersuchten Populationen im Herkunftshabitat sind allerdings schwierig zu treffen, da die dortigen lokalen Bedingungen in den Laborexperimenten unberücksichtigt bleiben mussten. So ließen sich im Habitat der Population *Weißwassertal* auch in klimatisch günstigen Jahren immer nur wenige Tiere auffinden, die dort offenbar die Population trotzdem erhalten. Die Laborzucht dieser Population ist jedoch in zwei aufeinander folgenden Jahren gescheitert, obwohl die dem Freiland entnommenen Tiere sich problemlos aufziehen und auch reproduzieren ließen. Andere Populationen, von denen auch nur wenige Tiere im Freiland aufgefunden werden konnten, wie beispielsweise aus der Population *Bad Lauterberg*, ließen sich hingegen gut im Labor züchten. Daher können Laborbefunde als Hinweis gewertet werden, dass es durchaus Populationen mit einer verminderten biologischen Fitness gibt.

Bei Speziationsprozessen ist eine erhöhte Aussterbewahrscheinlichkeit einzelner individuenarmer isolierter Populationen zu erwarten. Reinhardt et al. (2005) stellen dies für *Orthoptera* besonders bei Arten mit geringer Mobilität der Individuen fest. Unter diesem Aspekt sind auch die Befunde der Population *Bremke* zu betrachten. Im Habitat der Population ließen sich in den 1990er Jahren, ebenso wie im Habitat der Population *Ossenfeld I*, viele Tiere auffinden (Gottwald, mündl. Mitt.). Das Habitat in *Bremke* hat sich aber im Gegensatz zum Habitat der Population *Ossenfeld I* nur unwesentlich verändert. Dennoch konnten im Untersuchungszeitraum nur wenige Tiere im Habitat *Bremke* gesammelt werden. In der Laborzucht legten die Tiere aus *Bremke* wenige Eier ab, die sich zudem auch relativ langsam entwickelten.

Im südlichen Niedersachsen ließen sich in einigen isolierten Waldgebieten trotz geeigneter Vegetation keine Tiere von *B. serricauda* nachweisen. Es kann sich dabei durchaus auch um Orte handeln, an denen in der Vergangenheit vorhandene Populationen erloschen sind. Auch Saccheri et al. (1998) fanden Hinweise auf lokale Aussterbeprozesse isolierter Populationen. Sie konnten bei einigen isolierten Teilpopulationen von *Melitaea cinxia*, einem Scheckenfalter, eine verminderte Überlebenswahrscheinlichkeit feststellen, die hier allerdings positiv mit einer Homozygotie korrelierte. Bei *M. cinxia* sind kleine Teilpopulationen ohne genetischen Austausch dem Risiko des Aussterbens durch Inzucht ausgesetzt.

Die beobachteten Veränderungen in der Überlebenswahrscheinlichkeit der zweiten Filialgeneration können in der vorliegenden Untersuchung zufällig sein, da nur verhältnismäßig wenige Individuen aufgezogen werden konnten. Hinzu kommt, dass nur mit denjenigen Tieren weiter gezüchtet wurde, die bereits im Jahr nach der Eiablage schlüpften, also mit Tieren, deren Entwicklung schneller verlief als unter Freilandbedingungen. Es war in allen Populationen eine verlangsamte Entwicklung gegenüber der ersten Filialgeneration zu beobachten, was auf die künstlich beschleunigte Entwicklung im Labor zurückzuführen ist. Da dies jedoch auf alle Populationen zutraf, ist eine Vergleichbarkeit der zweiten Zuchtgeneration dennoch gewährleistet. In der dritten Filialgeneration, deren Daten nur bei denjenigen Populationszuchten als interpretierbar angesehen werden können, von denen eine größere Menge Eier abgelegt wurden, konnten keine wesentlichen Unterschiede zur ersten Filialgeneration gefunden werden.

Kristensen et al. (2003) stellten bei der Fruchtfliege *Drosophila buzzatii* fest, dass nicht in allen Populationen eine Inzucht durch Isolation zu einer verminderten biologischen Fitness führt und konstatierten für diese Beobachtung Modellcharakter. Die Inzuchtlinien von *B. serricauda*-Populationen weisen zu den Populationszuchten auch bis zur dritten Filialgeneration keine erhöhten Absterberaten im Vergleich zu den Populationszuchten auf. Inzucht, die in den frei lebenden Kleinstpopulationen mutmaßlich oft vorkommt, führt bei den diesbezüglich untersuchten Populationen also nicht zu einer erhöhten Ausfallquote, die auf eine Inzuchtdepression hindeuten würde. Balloux et al. (2004) vermuten sogar, dass der Faktor der Inzuchtdepression überbewertet wird. Ihre Vermutung gründet darauf, dass dieses Phänomen stets an für solche Untersuchungen gut geeigneten kleinen Populationen nachgewiesen wird.

Es deutet sich also an, dass es zwar in einigen Teilpopulationen von *B. serricauda*, wie z. B. bei der Population *Bremke* (möglicherweise unter dem Einfluss genetischer Verarmung) zu einer verminderten relativen Überlebenswahrscheinlichkeit – durch Inzuchtdepression – und damit zur Extinktion von lokalen Populationen kommen kann. Andere lokale Populationen, wie z. B. die Population *Ludolfshausen*, haben aber offensichtlich – wie Entwicklung- und Absterberaten zeigen – das Risiko eines Aussterbens aufgrund einer genetischen Verarmung überwunden. Zwar stellten Curtis & Taylor (2003) in Populationen von Molchen der Art *Dicamptodon tenebrosus*, die einer nur kurze Zeit zurückliegenden Flaschenhalssituation aufgrund einer anthropogenen Habitatfragmentierung ausgesetzt waren, eine geringere Diversität innerhalb der Populationen fest. Doch weisen als lokal isoliert anzusehende Populationen von *B. serricauda* gegenüber Populationen aus Habitaten mit mehreren Subpopulationen keine dementsprechenden Befunde auf. Selbst die Zuchtlinien von *B. serricauda*-Populationen, in denen mit nur einem Elternpaar je Generation bis zur dritten Filialgeneration gezüchtet wurde, wiesen keine wesentliche Reduktion der genetischen Variabili-

tät oder der Überlebenswahrscheinlichkeit gegenüber den Populationszuchten auf.

Die relativ hohen Distanzen der Population *Weißwassertal* zu anderen Populationen aus dem südniedersächsischen Raum zeigen beispielhaft, dass eine Isolation zwar zu hohen Distanzwerten zu anderen Populationen führen und auch mit einer hohen genetischen Diversität innerhalb der Population verbunden sein kann. Aber die biologische Fitness kann dennoch, zumindest im Verglich zu unter gleichen Bedingungen gezüchteten Populationen anderer Habitate, erheblich vermindert sein. Populationen können jedoch nur dann das frühe riskante Stadium eines Speziationsprozesses durch Gendrift überwinden, wenn es ihnen gelingt, trotz des mit den geringen Individuenzahlen verbundenen Nachteils der Inzuchtdepression zu überleben. Die verschiedenen Zuchtlinien der Population *Ludolfshausen* belegen die Überwindung des mit einem hohen Grad an Homozygotie verbundenen Aussterberisikos insofern, als dass die Inzuchtlinie weder eine geringere genetische Diversität noch eine verminderte Überlebenswahrscheinlichkeit gegenüber der Populationszucht aufwies.

Die erste Filialgeneration der populationshybriden Nachkommen hingegen zeigte, abhängig von der Herkunft der Elterntiere, eine teilweise erheblich abweichende Embryonalentwicklung im Vergleich mit den Populationszuchten der Eltern, ähnlich wie es Nosil & Crespi (2006) bei Populationshybriden von Stabheuschrecken der Art *Timema cristinae* feststellen konnten. Allerdings zeigten einige überlebensfähige Populationshybriden von *B. serricauda* mit durchschnittlichen Überlebensraten keine so weit fortgeschrittene postzygotische Trennung auf, wie es Sauer & Hensle (1977) bei den Skorpionsfliegen *Panorpa communis* und *P. vulgaris* finden konnten. Bei *B. serricauda* hängt die Überlebensfähigkeit von Populationshybriden davon ab, aus welchen Herkunftshabitaten die Elterntiere stammen. Nur in wenigen Zuchtansätzen konnte eine vergleichbar schnelle Entwicklung mit geringen Absterberaten bei den Populationshybriden beobachtet werden wie in den Populationszuchten der Elterntiere. In den meisten Fällen verlangsamte sich die Entwicklung. Gleichzeitig wiesen die Populationshybriden eine im Vergleich erheblich höhere Absterberate in der Embryonalentwicklung auf (Kapitel 3.2.6 und 3.2.10). Dabei ist es unerheblich, ob die Elterntiere aus geographisch nahe beieinander liegenden Lokalitäten stammten oder ob die Herkunftsgebiete weit von einander entfernt waren. Eine beginnende Diversifizierung von isolierten Populationen nach der Fragmentierung ihres Habitats hat demnach zur Folge, dass ein sich ausbildender postzygotischer Isolationsmechanismus zwischen zwei solchen Populationen weniger stark ausgeprägt sein kann, wenn die beiden betrachteten Populationen eine größere räumliche Distanz zueinander aufweisen als zu einer dritten Population, die zu einer der beiden anderen eine weitaus geringere geographische Distanz hat (S. 112). Räumliche Distanzen können also keinen Aufschluss über die biologische Fitness von Populationshybriden geben.

Die Validität der Daten für die Embryonalentwicklung wird durch nahezu identische Daten der ersten, zweiten und dritten Filialgeneration bestätigt. Lediglich in der zweiten Filialgeneration konnte, wie oben beschrieben, eine geringe Verlangsamung der Embryonalentwicklung beobachtet werden. In Bezug auf die Entwicklungsgeschwindigkeit im Jahr der Ablage, sowie bis zu drei Jahre lang nach Ablage der Eier, zeigten viele Populationen Unterschiede in der Embryonalentwicklung. Bereits von Gottwald et al. (2002) wurde festgestellt, dass nicht nur Umweltfaktoren wie die Tageslichtlänge, die auf das Weibchen einwirkt, und die Temperatur, der die Eier ausgesetzt sind, einen Einfluss auf die Entwicklungsgeschwindigkeit haben, sondern dass endogene Einflüsse maternellen Ursprungs eine wesentliche Rolle spielen müssen. Auch Hockham et al. (2001) fanden bei Weibchen der Rebensattelschrecke *Ephippiger ephippiger*, dass tendenziell weniger Eier am Ende der Ablageperiode abgelegt wurden, welche noch vor der Winterpause ihre Entwicklung vollendeten. Alle Tiere aber legten vor dem Ende der Ablageperiode Eier, die sich unterschiedlich schnell entwickelten, obwohl sie gleichen Umweltbedingungen ausgesetzt waren. Eine solche Situation ist auch bei Weibchen von *B. serricauda* anzutreffen.

Da alle Weibchen und auch die abgelegten Eier denselben Umwelteinflüssen ausgesetzt waren, muss in der registrierten unterschiedlichen Entwicklung der Populationen dieser endogene Einfluss zum Tragen gekommen sein. Somit konnte eine divergierende Entwicklung in den untersuchten Populationen nachgewiesen werden, die vermutlich erblich gesteuert wird. Die geographische Lage der Populationszuchten lässt dabei, anders als Mousseau & Roff (1989) für Populationen der Grille *Alonemobious fasciatus* feststellen konnten, keinerlei Rückschlüsse auf die Entwicklungsgeschwindigkeit der Embryonen zu: Nördliche Populationen entwickeln sich nicht grundsätzlich anders als südliche Populationen. Vielmehr lässt sich keinerlei Zusammenhang zwischen bspw. Höhenlage oder Breitengrad des Habitats und der Entwicklung unter standardisierten Bedingungen feststellen. Auch kleinräumig können Populationen eine sehr unterschiedliche Embryonalentwicklung aufweisen (S. 86 und 99), wie z. B. die Populationen *Ossenfeld I* und *Ossenfeld II*, zwischen denen sich eine bis in das späte Mittelalter nachzuweisende landwirtschaftliche Nutzfläche mit einer Distanz von etwa 500 m befindet. Auch Boake et al. (2003) fanden zwischen Laborstämmen von *Drosophila melanogaster* Unterschiede in der relativen Überlebensrate der Larven, sowie isolierende Barrieren durch unterschiedliche Verhaltensweisen der Adulti. Die Entstehung von Unterschieden durch genetische Drift in Laborpopulationen wird allerdings von Florin & Ödeen (2002) angezweifelt, indem sie unterstellen, dass die getesteten Populationen zu klein gewesen seien, dass Testergebnisse offenbar stark von der Durchführung des Experiments beeinflusst waren sowie, dass undefinierte ungünstige Bedingungen bei der Partnerwahl in diesen Zuchten einen größeren Einfluss hatten. Die untersuchten *B. serricauda*-

Populationen sind jedoch nur bis maximal zur vierten Generation im Labor gezüchtet worden; Unterschiede traten schon in der ersten Filialgeneration auf.

4.3 Postembryonalentwicklung

Die Absterberate während des Schlupfes war in den Populationen unterschiedlich. Besonders die Population *Scheden* wies im Vergleich zu den anderen Populationszuchten eine erhöhte Absterberate der Entwicklungsstadien, auch in der Inzuchtlinie, auf. Allerdings resultierten die prozentual teilweise hohen Absterberaten aus den in einigen Populationszuchten geringen Nachkommenszahlen, sodass Aussagen für solche Populationen eine geringere Aussagekraft besitzen, als für Populationszuchten, in denen mehr Tiere nachgezüchtet werden konnten.

Fehlbildungen nachgezüchteter Tiere, wie deformierte Gliedmaßen nach Häutungen, traten nur ausnahmsweise auf. Diese müssen als Artefakte der Laborhaltung bewertet werden. Hervorgerufen wurden sie v. a. durch Reinigung des Zuchtbehältnisses oder Auswechseln der Nahrungspflanzen während einer Häutung. In keiner Populationszucht traten Fehlbildungen auf, die so wie bei Faltern (Saccheri et al. 1998) auf verminderte biologische Fitness hindeuteten.

Die registrierten Unterschiede in der Schlupfrate entsprechen den schon besprochenen Unterschieden in der Embryonalentwicklungsgeschwindigkeit. Grundsätzlich muss festgestellt werden, dass Tiere, sobald sie sich zum zweiten Entwicklungsstadium gehäutet haben, in ihrer Postembryonalentwicklung nur noch einem sehr geringen Sterberisiko ausgesetzt sind. Dabei war es unerheblich, aus welcher Population die Individuen stammten. Eine nachweisbare Reduktion der absoluten Überlebensfähigkeit einer allerdings erfolgreich in Zucht genommenen Gesamtpopulation (durch Inzuchtdepression) konnte in keinem Versuchansatz gefunden werden, sodass in Bezug auf *B. serricauda*-Populationen ein anderes Ergebnis vorliegt als bei Laborstämmen von *Drosophila melanogaster* (Boake et al. 2003), deren Zuchtstämme seit etwa 1100 Generationen isoliert waren.

Populationshybriden der ersten Filialgeneration starben vergleichsweise häufig direkt nach ihrem Schlupf, was auf eine geringere biologische Fitness als bei reinen Populationszuchten unter gleichen Zuchtbedingungen schließen lässt. In den Folgegenerationen war die Absterberate zwar nicht mehr so hoch. Allerdings wurde hier nur mit den Tieren der ersten Filialgeneration weitergezüchtet, die eine geringe Absterberate aufwiesen; hier wurde also eine künstliche Zuchtwahl getroffen. Überliegende Eier der F_1-Generation von Populationshybriden zeigten eine im stärkeren Maße verminderte Überlebenswahrscheinlichkeit (S. 126). Die Inzuchtlinien wiesen dagegen keinerlei Beeinträchtigungen in ihrer biologischen Fitness auf. Auch in der Entwicklungsgeschwindigkeit zeigten ingezüchtete Tiere keine Benachteiligung gegenüber Tieren aus den Populationszuchten. Bei einigen Populationshybriden kam es allerdings gegenüber den Populationszuchten zu einer verzögerten Entwicklung.

4.4 Bioakustik

Männliche Tiere von *B. serricauda* stridulieren zur Partnerfindung im Ultraschallbereich mit einem Frequenzspektrum von 20-35 kHz und einem Maximum bei etwa 25-30 kHz (Heller 1988). Wird ein Männchen von einem zur Kopulation bereiten Weibchen gehört, so antwortet Letzteres. Bei *B. serricauda* fehlt allerdings die bei anderen *Barbitistes*-Arten klar abgesetzte Trigger-Silbe des Männchens, auf welche die Weibchenantwort folgt. Bei dieser Art antwortet das Weibchen nach der ersten Silbe der zweiten oder dritten Silbengruppe (Stumpner & Meyer 2001). Die Zeitintervalle zwischen den Silben sind wichtig für die Partnerfindung. Eine Reaktion des Weibchens auf ein Männchen erfolgt allerdings nur, wenn die Distanz zwischen den beiden Tieren nicht zu groß ist. Unter Laborbedingungen kann diese Distanz maximal zwölf Meter betragen, im Freiland wurden von Wörner (1995) neun Meter ermittelt.

Die unterschiedliche Häufung der gemittelten Zeitintervalle zwischen den Populationen lässt – allerdings nur tendenziell – zeitliche Unterschiede im Gesangsmuster erkennen.

Der zeitliche Abstand zwischen den Silben, ein aufgrund der Weibchenantwort mutmaßlich entscheidender Parameter, ist zwischen einzelnen Populationen in den gemittelten Werten deutlich unterschiedlich. Dennoch ist die Variationsbreite zwischen Individuen einer Population so hoch, dass sich aus der Betrachtung eines Intervallhistogramms nicht die Herkunft eines Tieres erschließt. Auch die diesbezüglich untersuchten Erdbeerfrösche *Dendrobates pumilio* zeigten für den Parameter Pulsrate eine sehr große Varianz innerhalb von Populationen (Pröhl et al. 2007). Eine derart große Variationsbreite dieses Merkmals deutet darauf hin, dass es keinen deutlichen Selektionsvorteil für einen bestimmten Zeitabstand innerhalb des für die Art typischen Zeitmusters zwischen vorgetragenen Silben des Männchens gibt. Stumpner & Meyer (2001) zeigten, dass hier auch keine wesentlichen Unterschiede zwischen untersuchten Tieren der Arten *B. serricauda* und *B. constrictus* bestehen, wobei allerdings ein grundlegender Unterschied der Gesänge beider Arten darin begründet ist, dass bei *B. serricauda* die klar abgesetzte Triggersilbe fehlt.

Auch die von Stumpner & Meyer (2001) beschriebene „Extrasilbe“, die manche Männchen zu einem Zeitpunkt produzieren, an dem auch eine Weibchen-Antwort erfolgen könnte, scheint keinen wesentlichen Einfluss auf die Partnerfindung zu haben. In allen Populationen waren sowohl Tiere zu beobachten, die eine Häufung von Zeitintervallen unter 100 ms aufwiesen – somit also vermutlich eine solche „Extrasilbe“ produzieren, als auch Tiere, bei denen keinerlei solche Zeitintervalle zu registrieren waren.

Populationen von *B. serricauda* bestehen im Freiland in der Regel aus wenigen Individuen. Die Männchen verpaaren sich unter Laborbedingungen maximal viermal, Weibchen maximal dreimal im Laufe ihres Lebens. Die Erklärung der

„Extrasilbe“ mit einer simulierten Konkurrenzsituation, also eines intrasexuellen Selektionsdruckes, wie von Stumpner & Meyer (2001) beschrieben, ist plausibel. Das gleichzeitige Auftreten von Männchen, die vermutlich einen hohen Anteil dieser „Extrasilben“ aufweisen, in einer Population mit Tieren, bei denen keinerlei „Extrasilben“ registriert werden konnten, deutet aber an, dass dieses Merkmal breit gestreut ist und dass somit hierauf kein gerichteter Selektionsdruck lasten kann, der ja gerade in sehr kleinen Populationen schnell zum Tragen kommen müsste. Diese These wird unterstützt durch den Umstand, dass in der vorliegenden Untersuchung keine antwortenden Weibchen in der Nähe waren. Stumpner & Meyer (2001) hatten bei diesen Wechselgesängen eine zusätzliche Silbe häufiger beobachtet als bei isoliert singenden Männchen.

Zwar ist denkbar, dass auch Zeitintervalle zwischen den Strophen von Bedeutung für die Partnerfindung sind, weil die Weibchenantwort nicht bereits in der ersten Silbengruppe erfolgt. Die hier gefundenen Unterschiede zwischen den diesbezüglich untersuchten Populationen waren signifikant. Doch kann der Zeitabstand zwischen Silben ebenso wie zwischen den Strophen bei einzelnen Tieren einer Population variabel sein. Die große Variabilität dieser beiden Merkmale deutet an, dass diese Parameter zur ersten akustischen Lokalisation zu Beginn des Partnerfindungsprozesses dienen, also dass beide Merkmale primär für die Arterkennung wichtig sind. Der Gesang von *B. serricauda* trägt also wahrscheinlich zur Kontaktaufnahme über größere Distanzen bei.

Im weiteren Verlauf der Partnerwahl, die hauptsächlich durch das Weibchen entschieden wird, verliert der Gesang des Männchens offenbar an Bedeutung: In unmittelbarer Nähe zum Männchen wird der direkte Kontakt für die Tiere wichtig. Hier muss vor allem das vom Männchen durch eine Rückendrüse ausgeschiedene Sekret zur Entscheidungsfindung beitragen; Weibchen fressen das vom Männchen ausgeschiedene Sekret stets vor einer Kopulation, können sich daran anschließend aber auch gegen eine Kopulation mit dem Männchen entscheiden (siehe auch Kapitel 4.5).

In Bezug auf das akustische Partnerfindungssystem von *B. serricauda* wurden keine Hinweise auf eine sich entwickelnde prägame Isolation verschiedener Populationen gefunden.

Die hohe Artenvielfalt mit deutlichen Unterschieden in den Gesangsmustern bei verschiedenen Orthopteren deutet auf eine potenziell hohe Evolutionsgeschwindigkeit der akustischen Signale hin. Hier hat sich insbesondere die zeitliche Strukturierung des Gesangs als wesentlicher Parameter zur Arterkennung und damit als prägamer Isolationsmechanismus herausgestellt (z. B. v. Helversen & v. Helversen 1975a, b, Ritchie 1992, Stumpner & v. Helversen 1994). So untersuchten Ritchie et al. (1997, 2001) sowie Oudman et al. (1990) die verwandtschaftlichen Beziehungen von Arten und Unterarten der Gattung *Ephippiger* in deren Hybridisierungszone im Süden Frankreichs: Die Unterarten lassen sich sowohl genetisch als auch morphologisch voneinander abgrenzen und weisen Unterschiede im Gesang der Männchen auf. Dabei ist ein wichtiger Bestandteil

von Artbildungsprozessen in sich geschlechtlich fortpflanzenden Populationen die sexuelle Selektion. Bei Spezies, bei denen die Lauterzeugung zur Partnerfindung dient, können Unterarten oft am zuverlässigsten durch den charakteristischen Gesang unterschieden werden (Ritchie & Gleason 1995). Auch wird die Evolutionsrate insbesondere unter dem Einfluss sexueller Selektion erhöht (z. B. v. Helversen & v. Helversen 1994, Ritchie et al. 1997).

Die beobachteten Unterschiede der gemittelten zeitlichen Intervalle des männlichen Werbegesangs der einzelnen Populationen sind bei *B. serricauda* jedoch eher auf Drift denn auf sexuelle Selektion zurückzuführen. Die Weibchen haben wahrscheinlich kein so enges Präferenzspektrum bezüglich der akustischen Kommunikation, wie das Verhalten der Weibchen bei dem unmittelbaren Kontakt zu Männchen vermuten lässt; Merkmalsverschiebungen bei den Zeitmustern der akustischen Signale fallen nicht so stark ins Gewicht. Hinzu kommt, dass in den Wildpopulationen aufgrund der geringen Individuenzahlen die Weibchen in der Regel nicht zwischen vielen Männchen wählen können. Männchen geographisch entfernter Populationen dürften nur in Ausnahmefällen in Konkurrenz zu Männchen der lokalen Population treten, sodass anzunehmen ist, dass kein intersexueller Selektionsdruck auf dem Merkmal Gesang vorliegt. Ähnliches wurde auch für Anuren (Schul & Bush 2002) beschrieben. Hier konnten Merkmalsveränderungen dokumentiert werden, die eher zufällig entstanden, anstatt durch sexuelle Selektion hervorgerufen zu werden. Eine unterschiedliche Evolution von Populationen ergab sich aus der zufälligen Kombination variabler Merkmale in (bestimmten) Individuen zu bestimmter Zeit. Neue Arten können bei Grundlegung derartiger Untersuchungen (und entsprechendem Theorierahmen) demnach auch als zufälliges Produkt entstehen.

Die Situation bei *B. serricauda* dürfte ähnlich gelagert sein: Der Gesang der Männchen ist in gewissen Grenzen variabel und spielt bei der letzten Entscheidung über die Akzeptanz des Kopulationspartners keine tragende Rolle. Tendenzielle Verschiebungen der zeitlichen Intervalle sind ein Zufallsprodukt und auf genetische Drift zurückzuführen. Auch Ritchie & Garcia (2005) vermuten, dass Änderungen des Gesangs, untersucht an Grillen der Gattung *Laupala*, nicht nur durch sexuelle Selektion, sondern auch durch unterschiedliche Habitatbedingungen oder durch genetische Drift in einzelnen Populationen zu einer schnellen Artbildung führen können. Der Gesang dient bei *B. serricauda* wahrscheinlich beiden Geschlechtern in erster Linie der Phonotaxis in komplexen Habitaten, jedoch nur bis zu 12 m Distanz (Wörner 1995). Diese Interpretation wird gestützt durch die Ergebnisse der Partnerwahlversuche, in denen eine mögliche Kombination von Tieren aus Populationen mit verschiedenen Zeitintervallen untersucht wurde; es war kein Zusammenhang zwischen erfolgter Partnerwahl und gleichen bzw. von der Herkunftspopulation des Weibchens verschiedenen Gesangsintervallen der Männchen erkennbar. Es bliebe zu untersuchen, welche Rolle das Sekret, welches von den Männchen ausgeschieden wird, bei der Wahl des Weibchens zwischen zwei Männchen spielt (siehe auch Kapitel 4.5).

4.5 Partnerwahl

Die geringe Rate erfolgreicher Verpaarungen in den Partnerwahlversuchen ist wahrscheinlich im Zusammenhang mit den Haltungsbedingungen im Labor vor dem Einsatz der Tiere in den Versuchen zu interpretieren. Obwohl selten mehr als zehn Tiere zusammen in einem Käfig aufgezogen wurden, sind dennoch Dichten erreicht worden, wie sie im Freiland wahrscheinlich höchst selten vorkommen. Tiere der Nachzuchten waren, vermutlich bedingt durch Stress, auch stets wesentlich stärker pigmentiert als die ursprünglich dem Freiland entnommenen Wildtiere, die die Zucht begründeten. Eine stärkere Pigmentierung bis zu fast gänzlich schwarzen Tieren ist auch bei *B. constrictus* zu beobachten, wenn diese Tiere in großen Dichten gehalten werden. Auch bei Massenauftreten von *B. ocskayi* sind die sonst grünlich gefärbten Tiere schwarz gefärbt, sodass Bellmann (1993) diese Erscheinung in Anlehnung an Gradationen bei Wanderheuschrecken als Massenphase bezeichnet.

Wenn hohe Abundanzen erreicht werden, ist auch bei *B. serricauda* eine deutliche Tendenz zu dunklen Tieren zu erkennen. Möglicherweise pflanzen sich bei hohen Dichten nicht alle Weibchen fort oder die Reproduktionsrate ist vermindert, wie es auch bei Wildfängen aus Populationen zu beobachten war, aus denen verhältnismäßig viele Tiere gefangen und im Labor gehältert werden konnten.

Eine weitere mögliche Erklärung für die Beobachtung, dass sich einige Individuen nicht am Reproduktionsprozess beteiligen, wäre auch eine Anpassung von *B. serricauda* an niedrige Populationsdichten, die in der besonderen Habitatbindung begründet ist. Eine starke Vermehrung dieser Waldart erscheint nur bei Windbruch sinnvoll. Hier bietet die entstandene Freifläche mit anschließender Sukzession ein sehr differenziertes Habitat und damit die Möglichkeit für *B. serricauda*-Populationen, sich entlang des Windbruchs auszubreiten (siehe auch Kapitel 4.7). Ist die Möglichkeit nicht mehr gegeben, z. B. durch Schließung der im Hochwald entstandenen Lücke, sind hohe Individuendichten zum Erhalt der Population nicht mehr erforderlich. Kleine Populationen besitzen den Vorteil, eventuell nicht attraktiv für beispielsweise parasitoide Schlupfwespen zu sein; bei keinem der dem Freiland entnommenen Tiere konnte ein Befall mit Parasitoiden festgestellt werden. Einige Weibchen nahmen unter Laborbedingungen nicht am Reproduktionsprozess teil, obwohl die Tiere über voll entwickelte Ovarien verfügten. Das könnte an den für diese Art verhältnismäßig hohen Dichten in den Zuchtbehältern liegen. Werden bei stärkerer Vermehrung im Freiland höhere Dichten erreicht, kann ein ähnlicher Effekt eintreten. Hierfür wäre auch der Melanismus bei hohen Dichten ein Indiz. Stark pigmentierte Tiere, wie sie teilweise in den Laborzuchten auftreten, sind üblicherweise im Freiland nicht zu finden. Die Beobachtung an der Lokalität *Knutbühren* (s. u.) würde diese Theorie stützen.

Auch Boake (1984) machte in Wahlversuchen mit Grillen der Art *Amphiacusta maya* die Beobachtung, dass einige weibliche Tiere sich nicht verpaarten. Hier

wurden fehlgeschlagene Partnerwahlversuche durch einen absoluten internen Referenzstandard des Weibchens für einen potenziellen Partner erklärt, der auf die im Versuch angebotenen Tiere nicht zutraf. Bei misslungenen Wahlversuchen mit *B. serricauda*-Weibchen wurden allerdings die Männchen auch wiederholt ausgetauscht. Es kam jedoch auch dann nicht zu einer Verpaarung. Für *B. serricauda* erscheint deshalb ein internes Referenzsystem nicht als eine wahrscheinliche Erklärung für fehlgeschlagene Wahlversuche.

Bei der gegebenen genetischen Isolation der untersuchten Teilpopulationen von *B. serricauda* und den geringen Individuendichten innerhalb der Populationen ist zunächst zu vermuten, dass Weibchen bei Wahlversuchen eine deutliche Präferenz für Männchen aus der eigenen Population zeigen. Immerhin liegen die in der RAPD-Analyse ermittelten genetischen Distanzen nach Nei, die den Wahlversuchen zugrunde gelegt wurden, zum Teil über dem Wert von 0,16 und damit nach Thorpe (1982) teilweise auf Artniveau – die Bandbreite der ausgewählten paarweisen Distanzen liegt zwischen 0,0712 für die Distanz zwischen den Populationen *Hasbruch* und *Göttinger Wald* und 0,2881 für die Distanz zwischen den Populationen *Bad Laer* und *Oberkatzbach*. Die Mehrzahl (66 %) der in den Versuchen eingesetzten Weibchen bevorzugte dennoch das populationsfremde Männchen. Dies zeigt zunächst einmal deutlich, dass sich bei *B. serricauda* – zumindest in den untersuchten Populationen – kein allgemeiner prägamer Isolationsmechanismus entwickelt hat, der bereits auf Populationsniveau zum Tragen kommt. Eine Erklärung für das bei erster Betrachtung überraschende Ergebnis liegt in der Biologie der Art begründet. Im Freiland leben die Tiere in der Regel in Populationen, die weniger als 15 Individuen umfassen. Es ist deshalb davon auszugehen, dass alle Individuen mehr oder weniger eng miteinander verwandt sind. Sollte sich einem Weibchen die Gelegenheit bieten, zwischen unterschiedlichen Männchen zu wählen, könnte die Wahl auf das von ihm selbst am meisten abweichende Individuum fallen, ähnlich wie es bei Säugetieren während des Partnerfindungsprozesses beobachtet werden konnte (Milinski 2006). Hierfür spricht auch, dass die Weibchen in den Wahlversuchen offensichtlich nicht nur die Werbegesänge des Männchens als Entscheidungskriterium herangezogen haben. Es ließ sich auch beobachten, dass sie vor der Kopulation von dem aus der Rückendrüse des Männchens austretenden Sekret fraßen. Dieses Verhalten zeigten die Tiere nicht nur, wie von Harz (1956) beschrieben, während der Kopulation, sondern auch schon in der Entscheidungsfindungsphase. Die Auswahl eines Männchens, was sich von dem Weibchen möglichst stark unterscheidet, wäre sinnvoll, um mögliche Folgen einer in solchen Populationen grundsätzlich nicht zu umgehenden Inzucht abzufedern. Eine gerichtete Partnerwahl führt nach Blachford & Agrawala (2006) grundsätzlich zu Vorteilen für die genetische Diversität, wenn möglichst viele rezessive Allele in der Population erhalten werden. Wird also im Wahlversuch dem Weibchen ein potenzieller Kopulationspartner zur Wahl angeboten, der aus einer Population stammt, mit der unter natürlichen

Bedingungen kein genetischer Austausch stattfindet, kann dieser attraktiver sein. Besonders deutlich fällt dies in der Population *Bad Laer* aus (S. 143).

Die Ergebnisse der Partnerwahlversuche deuten allerdings auch an, dass Weibchen verschiedener Populationen ein unterschiedliches Präferenzverhalten zeigen können. Weibchen der Population *Ludolfshausen* zeigten eine Präferenz für das mit ihnen verwandte Männchen der eigenen Population. Die in dieser Versuchskonstellation angebotenen populationsfremden Männchen aus *Ebersberg* waren aus der geographisch am weitesten entfernten Population.

Diese Ergebnisse zeigen zudem, dass die Befunde aus den Wahlversuchen sich nur eingeschränkt verallgemeinern lassen. Allerdings ist zum Beginn einer Diversifikation von Populationen nicht davon auszugehen, dass sich eine Population von allen anderen Populationen gleichermaßen separiert. Es ist eher zu erwarten, dass eine Verpaarung mit bestimmten anderen Populationen erfolgreich ist und eine andere Konstellation wiederum nicht (siehe auch Kapitel 3.2).

Es lässt sich schlussfolgernd also kein Zusammenhang herstellen zwischen der Partnerwahl der Weibchen, der Häufigkeitsverteilung von Zeitintervallen des Werbegesangs, der geographischen Nähe und den in der RAPD-Analyse (oder den Daten der AFLP-Analyse, die bei der Zusammenstellung der Partnerkombinationen in den Wahlversuchen noch nicht vorgelegen haben) ermittelten Distanzwerten. Dies deutet darauf hin, dass sich isolierte Teilpopulationen von *B. serricauda* auch verhaltensbiologisch divergierend entwickeln. Zwar wurde von den Weibchen der Population *Ludolfshausen* das populationseigene Männchen vor dem der Population *Ebersberg Weg* knapp mehrheitlich bevorzugt. Die Weibchen der Population *Bad Laer* etwa zeigten aber eine deutliche Präferenz für Männchen der Lokalität *Knutbühren*, welche etwa 250 km von *Bad Laer* entfernt ist. Die genetische Distanz, ermittelt durch die RAPD-Analyse, zwischen Tieren der Populationen *Ebersberg Weg* und *Ludolfshausen* lag mit einem F_{ST}-Wert von 0,2412 etwa auf dem gleichen Niveau wie die Distanz zwischen den Populationen *Bad Laer* und *Knutbühren* (F_{ST} = 0,2524). Doch es konnten auch Verpaarungen zwischen Tieren festgestellt werden, die noch erheblich höhere Distanzwerte aufwiesen. Wurden Weibchen der Population *Bad Laer* Männchen der Population *Oberkatzbach*, also einer Population aus dem Alpenvorland, angeboten, fiel die Präferenz nicht mehr deutlich zugunsten der populationsfremden Männchen aus. In der umgekehrten Versuchsanordnung hingegen bevorzugten alle Weibchen die angebotenen Männchen der Population *Bad Laer* gegenüber den eigenen Männchen. Hier wird deutlich, dass eine Separierung zwischen Populationen auch zu einem unterschiedlichen Präferenzverhalten bei den Geschlechtern führen kann.

Bei direkter Kontaktaufnahme verliert der Gesang an Bedeutung (vgl. Kapitel 4.4). Bei dieser Art spielt offenbar die chemische Komponente über Kontakt zum Drüsensekret des Männchens eine tragende Rolle. Es konnte oft beobachtet werden, dass es nach einer solchen Kontaktaufnahme trotzdem nicht zur Verpaarung kommt. Dass die olfaktorische Komponente eine tragende Rolle bei der

Partnerwahl spielt, vermuten auch Mendelson & Shaw (2006), da sie bei Grillenweibchen der Gattung *Laupala* feststellen konnten, dass Präferenzen nicht nur auf einer unterschiedlichen Pulsrate des Männchengesangs beruhen konnten.

Prägame Isolationsmechanismen zwischen Populationen von *B. serricauda* sind also nicht entstanden – nimmt man die Population *Ludolfshausen* aus, in welcher die Weibchen zwar eine Präferenz für die populationseigenen Männchen zeigten; wobei auch nach Kopulationen mit populationsfremden Männchen sich entwickelnde Eier abgelegt wurden. Die Ergebnisse der Überlebenswahrscheinlichkeitsversuche hingegen weisen gerade für die Populationen, in denen die Weibchen deutlich das populationsfremde Männchen bevorzugten, eine stark verminderte biologische Fitness im Vergleich zu den Kontrollzuchten auf, sodass offenbar postgame Isolationsmechanismen in der Entstehung sind.

4.6 Biometrie und Morphologie

Bei divergierender Entwicklung lokal isolierter Populationen – also auch bei Speziationsprozessen – ist nach Köhler (2000), der sich auf Beobachtungen von Dempster (1991) an isolierten Vorkommen von Schmetterlingen stützt, auch bei Heuschrecken zuerst mit Abweichungen in den Größenverhältnissen zu rechnen. Zur Ermittlung solcher Unterschiede bei Heuschreckenpopulationen schlägt Köhler (2000) den Vergleich morphologischer Parameter, wie z. B. der Beinlängen, vor.

Zwischen einigen *B. serricauda*-Populationen konnten Unterschiede gefunden werden, die unter standardisierten Haltungsbedingungen bei einem Genfluss zwischen Populationen nicht zu erwarten wären. Selbst zwischen geographisch dicht beieinander liegenden Populationen, etwa *Ludolfshausen* und *Scheden*, ließen sich verhältnismäßig große Unterschiede finden. Auch die abgelegten Eier wiesen eine unterschiedliche Länge auf. Dass sowohl die Maße der Eier als auch die der Individuen der F_1- und F_3-Generation innerhalb der jeweils betrachteten Population die gleiche Größe unter den standardisierten Bedingungen erreichten, weist eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse für die unterschiedlichen Populationen aus (S. 136 und 143).

Bemerkenswert ist die starke Größenveränderung in der dritten Filialgeneration aus *Ludolfshausen* im Vergleich zu der F_1-Generation, aber auch zur Inzuchtlinie. Dass sich Veränderungen im Größenwachstum bei den Tieren relativ schnell vollziehen können und bereits zwei Generationen später größere Tiere auftauchen und Kleinstpopulationen dominieren können, wird dadurch bewiesen, dass sowohl die Eier dieser Tiere, als auch die Adulti (auch wenn nur wenige herangezogen werden konnten) im Vergleich zu der ersten Filialgeneration signifikant größer waren. In den anderen Populationen, die bis zur dritten Filialgeneration gezüchtet wurden, erreichten die Tiere in etwa die gleiche Größe wie in der ersten Filialgeneration (S. 133).

Bei Populationshybriden konnte kein signifikanter Größenunterschied zur Herkunftspopulation des weiblichen Elterntieres festgestellt werden, wohl aber zur Herkunftspopulation des männlichen Elterntieres, wenn auch die Herkunftspopulationen unterschiedlich große Individuen hervorbrachten (S. 134). Der Einfluss des weiblichen Elterntieres auf das Größenwachstum der Nachkommen ist demnach größer als der von den männlichen Elterntieren. Allerdings legten alle diesbezüglich untersuchten weiblichen Tiere, die mit einem populationsfremden Männchen verpaart wurden, signifikant kleinere Eier ab als Weibchen, die mit einem Männchen der eigenen Population verpaart wurden. Da Populationshybriden auch oft (Kapitel 3.3.2.6 und 3.2.10) eine geringere Fitness aufwiesen, deutet sich auch hierdurch eine nachteilige Entwicklung an. Populationshybriden der dritten Filialgeneration, die aus fortgeführten Verpaarungen mit anderen Populationshybriden hervorgegangen waren, legten jedoch im Vergleich zur ersten Filialgeneration wieder größere Eier. Hier wurde allerdings nur mit Tieren weitergezüchtet, die eine gute Überlebenswahrscheinlichkeit aufwiesen. In der ersten Generation wurden im Vergleich zur dritten Generation verhältnismäßig viele Eier in die Messungen einbezogen, aus denen Tiere schlüpften, die im Folgenden nicht am Reproduktionsprozess teilnahmen. Die Ablage größerer Eier geht also mit einer Verbesserung der Überlebenswahrscheinlichkeit einher.

Die Inzuchten weisen weder bei der Größe der Eier noch bei der Länge der Posttibiae und Postfemura der adulten Individuen Unterschiede zu den Populationszuchten auf. Eine – möglicherweise – stärkere Inzucht als in den Populationszuchten führt also offensichtlich, im Gegensatz zu Verpaarungen mit populationsfremden Tieren, nicht zu (negativen) Konsequenzen in Bezug auf die Körpergröße oder Eilänge (S. 134). Es ist anzunehmen, dass einige der untersuchten Populationen folglich besser unter Inzucht existieren können als unter Zuwanderung populationsfremder Tiere. Dies ist ein weiterer Hinweis auf die Anpassung an eine Existenz in kleinen ingezüchteten Populationen und darauf, dass ein genetischer Austausch zwischen Populationen nicht in allen Tiergruppen notwendigerweise von Vorteil ist.

Zwischen den Populationen konnten außer der Größe keine eindeutigen morphologischen Unterschiede festgestellt werden. Merkmale, wie sie von Galvagni & Fontana (1992) zur Artbeschreibung eines Männchens von *B. vicetinus* gebraucht wurden, v. a. die Furchung des Pronotums, erwiesen sich bei Tieren auch innerhalb der untersuchten Populationen als variabel. Die Unterschiede in den lokalen Populationen weisen somit trotz der genetischen Isolation auf eine Variabilität in den Populationen hin. Dass sich allerdings Merkmale in den Populationen aufgrund der geringen Individuendichte auch durchsetzen können, zeigt der gerade verlaufende hintere Rand des Pronotums bei fast allen Individuen der Population *Bad Lauterberg.* Zwar wiesen einige Tiere der Nachzucht nur eine schwach erkennbare Einkerbung auf, bei den meisten Tieren dieser Population

war dieses Merkmal aber deutlich ausgeprägt. Andere Populationen aus dem norddeutschen Raum zeigten dieses Merkmal überhaupt nicht.

Die zwischen den untersuchten Populationen signifikanten Unterschiede in der Morphologie lassen sich bei *B. serricauda* wahrscheinlich nicht auf unterschiedlichen Selektionsdruck in den verschiedenen Habitaten zurückführen, wie es z. B. bei den Artbildungsprozessen der lebendgebärenden Zahnkarpfen *Gambusia hubbsi* in isolierten Populationen zu finden war (Langerhans et al. 2007). In Habitaten von *B. serricauda*-Populationen, v. a. in denen im südniedersächsischen Raum, sollten Selektionsfaktoren nicht gravierend voneinander abweichen. Hier ist vielmehr davon auszugehen, dass die gefundenen Unterschiede auf genetischer Drift beruhen. Ein direkter Einfluss von (abiotischen) Faktoren des Habitats, die zu Unterschieden in der Körpergröße der Individuen führen können, wie Brown & Thorpe (1991) ihn für die kanarische Echse *Chalcides sexlineatus* (*Scincidae*) in verschiedenen Populationen nachgewiesen haben, wurde durch die unter gleichen Bedingungen gehaltenen Tiere weitestgehend ausgeschlossen. Dass eine große genetische Diversität nicht unbedingt mit morphologisch differenzierten Populationen einhergehen muss, konnten Martínez–Solano et al. (2007), allerdings bei Salamandern der nordamerikanischen Art *Batrachoseps attenuatus*, zeigen.

4.7 Habitat und Populationsstruktur

Die Bestimmung der Populationsgrößen mittels einer auf die Biologie dieser Art abgestimmten Methodik (mehrmalige Begehungen und Entnahme aufgefundener Entwicklungsstadien, Kontrolle mittels Ultraschalldetektor) führte zur Annahme geringerer Populationsgrößen als sie bei Keller & Waller (2002) für Untersuchungen zu Auswirkungen einer Inzucht auf Populationen zusammengefasst wurden. Populationen von *B. serricauda* entsprechen somit zwar nicht dem Konzept der „*Minimum viable population*" (MVP), das in der Regel von mehreren Hundert Individuen ausgeht. Dennoch können offenbar viele Populationen überleben und sterben nicht aus. Auch Swindell & Bouzat (2006) stellen fest, dass der in Laborzuchten beobachtete Rückgang der Überlebenswahrscheinlichkeit, der mit einer Inzuchtdepression in Zusammenhang gebracht wird, in frei lebenden kleinen Populationen nicht immer beobachtet wurde. Dies sei auf den im Habitat herrschenden Selektionsdruck zurückzuführen.

In reinen Rotbuchenbeständen kann *B. serricauda* über weite Strecken (einige 100 m) fehlen, bei einer Änderung der Vegetationsstruktur jedoch wieder gefunden werden. Die Rotbuche stellte wahrscheinlich den ersten Faktor bei der Fragmentierung eines für die Art vorher günstigen Lebensraumes dar. Aufgrund der Einstufung von *B. serricauda* als kühl-stenotherme Art und weiterer autökologischer Befunde (Gottwald et al 2002), kann die Hypothese aufgestellt werden, dass *B. serricauda* vor der Rotbuche in das Gebiet, welches heute als ihr nördliches Verbreitungsgebiet angesehen wird, eingewandert ist. Dass es durch die be-

ginnende Fragmentierung und die darauf folgende Inzucht in kleinen Populationen zu einer Einschränkung der Mobilität von Individuen kam, wie es von Dempster (1989) für allerdings sehr viel mobilere Schmetterlinge konstatiert wurde, kann als relativ unwahrscheinlich angesehen werden. Eine Einschränkung der Mobilität ging bei den Faltern einher mit dem Verlust von Habitaten. In den im Labor durchgeführten Versuchen einer gezielten Inzucht kam es bei *B. serricauda* jedoch nicht zu einer Reduktion der Körpergröße, was bei den Schmetterlingen, einhergehend mit eingeschränkter Mobilität, zu beobachten war.

Die Fähigkeit kleiner Populationen, sich bei veränderten Bedingungen im Habitat kurzfristig zu vergrößern, deutet auf eine Anpassung an das Leben im Hochwald hin. Hier werden unter natürlichen Bedingungen, durch Windbrüche etwa, Lichtungen geschlagen. Eine sich rasch vergrößernde Population ist nun in der Lage, sich entlang dieser Schneise im Jungwuchs auszubreiten. Schließt sich die Vegetation, zerfällt die ursprünglich vorhandene Population in mehrere Subpopulationen. Sind in diesen Subpopulationen die Individuendichten hoch, nehmen möglicherweise nicht alle adulten Tiere am Reproduktionsprozess teil. Dafür spräche die Beobachtung, dass sich im Labor, wo sehr hohe Individuendichten in Bezug auf das Raumangebot erreicht werden, einige Tiere dem Reproduktionsprozess entziehen, obwohl sie vollständig ausgebildete Ovarien besitzen. In der Folge zerfällt die zuvor durch Zunahme der Individuenzahl vergrößerte Population wieder in mehrere kleinere Populationen mit nur gelegentlichem genetischen Austausch, wie die relativ hohen Distanzwerte etwa zwischen den Populationen *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung* andeuten.

In der Population *Knutbühren Bank* konnten zwei Jahre nach dem Zurückschneiden der Vegetation am dicht bewachsenen Waldrand verhältnismäßig viele Individuen an einer Lokalität aufgefunden werden, an der in fünf vorherigen Vegetationsperioden nur eine Kleinstpopulation existierte. Diese Veränderung des Habitats führte zwar zu höheren Abundanzen, aber nicht zu einer erhöhten Diversität innerhalb der Population. Dies spricht für eine nur kurzfristig höhere Individuendichte. Ähnliche Beobachtungen konnten von Gottwald (mündl. Mitt.) in den 1990er Jahren an einer stillgelegten Bahnstrecke, die durch ein Waldgebiet führte (Habitat der Population *Ossenfeld I*), gemacht werden. Hier war nach dem Rückbau der Schienen der Bereich des ehemaligen Gleisbettes mit niedrigen Sträuchern bewachsen, auf denen sich viele Entwicklungsstadien von *B. serricauda* finden ließen. Die Vegetation wuchs in den folgenden Jahren zu einem geschlossenen Wald aus, in dem nur noch punktuell Ansammlungen von wenigen Tieren, meist auf jungen Bäumen, aufgefunden wurden.

B. serricauda kann demnach vermutlich durch endogene maternelle Einflüsse auf die Embryonalentwicklung mit geringer zeitlicher Verzögerung auf Veränderungen im Habitat reagieren – bei Windbruch etwa ist anzunehmen, dass Weibchen Eier mit einer kürzeren Entwicklung ablegen. So können Kleinstpopulatio-

nen, die durch die ständige Dynamik ihres Lebensraums stochastischen Ereignissen unterworfen sind, das sehr hohe Aussterberisiko vermindern.

Es hat sicher in der Vergangenheit und in der Gegenwart immer wieder Aussterbeprozesse von Kleinstpopulationen und, bei der Existenz geeigneter Umweltbedingungen, auch Ausbreitungsprozesse gegeben, die gänzlich unabhängig vom Klima erfolgten und erfolgen. Kleinste Populationen können aber über längere Zeiträume existieren ohne von anderen Individuen erreicht zu werden. Diese Populationen zeigen zum Teil, vor allem in ihrer Ökologie, aber auch in ihrem Habitus – gemessen an der in verschiedenen Populationen erreichten unterschiedlichen Durchschnittsgröße der Individuen unter standardisierten Bedingungen – eine divergierende Entwicklung, auch wenn sich die morphologischen Unterschiede nicht in der Form ausprägen wie Oliver & Shapiro (2007) es bei Schmetterlingen der Art *Lycaena xanthoides* finden konnten. Es kann jedoch erst aus der Retrospektive bewertet werden, ob es sich hierbei um eine Speziation handelt.

Arten, die in solch kleinen isolierten Populationen wie *B. serricauda* vorkommen, können von den mutmaßlichen Auswirkungen der anthropogenen Veränderungen der Umwelt besonders betroffen sein, weil kleinen Populationen ein sehr hohes Aussterberisiko unterstellt wird. In diesem Zusammenhang werden die Folgen eines drohenden Klimawandels diskutiert. Wie aber die Arealexpansion der Nadelholz-Säbelschrecke deutlich macht, kann der Einfluss des Menschen auf Arten in verschiedener Weise erfolgen. *B. constrictus* (Angaben zur Biologie z. B. bei Haber 1953 und Gottwald et al. 2002) dürfte durch die anthropogen bedingte Ausbreitung der Fichte in Mitteleuropa und v. a. durch die Anpflanzung von Fichtenmonokulturen gerade die Möglichkeit zur Ausbreitung geboten worden sein. Die Tiere dringen rezent von Osten nach Westen vor; jüngere Arealexpansionen wurden von Strätz & Waeber (2003) beschrieben. Diese Laubheuschrecke, die ähnliche Reproduktionsraten aufweist wie *B. serricauda*, allerdings ein höheres Lichtbedürfnis hat – Entwicklungsstadien lassen sich zwar, ohne der direkten Sonneneinstrahlung ausgesetzt zu sein, aufziehen, reproduzieren jedoch nicht – konnte in der Vergangenheit in Fichtenbeständen Dichten erreichen, die zu erheblichen Schäden führten und als Gradation beschrieben wurden (z. B. bei Escherich 1940). Individuen von *B. constrictus* zeichnen sich durch eine etwa vergleichbare Mobilität wie die von *B. serricauda* aus. Gradationen und Arealerweiterung in kürzerer Zeit sind für diese Art nur in einem flächendeckend optimalen Habitat möglich. Haber (1953) beschreibt Massenvermehrungen dieser Heuschreckenart in Kiefernwäldern. Die rezente Ausbreitung dieser Art nach Westeuropa steht also vermutlich nicht mit einem Wandel der klimatischen Bedingungen ihres Lebensraumes im Zusammenhang, sondern dürfte vielmehr mit der anthropogenen Waldveränderung einhergehen.

Das Aussterberisiko isolierter Populationen steigt, wie Hoyle & James (2005) am Beispiel des Kleinschmetterlings *Pseudophilotes sinaicus* zeigten, mit zunehmen-

der Temperaturerhöhung der Umwelt stark an. Allerdings wiesen Zakharov & Hellmann (2007) darauf hin, dass v. a. bei Arten, die ihr Areal in Nord-Süd-Richtung erweitern, die Populationen am Rand des geschlossenen Verbreitungsgebiets je nach Biologie der Art unterschiedliche Voraussetzungen mitbringen können. Ihre Aussagen stützen sie ebenfalls auf Schmetterlingsarten, hier allerdings auf den Futterspezialisten *Erynnis propertius* und den Generalisten *Papilio zelicaon*. Somit ist es nicht möglich, gerade für sich divergierend entwickelnde lokal isolierte Populationen von *B. serricauda* daraus generalisierte Schlussfolgerungen zu ziehen. Anzunehmen ist jedoch, dass Populationen von *B. serricauda* von einer Erwärmung in ihrem Verbreitungsgebiet sogar mittelfristig profitieren könnten. Zakharov & Hellmann (2007) machten die Beobachtung, dass Populationen der polwärts vordringenden nordamerikanischen Schmetterlinge am nördlichen Rand stärker diversifiziert sind als im Zentrum des Verbreitungsareals.

Die Einstufung von *B. serricauda* (zumindest mit Blick auf die daraufhin untersuchten norddeutschen Populationen) als kühl-stenotherme Art wird dadurch gestützt, dass Individuen dieser Heuschreckenart während der postembryonalen Entwicklung nie der direkten Sonneneinstrahlung ausgesetzt sein müssen und die Art damit nicht, wie in der Literatur z. T. angegeben, leicht thermophil ist. Die davon abweichenden Angaben, wie z. B. bei Hafner & Zimmermann (1998), deren Ursachen eher in den im Habitat vorzufindenden Nahrungspflanzen als im Wärmebedürfnis zu suchen sind, können dahin gehend interpretiert werden, dass *B. serricauda* lediglich eine Toleranz für trocken-/ warme Habitate aufweist. Die relativ starken Klimaschwankungen der letzten 1000 Jahre dürften daher keinen erheblichen Einfluss auf das Verbreitungsareal dieser Heuschreckenart gehabt haben. Zudem können die kleinen Populationen kurzfristig sehr ungünstigen klimatischen Bedingungen (Embryonen kurz vor dem Schlupf sind z. B. einem besonderen Austrocknungsrisiko unterworfen) durch Streuung der nächsten Generation auf mehrere Folgejahre begegnen. Dadurch können Populationsgrößen innerhalb kürzester Zeiträume erheblich schwanken, ohne dass Populationen erlöschen. So konnten bspw. im Habitat der Population *Bad Lauterberg* nach dem besonders trockenen Frühjahr 2003 trotz intensiver Suche keine Tiere gefunden werden. In den folgenden Jahren waren stets wieder Tiere aufzufinden.

B. serricauda fand vor dem Eindringen der Rotbuche in von Eichen dominierten Waldgesellschaften optimale Habitatbedingungen und war wahrscheinlich, auch im nördlichen Teil ihres Verbreitungsgebietes, weitgehend flächendeckend in vielen kleinen Populationen, die sich in einem günstigen Habitat verteilten, verbreitet. Der genetische Austausch zwischen diesen Subpopulationen wurde durch Veränderungen der Umwelt – maßgeblich durch die Ausbreitung der Rotbuche – in ihrem Verbreitungsgebiet gestört.

Nach der Fragmentierung des Lebensraums von *B. serricauda* durch die erste Sesshaftwerdung des Menschen und die damit wahrscheinlich im Zusammen-

hang stehende Ansiedlung der Rotbuche stellen die periodisch wiederkehrenden intensiven Rodungsphasen bis ins hohe Mittelalter einen weiteren Faktor bei den landschaftlichen Veränderungen innerhalb des Verbreitungsareals der Art dar. Die darauf folgende gravierende Umgestaltung der Landschaft, ausgelöst durch die Expropriation der Landbevölkerung im ausgehenden Mittelalter (Marx [11]1962), vollendete schließlich im Industriezeitalter den Wandel von der Natur- zur Kulturlandschaft in Mitteleuropa. Der intensiv die Landschaft nutzende Mensch hat mit Sicherheit einen größeren Einfluss auf die Verbreitung von *B. serricauda* gehabt als die Klimaschwankungen nach dem Atlantikum und stellt somit seit dem Neolithikum den bedeutendsten Faktor in Bezug auf Vorkommen von *B. serricauda* dar.

Die autökologischen Untersuchungen zu *B. serricauda* lassen allerdings die Aussage zu, dass diese Art auch in einer verbuschten Landschaft zumindest für einen begrenzten Zeitraum zu existieren vermag und dadurch in der Lage ist, waldfreie Perioden zu überdauern. Die Begünstigung ausschlagfreudiger Gehölze während der intensiven Rodungsphasen, z. B. der Haselnuss oder der Hainbuche (diese allerdings nur eingeschränkt; Gottwald et al. 2002), die zum Nahrungsspektrum von *B. serricauda* gehören (Küster 1996), dürfte ein Überleben von Populationen in nahezu waldfreien Gebieten gesichert haben. Eine Dispersion über waldfreie Flächen ist jedoch auszuschließen, wie die genetische Distanz zwischen den Populationen *Ossenfeld I* und *Ossenfeld II* zeigt, deren Habitate von einer bewirtschafteten Fläche getrennt sind. Auch Proess & Baden (2000) geben an, dass in Luxemburg keine *B. serricauda,* trotz bekannter Fundorte in angrenzenden Waldgebieten, registriert werden konnten, wenn zwischen den Wäldern eine größere Distanz – angegeben wird 1 km – liegt. Doch in Waldgebieten dürften lokal begrenzte Ausbreitungen über längere Zeiträume möglich sein. Hierbei sind jedoch das Nahrungsangebot und die Vegetationsstruktur von größerer Wichtigkeit als die klimatischen Bedingungen.

Zwar können in besonders trockenen Frühjahren weniger bis gar keine Tiere in einzelnen Habitaten aufgefunden werden als in Jahren mit normaler Niederschlagsmenge im Frühjahr. Im Labor gelagerte Eier wiesen eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Austrocknung auf, wenn der Embryo die Entwicklung im Ei bereits abgeschlossen hat, sodass Eier, die im Freiland besonders dem Risiko der Austrocknung ausgesetzt sind, absterben können. Würde eine Erwärmung des Klimas zu besonders niederschlagsarmen Frühjahren führen, wären daher einige Habitate dieser Art der Gefahr des lokalen Erlöschens aufgrund einer Erderwärmung ausgesetzt. Doch es würden sich auch trockenresistente Bäume, wie z. B. Eichen, Linden oder Hainbuchen ausbreiten bzw. zunehmend angepflanzt werden. In Folge wäre an vielen Standorten eine Zurückdrängung der Rotbuche wahrscheinlich (Geßler et al. 2007). Divergierende Angaben zur bevorzugten Temperatur der Art machen deutlich, dass *B. serricauda* äußerst tolerant gegenüber Temperatureinflüssen ist, sodass ein Anstieg der durchschnittlichen Jahrestemperaturen sich wahrscheinlich selten nachteilig auf lokale Popula-

tionen auswirken würde. Damit würden sich die Umweltbedingungen mit einem Rückgang der Rotbuche und einer Aufforstung mit Gehölzen, die zu dem weiten Nahrungsspektrum der Art gehören, verbessern. Können sich einzelne Populationen über günstige Habitate ausbreiten bzw. ihre Lokalisation verändern, wäre ein erneutes Aufeinandertreffen von lange reproduktiv isolierten Populationen denkbar. Die Versuche zur Überlebenswahrscheinlichkeit von im Labor erzeugten Populationshybriden konnten zeigen, dass die biologische Fitness der ersten Filialgeneration nicht von der geographischen Distanz der Herkunftsgebiete von den Elterntieren abhängt. So wiesen Populationshybriden von Elterntieren sehr nahe beieinander gelegener Habitate zum Teil eine gegenüber den Zuchten der Herkunftspopulationen stark verminderte Überlebenswahrscheinlichkeit auf, wie es bei der Embryonalentwicklung von Populationshybriden, die aus der Verpaarung von Tieren der Populationen *Knutbühren* und *Ossenfeld I* hervorgegangen sind, der Fall war. Treffen solche Populationen, deren populationshybride Nachkommen eine geringere Überlebenswahrscheinlichkeit haben, infolge optimierter Umweltbedingungen aufeinander, könnte es durch Reinforcement-Effekte (Coyne & Orr 2004; allerdings hier aufgrund postzygotisch wirkender Isolationsmechanismen) zu einer sich verstärkenden Diversifikation und damit zu zeitlich schnell verlaufenden Speziationsprozessen kommen. Da jedoch nicht alle Populationshybriden eine verminderte biologische Fitness aufwiesen, sollte auch zu erwarten sein, dass sich einige isolierte Populationen bei einem Aufeinandertreffen vermischen und eine eventuell bereits vorhandene Diversifizierung in den einzelnen Populationen wieder verloren geht, da bei einer Fragmentierung des Habitats nicht damit gerechnet werden sollte, dass sich in jeder isolierten Teilpopulation isolierende Merkmale entwickeln.

Für einzelne isolierte Populationen der Art *B. serricauda* kann somit eine Diversifikation aufgrund genetischer Drift angenommen werden, die als Speziationsprozess anzusprechen ist. Ob in Zukunft die Art in Tochterarten zerfällt, dürfte maßgeblich mit der Veränderung ihres Lebensraums zusammenhängen. Aufgrund unterschiedlicher Angaben zu ökologischen Ansprüchen der Art vermutet Froehlich (1994), dass unterschiedliche Unterarten oder Arten bereits existieren.

In vereinzelten Populationen kann es durch die mit der Fragmentierung des Habitats bedingte Isolation allerdings auch zur Inzuchtdepression und damit zu einer Verminderung der biologischen Fitness kommen, die schließlich zum Erlöschen dieser lokalen Population führt. Indizien, die dahin gehend interpretiert werden können, liefern z. B. die Populationen *Weißwassertal*, *Bremke* und *Ossenfeld I*.

Die Konsequenzen einer Isolation werden in der wissenschaftlichen Diskussion und der aktuellen Biodiversitätsdebatte vor allem im Zusammenhang mit Maßnahmen zur Erhaltung der Vielfalt diskutiert. Inselpopulationen oder auf dem Festland verinselte Populationen werden hierzu oft als typische Beispiele

für Gefährdungsszenarien herangezogen (z. B. Frankham 1998a und 1998b, Saccheri et al. 1998). Besonders herausgestellt wird der Faktor der Inzucht bei kleinen Populationen mit geringem genetischen Austausch (Frankham 1995). Demnach seien isolierte Populationen in besonderem Maße von Aussterbeprozessen durch Inzuchtdepression betroffen. Dagegen stellten Haag et al. (2002) fest, dass Inzucht keinen Einfluss auf den Besiedlungserfolg kleiner Wasseransammlungen durch *Daphnia magna* hat. Stets unerwähnt bleibt in diesen Untersuchungen jedoch, dass gerade die Populationen, die eine geringe Individuendichte aufweisen und genetisch isoliert sind, die Voraussetzungen für Speziationsprozesse bieten (vgl. beispielsweise Frankham et al. 2001). Populationen, die geographisch isoliert sind und eine geringe Individuendichte aufweisen, bieten jedoch die von Mayr (1967) als wesentlich erachteten Voraussetzungen für einen geographischen Speziationsprozess. Laboruntersuchungen an der Dungfliege *Sepsis cynipsea* zeigten aber auch, dass Speziationsprozesse in isolierten Populationen mit einer hohen Individuendichte zu beobachten sind (Martin & Hosken 2003).

Einer ganzen Gruppe allopatrischer Speziationsmodelle (zusammenfassend bei Cockburn 1995) liegt die Annahme zugrunde, dass große Populationen relativ stabile, sich wenig verändernde Einheiten sind, in kleinen davon abgespaltenen (Gründer-) Populationen jedoch verstärkt genetische Drift auftritt. Das Aufbrechen koadaptierter Genkomplexe kann in diesen Modellen zum Erlöschen der Teilpopulation führen. Einige Teilpopulationen überwinden jedoch diese „Flaschenhalssituation". Diesen Populationen ist aus evolutionstheoretischer Sicht eine besondere Aufmerksamkeit zu widmen.

Bei blattminierenden Fliegen der Art *Phytomyza chaerophylli* konnten Frey et al. (1990) genetische Differenzen zwischen Populationen feststellen, die auf der Ebene der Mesoskala ebenso groß waren wie auf der Ebene der Makroskala. In den Populationen war dies mit einem hohen Inzuchtwert verbunden. Frey et al. (1990) stellen aufgrund der Isolation günstige Voraussetzungen für eine schnelle Speziation fest, obwohl sie von einer Dispersion der Tiere über den Wind ausgehen und konstatieren auch gleichermaßen günstige Voraussetzungen für eine schnelle Artbildung bei anderen Arten der Gattung.

Dass eine genetische Diversifizierung zwischen Populationen schnell und auch bei einem Austausch von Individuen festzustellen ist, konnte von Holzhauer (2000) bei durch Grünbrücken verbundenen Populationen von *Metrioptera roeselii* (Roesels Beißschrecke) im Raum Gießen gezeigt werden. Eine anthropogene Fragmentierung ihres Lebensraumes setzte erst vor etwa 50 Jahren ein. Obwohl die meist brachyptere *M. roeselii* unter bestimmten Bedingungen makroptere, flugfähige Individuen hervorbringt, somit also durchaus ein genetischer Austausch selbst zwischen separierten Populationen möglich ist, war die genetische Distanz zwischen Individuen der räumlich getrennten Populationen deutlich größer als die genetischen Unterschiede zwischen Tieren einzelner Teilpopulationen.

Ritchie et al. (1997, 2001) sowie Oudman et al. (1990) untersuchten die verwandtschaftlichen Beziehungen von Arten und Unterarten der Gattung *Ephippiger* (Steppensattelschrecken) in deren Hybridisierungszone im Süden Frankreichs. Die Unterarten ließen sich sowohl genetisch als auch morphologisch voneinander abgrenzen und wiesen Unterschiede beim Gesang der Männchen auf. Ein Vergleich der genetischen Befunde von Arten der Gattung *Ephippiger* lässt Rückschlüsse auf die eiszeitlichen Refugien der Gattung zu, was durch den genetischen Austausch zwischen Populationen möglich ist (hierzu auch Lunt et al. 1997 für den Gemeinen Grashüpfer, *Chorthippus parallelus*). Bei *B. serricauda* ist die Rekonstruktion phylogeographischer Beziehungen zwischen den Populationen nicht möglich, was als ein Beleg für eine rasche Diversifizierung zwischen den isolierten Populationen der Art nach Besiedlung ihres jetzigen Verbreitungsgebietes angesehen werden kann. Dass Speziationsprozesse erheblich schneller ablaufen können als bisher angenommen, weisen auch die Befunde von Verheyen et al. (2003) an ostafrikanischen Cichliden des Viktoriasees aus.

Bei Branch et al. (2003) wird allerdings zwischen den Auswirkungen einer natürlichen, beispielsweise geologischen Fragmentierung mit positiven Auswirkungen und einer anthropogen verursachten Fragmentierung mit negativen Implikationen für die Artenvielfalt unterschieden. Die Autoren begründen diese Unterscheidung damit, dass anthropogene Eingriffe kurzfristig, geologische Fragmentierungen dagegen sehr langfristig wirken. Und obwohl Sumner et al. (2004) bei durch anthropogene Habitatfragmentierung isolierten Populationen des tropischen Skink *Gnypetoscincus queenslandiae* eine entstehende Diversität feststellen, fordern sie die Verbindung von Habitaten und damit einen neuerlichen genetischen Austausch, was einem Verlust der Diversität entspräche. Sie unterstellen den isolierten Populationen mit dem Verweis auf Woodruff (2002) eine genetische Erosion und eine damit einhergehende Abnahme der Überlebenswahrscheinlichkeit, obwohl sie keinen wesentlich niedrigeren Fixation Index (F_{ST}) der isolierten Populationen gegenüber den nicht isolierten Populationen feststellen konnten. Woodruff (2002) stellt die These auf, dass kleine isolierte Populationen durch Inzucht und genetische Drift von einer genetischen Erosion bedroht sind. Speziation ist Woodruff (2002) zufolge nur möglich, wenn diese isolierten Populationen über eine ausreichende Anzahl an Individuen verfügen und genügend lange überleben können. Die Extinktionsrate liegt allerdings ein Vielfaches über der Speziationsrate.

Speziation wird häufig mit dem positiv besetzen Begriff der biologischen Vielfalt oder Biodiversität verbunden. Die Fragmentierung von Lebensräumen war und ist aber für das Entstehen der Biodiversität durch Evolution eine zwingende Voraussetzung. Die langfristigen Konsequenzen, die sich aus einem mutmaßlich bereits im Neolithikum ereigneten nachhaltigen Eingreifen des Menschen in Lebensräume ergeben haben, werden am Beispiel von Populationen der Art *B. serricauda* deutlich: Die Diversifizierung zwischen den isolierten Populationen ist die Folge einer anthropogenen Fragmentierung der Kulturlandschaft.

Auch anthropogene Eingriffe können also langfristig die gleichen Auswirkungen haben wie natürliche, etwa geologische Prozesse. Eckstein et al. (2006) schlagen eine Einbeziehung peripherer Populationen von Arten der Gattung *Viola* in naturschutzrelevante Überlegungen ein. Habitate dieser *Violacae* wurden durch eine anthropogene Fragmentierung vom geschlossenen Verbreitungsgebiet abgetrennt. Die Folge dieser Fragmentierung war, dass, wie bei *B. serricauda*-Populationen, aufgrund des eingeschränkten genetischen Austausches einige der gefundenen AFLP-Marker nur in diesen isolierten Populationen auftraten. Ein Schutz dieser isolierten Populationen führt den Autoren zufolge zur Erhaltung einer größeren genetischen Vielfalt in diesen Arten. Ähnliche Diversifizierungsprozesse konnten von Vandewoestijne & Baguette (2004) bei dem Randring-Perlmutterfalter *Proclossiana eunomia*, verursacht durch die anthropogene Fragmentierung in Mitteleuropa, festgestellt werden. Auch hier wurde als Konsequenz der Schutz möglichst vieler, auch sehr kleiner, Habitate gefordert, um die Diversität zwischen den Populationen zu erhalten. Dies soll einen Beitrag zum Erhalt der Art liefern und steht damit im Gegensatz zur Forderung nach einer Verbindung isolierter Habitate.

Zwar sollen kurzfristig die oftmals unterstellten negativen Folgen einer Habitatfragmentierung etwa durch Korridore und damit eines eingeschränkten genetischen Austausches abgemildert werden, doch dürfte fraglich sein, ob Tiere, wie z. B. Arthropoden, die sich zum einen nicht gerichtet im Raum bewegen und zum anderen auch nur begrenzt mobil sind, von diesen Korridoren profitieren. Selbst bei Mausarten mit verschiedenen ökologischen Ansprüchen können Korridore einen unterschiedlichen Effekt auf den genetischen Austausch zwischen Populationen haben (Mech & Hallett 2001). Korridore dürften entsprechend bei wenig mobilen Tieren keinen Effekt auf die Folgen einer Habitatfragmentierung mit sich bringen und somit für flugunfähige Arthropoden, wie beispielsweise *B. serricauda*, nicht zu einem erhöhten genetischen Austausch zwischen Populationen führen. Untersuchungen an flugfähigen Insekten zeigten zudem, dass eine Fragmentierung ihres Habitats nicht den genetischen Austausch zwischen Populationen vermindert (Veith et al. 1996).

Hinzu kommt, dass zwar oft (z. B. Reed & Frankham 2003) die Erhaltung geeignet großer Populationen gefordert wird, doch scheint häufig unklar, wie groß eine überlebensfähige Population sein muss. Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass selbst außerordentlich kleine Populationen, zumindest bei Arthropoden, überlebensfähig sein können. Es werden sich, wie die Untersuchungen an Teilpopulationen von *B. serricauda* zeigen konnten, sicherlich lokale Aussterbeprozesse ereignen, denen aber in anderen Habitaten Diversifizierungsereignisse gegenüberstehen.

Im Industriezeitalter ist ein Leben ohne Eingriffe in die Umwelt für den Menschen nicht möglich. Alle Organismen sind, besonders in der Kulturlandschaft, von seinem Handeln abhängig. Hierbei werden allerdings im politisch-

ökonomischen Bereich Entscheidungen am Maßstab der kurzfristigen wirtschaftlichen Verwertbarkeit ausgerichtet. Eine langfristige Planung scheint selten möglich zu sein.

Die Diversifizierung und somit ein Speziationsprozess von isolierten Populationen kann langfristig einen Beitrag zur Biodiversität liefern, also ist eine (moralisch) positive Bewertung anthropogen erfolgter Habitatfragmentierung am Beispiel dieser untersuchten Art möglich. Doch bedeutet dies nicht, dass eine anthropogene Veränderung der Umwelt durch Habitatfragmentierung grundsätzlich für alle Spezies positive Folgen hat. Fragmentierung darf in diesem Zusammenhang nicht verwechselt werden mit der Zerstörung von Habitaten und der damit einhergehenden Vernichtung von Populationen. Für überlebensfähige isolierte Populationen stellt sich allerdings die Frage nach ihrer Schutzwürdigkeit im Rahmen der Erhaltung von Biodiversität (und somit auch für Diversität durch Speziationsprozesse, die durch anthropogene Umweltveränderungen herbeigeführt wurden) nicht nur in Bezug auf eine hohe Artenvielfalt, sondern auch in Bezug auf eine hohe Diversität v. a. von lokal isolierten – evolvierenden – Populationen einer Art, wie es bei *Barbitistes serricauda* gegeben ist.

5 Literatur

Ax, P. (2000): *Über die Komposition der lebenden Natur*. – Act. Acad. Scient.: 7–30.

Abatzopoulos T.J., Kappas I., Bossier P., Sorgeloos P., Beardmore J.A. (2002): *Genetic characterization of Artemia tibetiana (Crustacea: Anostraca)*. – Biol. J. Linn. Soc. 75: 333 – 344.

Asshoff R., Amstutz E. (2004): *Geradflügler (Dermaptera, Blattoptera, Saltatoria) und ihre Mobilität im Kronendach eines mitteleuropäischen Mischwaldes. Beobachtungen aus einer Krangondel*. – Articulata 19: 205 – 215.

Bagley, M. J., Anderson, S. L., May, B.(2001): *Choice of Methodology for Assessing Genetic Impacts of Environmental Stressors: Polymorphism and Reproducibility of RAPD and AFLP Fingerprints*. – Ecotoxicology 10: 239–244.

Balloux, F., Amos, W., Coulson, T. (2004): *Does heterozygosity estimate inbreeding in real populations?*. – Mol. Ecol. 13: 3021–3031.

Baumann R., Schubert R., Heitland W., Auger-Rozenberg M.-A., Faivre-Rimpant P., Müller-Starck G. (2003): *Genetic diversity within and among populations of Diprion pini (Hym., Diprionidae) determined by random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction of haploid males*. – J. Appl. Ent. 127: 258 – 264.

Black, W. C. (1993): *PCR with arbitrary primers: approach with care*. – Ins. Mol. Biol. 2: 1 – 6.

Blachford, A. & Agrawala. F. (2006): *Assortative Mating for Fitness and the Evolution of Recombination*. – Evolution 60 (7): 1337–1343.

Blin & Stafford (1976): *A general method for isolation of high molecular weight DNA from eucaryotes*. – Nucleic Acids Res. 3: 2303-2308.

Bellmann, H. (1993): *Heuschrecken beobachten- bestimmen*. Naturbuch Verlag. Augsburg.

Benecke M. (1998): *Random amplified polymorphic DNA (RAPD) typing of necrophageous insects (diptera, coleoptera) in criminal forensic studies: validation and use in practice.* – For. Sc. Int. 98: 157–168.

Bensch, S. & Åkesson, M. (2005): *Ten Years of AFLP in Ecology and Evolution: Why so Few Animals?* – Mol. Ecol. 14: 2899–2914.

Boake, Ch. R. B. (1984): *Male Displays and Female Preferences in the Courtship of a Gregarious Cricket.* – Anim. Behav. 32: 690–697.

Boake, Ch. R. B., Mac Donald, K., Maitra, S., Ganguly, R. (2003*): Forty Years of Solitude: Life-History, divergenz and behavioural isolation between laboratory lines of Drosophila melanogaster.* – J. Evol. Biol. 16: 83–90.

Bock, W. J. (2004): *Species: the concept, category and taxon.* – J. Zool. Syst. Evol. Research 42: 178–190.

Branch, L. C., Clark, A.-M., Moler, P.E. & Bowen, B. W. (2003): *Fragmented landscapes, habitat specifity, and conservation genetics of three lizards in Florida scrub.* – Cons. Gen. 2: 199–212.

Braun, M. & Braun, U. (1991): *Zum Vorkommen der Laubholz-Säbelschrecke (Barbitistes serricauda Fabr.) im Regierungsbezirk Trier.* – Dendrocopos 18: 104–109.

Brown, R. & Thorpe, R. S. (1991): *Within-island micrographic variation in Body Dimensions ans Scalation of the Skink Chalcides sexlineatus, with Testing of Causal Hypothesis.* – Biol. J. Linn. Soc. 44: 47–64.

Campbell, D., Duchesne, P., Bernatchez, L. (2003): *AFLP utility for population assignment studies:analytical investigation and empirical comparison with microsatellites.* – Mol. Ecol. 12: 1979–1991.

Chen, K., Knorr, Ch., Bornemann-Kolatzki, K., Ren, J., Huang, L., Rohrer, G. A. Brenig, B. (2005): *Targeted oligonucleotide-mediated microsatellite identification (TOMMI) from large-insert library clones.* – BMC Genetics 6:54.

Cockburn, A.(1995): *Evolutionsökologie.* Fischer. Stuttgart, Jena, New York.

Coyne, J. A., Orr, H. A. ([1]2004): Speciation. Sinauer Associates. Sunderland.

Curtis, J. M. R. & Taylor, E. B. (2003): *The genetic structure of coastal giant salamanders (Dicamptodon tenebrosus) in a managed forest.* – Biol. Cons. 115: 45–54.

Darwin, Ch. (1963): *Die Entstehung der Arten*. Reclam. Stuttgart. Nachdruck.

David J. H.(2001): *AFLP-Based Genetic Linkage Map of the Colorado Potato Beetle Leptinotarsa decemlineata: Sex Chromosomes and a Pyrethroid-Resistance Candidate Gene*. – Genetics: 158: 695–700.

Dempster, J. P. (1991): *Fragmentation, Isolation and Mobility of Insect Populations*. In: The Conservation of Insects and their Habitats. Symposium of the Royal Enthomological Society of London; 14.-15. September 1989 at Department of Physics Lecture Theatre, Imperial College. London.

Detzel, P. (1998): *Herkunft und Verbreitung*. In: Detzel, P. (Hrsg.): Die Heuschrecken Baden-Württembergs. Ulmer. Stuttgart.

Dongen, S. van, Backeljau, T., Mattysen, E., Dhont, A. A. (1998): *Genetic population structure of the winter moth (Operophtera brumata L.) (Lepidoptera, Geometridae) in fragmented landscape*. – Heredity 80: 92–100.

Eckstein, R. L., O'Neill, R. A., Danihelka, J., Otte, A., Köhler W. (2006): *Genetic Structure Among and Within Peripheral and Central Populations of Three Endangered Floodplain Violets* – Mol. Ecol. 15: 2367–2379

Eldridge, N, Gould, S. J. ([1]1972): *Punctuated Equilibria: An Alternative to Phyletic Gradualism*. In: Schopf, T. J. M. & Thomas, J. M. (Hrsg.): Models in Paleobiology. Freeman & Cooper. San Francisco.

Escherich, K. (1940): *Die Waldheuschrecke (Barbitistes constrictus Br,) als Forstschädling*. – Anz. .Schädlingskunde 16 (1): 1–2.

Ewers, R. M. & Didham, R. K. (2006): *Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation*. – Biol. Rev. 81: 117–142.

Felsenstein, J. (2004): *PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6*. – Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle. Das freeware-Programm wird durch den Autor vertrieben: http://evolution.gs.washington.edu/phylip.html.

Finston, T. L., Johnson, M. S., Humphreys, W. F., Eberhard, S. M., Halse, S. A. (2007): *Cryptic speciation in two widespread subterranean amphipod genera reflects historical drainage patterns in an ancient landscape*. – Mol. Ecol. 16: 355–365.

Florin, A.-B. & Ödeen, A. (2002): *Laboratory environments are not conducive for allopatric speciation*. – J. Evol . Biol. 15: 10–19.

Frankham, R.(1998): *Inbreeding and Extinction: Island Populations.* – Cons. Biol. 12 (3): 665–675.

Frankham, R. (1998): *Inbreeding and Extinction: A Threshold Effect.* – Cons. Biol. 9 (4): 792–799.

Frankham, R., Gilligan, D. M., Morris, D., Briscoe, D. A. (2001): *Inbreeding and Extinction: Effects of purging.* – Cons. Gen. 2: 279–285.

Frankham, R. & Wilcken, J. (2006): *Does inbreeding distort sex-ratios?* – Cons. Gen. 7 (6): 879–893.

Frey, J. E., Latscha, T., McKey, D. B. (1990): *Genetic differentiation and speciation in leaf-mining flies of the genus Phytomyza.* – Entomol. exp. appl. 57: 191–200.

Froehlich C. (1994): *Analyse der Habitatpräferenzen von Heuschreckenarten (Orthoptera: Saltatoria) in einem Mittelgebirgsraum unter Berücksichtigung regionaler Differenzierungen.* Articulata Beiheft 4.

Futuyma, F. (1990): *Evolutionsbiologie.* Birkhäuser. Basel, Boston, Berlin.

Galvagni, A. & Fontana, P. (1993): *Barbitistes vicetinus sp. n. dell'Italia Nord orientale (Insecta Orthoptera Tettigoniidae).* – Atti Acc. Rov. Agiati, 242, s. VII, v II (B): 199–206.

Geleta, M., Bryngelsson, T., Bekele, E., Dagne, K. (2007): *AFLP and RAPD analyses of genetic diversity of wild and/or weedy Guizotia (Asteraceae) from Ethiopia.* – Hereditas 144: 53–62.

Geßler, A., Keitel, C., Kreuzwieser, J., Matyssek, R., Seiler, W., Rennenberg, H. (2007): *Potential risks for European beech (Fagus sylvatica L.) in a changing climate.* – Trees 21:1–11.

Gottwald, J., Richter, Ch., Wörner, M. (2002): *Habitatwahl, Nahrungswahl und Entwicklung von B. serricauda (Fabricius 1798) und B. constrictus Brunner von Wattenwyl, 1878 (Phaneropterinae).*– Articulata 17 (2): 51–78

Haag, C. R., Hottinger, J. W., Riek, M., Ebert, D. (2002): *Strong inbreeding depression in a Daphnia metapopulation.* – Evolution 56 (3): 518–526.

Haber, A. (1953): *Opaślikś sosnowiec Barbitistes constrictus Br. Watt. (Locustidae Orth.).* – Ministerstwo Leśnictwa Instytut Badawczy Leśnictwa.

Hafner, A. (1993*): Heuschrecken der Oberreichenbacher Missen und deren Einnischung (Nordschwarzwald). In: Missen im Landkreis Calw (2).* – Beih. Veröff. Naturschutz Landschaftspflege Bad.–Württ. 73: 435–448.

Hafner, A. (1991): *Missen im Landkreis Calw (1) – Floristisch-faunistische Erhebungen im „Heselwasen".).* – Beih. Veröff. Naturschutz Landschaftspflege Bad.–Württ. 62.

Hafner, A. & Zimmermann, P. (1998): *Barbitistes serricauda (Fabricius, 1798*). In: Detzel, P.(Hrsg.): Die Heuschrecken Baden-Württembergs. Ulmer. Stuttgart.

Hartley, J. C. (1990): *Egg biology of the Tettigoniidae*. In: Bailey, W. J. & Rentz, D. C. F.: The Tettigoniidae: Biology, Systematics and Evolution. Springer. Berlin.

Harz, K. (1956): *Beiträge zur Biologie der Orthopteren.* – Mitt. d. Münch. Entomol. Ges. 46: 59 f.

Harz, K. (1957): *Die Geradflügler Mitteleuropas.* Fischer. Jena.

Harz, K. (1969): *Die Orthopteren Europas I (Unterord. Ensifera).* Dr. W. Jung N. V. Den Haag.

Hawthorne D. J., & Via, S. (2001): *Genetic linkage of ecological specialization and reproductive isolation in pea aphids.* – Nature 412: 904–907.

Heller, K.-G. (1988): *Bioakustik der europäischen Laubheuschrecken.* Margraf. Weikersheim.

Heller K.-G., & Helversen, O. von (1990): *Survival of a phaneropterid bush-cricket studied by a new marking technique (Orthoptera: Phaneropteridae).* – Entomol. Gener. 15: 203 – 208.

Heller K.-G., & Helversen, O. von (1991): *Operational sex ratio and individual mating frequencies in two bushcricket species (Orthoptera, Tettigonioidea, Poecilimon).* – Ethology 89: 211 – 228.

Helversen, D. von & Helversen, O. von (1975a): *Verhaltensgenetische Untersuchungen am akustischen Kommunikationssystem der Feldheuschrecken (Orthoptera, Acrididae). I. Der Gesang von Artbastarden zwischen Chorthippus biguttulus und Ch. mollis.* – J. Comp. Physiol. 104: 273–299.

Helversen, D. von & Helversen, O. von (1975b): *II: Das Lautschema von Artbastarden zwischen Chorthippus biguttulus und Ch. mollis.* – J. Comp. Physiol. 104: 300 – 323.

Helversen, O. von, Helversen, D. von (1994): *Forces driving coevolution of song and song recognition* – Fortschr. Zool. 39:253–284.

Helfert, B.(1980): *Die regulative Wirkung der Photoperiode und Temperatur auf den Lebenszyklus ökologisch unterschiedlicher Tettigoniiden-Arten (Orthoptera, Saltatoria). 2. Teil: Embryogenese und Dormanz der Filialgeneration.* – Zool. Jb. Syst., Jena 107: 449–500.

Henle, K., Lindenmayer, D. B. Margules, CH. R., Saunders, D. A., Wissel, CH. (2004): *Species survival in fragmented landscapes: where are we now?* – Biodiv.Cons. 13: 1–8.

Hewitt, G. (2000): *The genetic legacy of the Quaternary ice ages.* – Nature 405: 907–913.

Hockham, L. R., Graves, J. A., Ritchie, M. G. (2001): *Variable maternal control of facultative egg diapause in the bushcricket Ephippiger ephippiger.* – Ecol. Entomol. 26: 143–147.

Holsinger K. E. &. Lewis P. O. (2004): *Hickory: A Package for Analysis of Population Genetic Data v1.0.4.* Das freeware-Programm wird durch den Autor vertrieben: http://darwin.eeb.uconn.edu/hickory/hickory.html.

Holzhauer, S. I. J. (2000): *Populationsgenetische Untersuchungen an der Heuschrecke Metrioptera roeseli Hagenbach 1822 in unterschiedlichen Bewirtschaftungsmustern.* Diplomarbeit an der Univers. Gießen (unveröff.).

Hoyle, M. & James, M.(2005): *Global Warming, Human Population Pressure, and Viability of the World's Smallest Butterfly.* – Cons. Biol. 19(4): 1113–1124.

Huntley, B., Bartlein, P. J., Prentice, I. C. (1989): *Climatic contol of the distribution and abundance of beech (Fagus L.) in Europe and North America.* – J. Biogeogr. 16: 551–560.

Ingrisch, S. (1976): *Vergleichende Untersuchungen zum Nahrungsspektrum mitteleuropäischer Laubheuschrecken (Saltatoria: Tettigoniidae).*– Entomolog. Z. 86 (20): 217–224.

Ingrisch, S. (1978): *Zum Verhalten mitteleuropäischer Laubheuschrecken (Orthoptera: Tettigoniidae) in Temperatur- und Feuchtegradienten sowie gegenüber visuellen Reizen.* – Dtsch. Ent. Z., N. F. 25: 349–360.

Ingrisch, S. (1979): *Experimentell-ökologische Freilanduntersuchungen zur Monotopbindung der Laubheuschrecken (Orthoptera: Tettigoniidae) im Vogelsberg.* – Beitr. Naturkunde. Osthessen 15: 33–95.

Ingrisch, S. (1981): *Zur Verbreitung der Orthopteren in Hessen.* – Mitt. Intern. Entomol. Ver. 6 (2–3): 29–63.

INGRISCH, S. (1984): *Embryonic development of Decticus verricuvorus (Orthoptera: Tettigoniidae).* – Entomol. Gener. 10: 1–9.

Ingrisch, S. (1986a): *The plurennial life cycles of the European Tettigoniidae (Insecta: Orthoptera). 1. The effect of temperature on embryonic development and hatching.* – Oecologia 70: 606–616.

Ingrisch, S. (1986b): *The plurennial life cycles of the European Tettigoniidae (Insecta: Orthoptera). 2. The effect of photoperiod on the induction of an initial diapause.* – Oecologia 70: 617–623.

Ingrisch, S. (1998): *Systematik und Evolution.* In: Ingrisch, S. & Köhler, G.: Die Heuschrecken Mitteleuropas. Westarp-Wissenschaften. Magdeburg.

Janich, P. & Weingarten, M. (1999): *Wissenschaftstheorie der Biologie.* Fink. München.

Jeffrey, A. J., Wilson, V., Thein, S. L. (1985): *Hypervariable 'Minisatellite' Regions in Human DNA.* – Nature 314: 67–73.

Johansson, M., Primmer, C. R., Merilä, J. (2007): *Does habitat fragmentation reduce fitness and adaptability? A case study of the common frog (Rana temporaria).* – Mol. Ecol. 16: 2693–2700.

Kjølner, S., Såstad, S. M., Taberlet P., Brochmann C. (2004): *Amplified fragment length polymorphism versus random amplified polymorphic DNA markers: clonal diversity in Saxifraga cernua.* – Mol. Ecol. 13: 81–86.

Keller L. F. & Waller D. M. (2002): *Inbreeding effects in wild populations.* – Trends Ecol. Evol. 17: 230 – 241.

Kleukers, R., Nieukerken, E. van, Odé, J. (1997): *De sprinkhanen en krekels van Nederland (Orthoptera).*– Nederlansse Faune I. Nationaal Natuurhistorisch Museum. Leiden.

Knowles, L. L. & Richards, C. L.(2005): *Importance of genetic drift during Pleistocene divergence as revealed by analyses of genomic variation.* – Mol. Ecol. 14: 4023–4032.

Köhler, G. (1988): *Zur Heuschreckenfauna der DDR – Artenspektrum, Arealgrenzen, Faunenveränderung.* In: Faun. Abh. Staatl. Mus. Tierk. Dresden 16 (1): 3–21.

Köhler, G. (2000): *Ökologische Grundlagen von Aussterbeprozessen. Fallstudien an Heuschrecken (Caelifera et Ensifera).* – Laurenti. Jena.

Köhler, G. (2001): *Fauna der Heuschrecken (Ensifera et Caelifera) des Freistaates Thüringen*. In: Naturschutzreport 17.

Kristensen, T. N., Dahlgaard, J., Loeschcke, V. (2003): *Effects of inbreeding and environmental stress on fitness – using Drosophila buzzatii as a model organism*. – Cons. Gen. 4: 453–465.

Kumar, S., Tamura, K., Nei, M. (2004): MEGA 3.1: *Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment*. – Briefings in Bioinformatics 5:150–163. Das freeware-Programm wird durch die Autoren vertrieben: http://evolgen.biol.metro-u.ac.jp/MEGA/manual/default.html.

Küster, H. (1996): *Auswirkungen von Klimaschwankungen und menschlicher Landschaftsnutzung auf die Arealverschiebung von Pflanzen und die Ausbildung mitteleuropäischer Wälder*. – Forstw. Cbl. 115: 301–320.

Lang, G., (1994): *Quartäre Vegetationsgeschichte Europas*. Gustav Fischer Verlag. Jena, Stuttgart, New York.

Langerhans, R. B., Gifford, M. E., Joseph, E. O. (2007): *Ecological Speciation in Gambusia Fishes*. – Evolution 61 (9): 2056–2074.

Lee, M. S. Y. (2003): *Species Concepts and Species Reality: Salvaging a Linnean Rank*. – J. Evol. Biol. 16: 179–188.

Levin D. A. (1985): *Metapopulations: An Arena for Local Speciation*. – J. Evol. Biol. 8: 635–644.

Long J. *C.* (1986): *The allelic correlation structure of gainjand kalam-speaking people. I. The estimation and interpretation of Wright's F'-statistics*. – Genetics 112: 629–647.

Lunt, D. H., Ibrahim, K. M., Hewitt, G. M. (1997): *mtDNA Phylogeography and Postglacial Patterns of Subdivision in the Meadow grasshopper Chorthippud parallelus*. – Heredity 80: 633–641.

Lynch, M. & Milligan, B.G. (1994): *Analysis of population genetic structure with RAPD markers*. – Mol. Ecol. 3:91–99.

Maas, S., Detzel, P., Staudt, A. (2002): *Gefährdungsanalyse der Heuschrecken Deutschlands*. – Bundesamt für Naturschutz. Bonn, Bad Godesberg.

Magri, D., Vendramin, G. G., Comps, B., Dupanloup, I., Geburek, T.,Gömöry, D., Latalowa, M., Litt,T., Paule, L., Roure, J. M., Tantau, I.,van der Knaap, W. O., Petit, R. J.,de Beaulieu, J.-L.(2006): *A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences*. – N. Phytol. 171: 199–221.

Mahner, M. (1998): *Warum es Evolution nur dann gibt, wenn Arten nicht evolvieren*. – Theory Bioscienc. 117: 173–199.

Mahner, M. (2005): *Biologische Klassifikation und Artbegriff*. In: Krohs, U. & Toepfer, G.: Philosophie der Biologie. Eine Einführung. Suhrkamp. Frankfurt am Main.

Martin, O. Y. & Hosken, D. J. (2003): *The evolution of reproductive isolation through sexual conflict*. – Nature 423: 979–982.

Martínez–Solano, I., Jockusch, E. L., Wake, D. B. (2007): *Extreme population subdivision throughout a continuous range: phylogeography of Batrachoseps attenuatus (Caudata: Plethodontidae) in western North America*. – Mol. Ecol. OnlineEarly Articles: doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03527.x

Marx, K. ([11]1962): *Das Kapital*. Interdruck. Leipzig.

Mayr, E. (1967): *Artbegriff und Evolution*. Verlag Paul Parey. Hamburg, Berlin.

Mayr, E. (2003): *Das ist Evolution*. Bertelsmann. München.

Mech, S. G. & Hallett, J. G. (2001): *Evaluating the Effectiveness ofCorridors: A Genetic Approach*. – Cons. Biol. 15(2): 467–474.

Mendelson, T. C. & Shaw, K. L. (2006): *Close-range acoustic signaling and mate choice in Hawaiian crickets (Gryllidae: Laupala)*. – Behav. Ecol. Sociobiol. 59: 770–776.

Milinski, M. (2006): *The Major Histocompatibility Complex, Sexual Selection, and Mate Choice*. – Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 37: 159–86.

Miller, M. (1997): *Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data*. Das freeware-Programm wird durch den Autor vertrieben: http://bioweb.usu.edu/mpmbio/index.htm.

Mousseau, T. M. & Roff, D. A. (1989) : *Adaption to Seasonality in a Cricket : Patterns of Phenotypic and Genotypic Variation in Body Size and Diapause Expression along a Cline in Season Length*. – Evolution 43 (7): 1483–1496.

Nei, M. (1972): *Genetic distance between populations*. – Am. Nat. 106:283 – 292.

Nei, M. (1978): *Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals*. – Genetics 89: 583–590.

Nei, M. (1987): *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.

Nei, M., Maruyama, T., Chakraborty, R. (1975): *The Bottleneck Effect and Genetic Variability in Populations*. – Evolution 29: 1–10.

Nosil, P. & Crespi, B. J. (2006): *Ecological divergence promotes the evolution of cryptic reproductive isolation*. – Proc. R. Soc. Lond. B 273: 991–997

Ólafsdóttir, G. Á., Snorrason, S. S., Ritchie, M. G. (2007): *Postglacial Intra-lacustrine Divergence of Icelandic Threespine Stickleback Morphs in Three Neovolcanic Lakes*. – J. Evol. Biol. 20: 1870–1881.

Oliver, J. C. & Shapiro, A. M. (2007): *Genetic isolation and cryptic variation within the Lycaena xanthoides species group (Lepidoptera: Lycaenidae)*. – Mol. Ecol. 16 (20): 4308–4320.

Oudman, L., Duijm, M., Landman, W.(1990): *Morphological and allozyme variation in the Ephippiger ephippiger complex (Orthoptera: Tettigonioidae)*. – Neth. J. .Zool. 40: 454–483.

Pesson B., Ready J.S., Benabdennbi, I., Martin-Sanchez, J., Esseghir, S.Y., Cadi-Soussi, M., Morillas-Marquez, F., Ready, P.D. (2004): *Sandflies of the Phlebotomus perniciosus complex: Mitochondrial introgression and a new sibling species of P. longicuspis in the Moroccan Rif*. – Med. Vet. Entomol. 18: 25–37.

Pizzo, A., Roggero, A., Palestrini, C., Cervella, P., Del Pero, M., Rolando, A. (2006): *Genetic and morphological differentiation patterns between sister species: the case of Onthophagus taurus and Onthophagus illyricus (Coleoptera, Scarabaeidae)*. – Biol. J. Linn. Soc. 89: 197–211.

Pott, R. (2000): *Die Entwicklung der europäischen Buchenwälder in der Nacheiszeit*. – Rundgespräche der Kommission für Ökologie, Bd. 18: 49–75.

Proess, R. & Baden, R. (2000): *Erfassung der Heuschreckenarten Barbitistes serricauda (Fabricius 1798), Leptophyes punctatissima (Bosc, 1792), Meconema thallasinum (De Geer 1772) und Nemobius sylvestris (Bosc 1792) in Luxemburg (Insecta, Saltatoria)*. – Bull. Nat. Soc. Luxemb. 100: 159–170.

Pröhl, H., Hagemann, S., Karsch, J., Höbel, G. (2007): *Geographic Variation in Male Sexual Signals in Strawberry Poison Frogs (Dendrobates pumilio).* – Ethology 113: 825–837.

Ramme, W. (1920): *Orthopterologische Beiträge.* – Archiv f. Naturgeschichte Abt. A, 86(12): 81–166.

Reed, D. H. & Frankham, R. (2003): *Correlation between Fitness and Genetic Diversity.* – Cons. Biol. 17(1): 230–237.

Reed, D. H., Lowe, E. H., Briscoe, D. A., Frankham R. (2003): *Inbreeding and extinction: Effects of Rate of Inbreeding.* – Con. Gen. 4: 405–410.

Reineke, A., Karlovsky, P., Zebitz, C. P. W. (1999): *Amplified fragment length polymorphism analysis of different geographic populations of Lymantria dispar (Lepidoptera: Lymantriidae).* – Bull. Ent. Res. 89: 79–88.

Reinhardt, K., Köhler, G., Maas, S., Detzel, P. (2005): *Low dispersal ability and habitat specificity promote extinctions in rare but not in widespread species: the Orthoptera of Germany.* – Ecography 28: 593–602.

Richter, Ch. (2001): *Untersuchungen zur Autökologie und Fortpflanzungsbiologie von Barbitistes serricauda (Fabricius 1798).*Göttingen (unveröff.).

Rieppel, O. (2007): *Species: Kinds of Individuals or Individuals of a Kind.* – Cladistics 23: 373–384.

Rieseberg, L. H., Church, S. A., Morjan, C. L.(2003): *Integration of populations and differentiation of species.* – N. Phytol. 161: 59–69.

Ritchie, M. G., Gleason, J. M (1995): *Rapid evolution of courtship song pattern in Drosophila willistoni sibling species.* – J. evol. Biol. 8: 463–479.

Ritchie, M. G., Racy, S. N., Gleason, J. M., Wolff, K. (1997):*Variability of the bushcricket Ephippiger ephippiger: RAPDs and song races.* – Heredity 79: 286–294.

Ritchie M. G., Kidd D. M., Gleason, J. M. (2001*): Mitochondrial DNA variation and GIS analysis confirm a secondary origin of geographical variation in the bushcricket Ephippiger ephippiger (Orthoptera: Tettigonioidea), and resurrect two subspecies.* – Mol. Ecol. 10: 603–611.

Ritchie, M.G. & Garcia, C. M. (2005): *Explosive Speciation in a Cricket.* – Heredity 95: 5–6.

Rudh, A., Rogell, B., Höglund, J. (2007): *Non-gradual variation in colour morphs of the strawberry poison frog Dendrobates pumilio: genetic and geographical isolation suggest a role for selection in maintaining polymorphism*. – Mol.Ecol. 16(29): 4284–4294.

Saccheri, I., Kuussaari, M., Kankare, M., Vikman, P., Fortelius, W., Hanski, I. (1998): *Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation*. – Nature 392: 491–494.

Sauer, K. P. & Hensle, R. (1977): *Reproduktive Isolation, ökologische Sonderung und morphologische Differenz der Zwillingsarten Panorpa communis L. und P. vulgaris Imhoff und Labram (Insecta, Mecoptera)*. – Z. zool. Syst. Evolut.-forsch 15: 169–207.

Scataglini, M. A., Confalonieri, V. A., Lanteri, A. A. (2000): *Dispersal of the cotton boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) in South America: evidence of RAPD analysis*. – Genetica 108: 127–136.

Schul, J. & Bush, S. (2002): *Non-parallel coevolution of sender and receiver in the acoustic communication system of treefrogs*. – Proc. R. Soc. Lond. B 269: 1847–1852.

Schmitt, M. (2004): *The Species as a Unit of Evolution and as an Element of Order*. In: Schult, J.: Biosemiotik. VWB-Verlag. Berlin.

Segelbacher, G., Höglund, J ., Storch, I .(2003): *From connectivity to isolation: genetic consequences of population fragmentation in capercaillie across Europe*. – Mol. Ecol. 12: 1773–1780.

Spiegelhalter, D. J., Best, N. G., Carlin B. P., van der Linde, A.(2002): *Bayesian measures of model complexity and fit*. – J. R. Stat. Soc. B 64:483–689.

Strätz, Ch. & Schlumprecht, H. (1999): *Verbreitung ausgewählter "Kryptischer Heuschrecken" in Oberfranken – Plumpschrecke, Laubholz- und Nadelholz- Säbelschrecke*. – LXXIII Bericht Naturf. Ges. Bamberg: 107–124.

Strätz, Ch. & Waeber, G. (2003): *Nadelholz-Säbelschrecke Barbitistes constrictus (Brunner von Wattenwyl, 1878)*. In: Schlumprecht, H. & Waeber, G. (Hrsg.): Heuschrecken in Bayern. Ulmer. Stuttgart.

Stumpner, A. & Meyer, S. (2001): *Songs and the function of song-elements in four duetting bushcricket species (Ensifera, Phaneropteridae, Barbitistes)*. – J. Insect Behav. 4: 511–534.

Stumpner A. & Helversen, O. von (1994): *Song production and song recognition in a group of sibling grasshopper species (Chorthippus dorsatus, Ch. dichrous and Ch. loratus: Orthoptera, Acrididae).* – Bioacoustics 6: 1–27.

Sumner, J., Jessop, T., Paetkau, D., Moritz, C. (2004): *Limited effect of anthropogenic habitat fragmentation on molecular diversity in a rain forest skink, Gnypetoscincus queenslandiae.* – Mol. Ecol. 13: 259–269.

Swindell, W. R & Bouzat, J. L. (2006): *Selection and Inbreeding Depression: Effects of Inbreeding Rate and Inbreeding Environment.* – Evolution 60 (5): 1014–1022.

Thorpe J.P. (1982): *Enzyme variation and taxonomy: Biochemical evolution, genetic differentation, and systematics.* – Ann. Rev. Ecol. Syst. 13: 139–168.

Vandergast, A. G., Bohonak, A. J., Weissman, D. B., Fisher, R. N. (2007): *Understanding the genetic effects of recent habitat fragmentation in the context of evolutionary history: phylogeography and landscape genetics of a southern California endemic Jerusalem cricket (Orthoptera: Stenopelmatidae: Stenopelmatus).* – Mol. Ecol. 16: 977–992.

Vandewoestijne S. & Baguette M. (2004): *Genetic population structure of the vulnerable bog fritillary butterfly.* – Hereditas 141: 199–206.

Veith, M., Johannesen, J., Nicklas-Görgen, B., Schmeller, D., Schwing, U., Seitz, A. (1996): *Genetics of Insects in Fragmented Landscapes – A comparisonof Species and Habitats.* In: Settele, J, Margules, C. R., Poschlod, P., Henle, K. (Hrsg.): Species Survival in Fragmented Landscapes. Kluwer. Netherlands.

Vekemans, X. (2002): *AFLP-SURV 1.0 A program for genetic diversity analysis with AFLP (and RAPD) population data.* Das freeware-Programm wird durch den Autor vertrieben: http://www.ulb.ac.be./sciences/lagev/aflp-surv.html.

Verheyen, E., Salzburger, W., Snocks, J., Meyer, A. (2003): *The origin of the superflock of cichlid fishes from Lake Victoria, East Africa.* – Science 300: 325–329.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van De Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. & Zabeau, M. (1995): *AFLP: a new technique for DNA finger-printing.* – Nucleic Acids Res. 23: 4407–4414.

Watling, J. I. & Donnelly, M. A. (2006): *Fragments as Islands: a Synthesis of Faunal Responses to Habitat Patchiness.* – Cons. Biol. 20 (4): 1016–1025.

Williams J.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. (1990): *DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers.* – Nucleic Acids Res. 18: 6531 – 6535.

Willmann, R. (2004): *Artbegriffe und die Struktur der biologischen Art.* – Denisia 13: 619–633.

Woodruff D. S. (2002): *Declines of biomes and biotas and the future of evolution.* – Proc. Nat. Acad. .Sc. USA 98: 5471–5476.

Wörner, M. (1995): *Beitrag zur Biologie und Autökologie von Barbitistes serricauda (Fabricius 1998).* Göttingen (unveröff.).

Yeh, F.C., Yang R.-C., Boyle T.B.J., Ye, Z.-H., Mao J.X. (1997): *POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis.* Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada. Das freeware-Programm wird durch den Autor vertrieben: http://www.ualberta.ca/~fyeh/index.htm.

Zakharov, E. V. & Hellmann, J. J. (2007): *Genetic differentiation across a latitudinal gradient in two co-occurring butterfly species: revealing population differences in a context of climate change.* – Mol. Ecol. OnlineEarly Articles: doi:10.1111/j.1365-294X.2007.03488.x

Zebitz, C. P. W. & Reineke, A. (1999): *AFLP - A technique for differentiation of regional populations and ecotypes?* – Zoology 102, Suppl. II: 12.

Zimmermann, P. & Haffner, A. (1991*): Neufunde der Laubholz-Säbelschrecke Barbitistes serricauda in Baden-Württemberg.* – Carolinea 49: 136–138.

Zimmermann, P. (1993): *Verbreitung der Heuschrecken in den Missen des Landkreises Calw. In: Missen im Landkreis Calw (2).* – Beih. Veröff. Naturschutz Landschaftspflege Bad.–Württ. 73: 235–278.

Danksagung

Ich möchte Herrn Prof. Dr. Brenig, Herrn Prof. Dr. Elsner und Herrn Prof. Dr. Willmann für den Arbeitsplatz danken, der mir in den Abteilungen Molekularbiologie der Nutztiere am Tierärztlichen Institut und Neurobiologie sowie Morphologie, Systematik und Evolutionsbiologie am Zoologischen Institut der Universität Göttingen zur Verfügung gestellt wurde, um diese Arbeit durchzuführen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. Jochen Gottwald, der ein Zoologe ist, wie ich ihn mir immer vorgestellt habe und ohne dessen Unterstützung es mir nicht möglich gewesen wäre, diese Arbeit durchzuführen. Herrn Prof. Dr. Christoph Knorr danke ich besonders für die viele Geduld und die Unterstützung nicht nur bei dem molekularbiologischen Teil dieser Arbeit. Herrn Prof. Dr. Andreas Stumpner danke ich für die Betreuung, die Diskussionen und Hilfe.

Ohne lokale Vorkommen dieser im verborgenen lebenden Art von Dritten genannt zu bekommen, wäre der Umfang dieser Untersuchung nur schwer zu bewerkstelligen gewesen. Ich danke für die Hinweise auf Vorkommen Herrn Grein, Herrn Dr. Axel Hochkirch und Herrn Dipl. Geoökol. Christian Strätz sowie Herrn Johannes Voith, die mir Daten von bayerischen Vorkommen zur Verfügung stellten. Herr Michael Tölle hat mich bei der Sammelreise ins Alpenvorland tatkräftig unterstützt. Auch hierfür möchte ich mich an dieser Stelle noch einmal bedanken.

Für die zahllosen Diskussionen möchte ich mich, außer bei den bereits oben genannten, bei Herrn Dr. Grüger, Herrn Dr. Judas, Herrn Dr. Frieder Mayer und Herrn Dr. Heller, der mir auch Eier der Art *B. kaltenbachi* überlies, bedanken. Bei Herrn Dipl. Biol. Frank Wieland bedanke ich mich für ein Exemplar von *B. fischeri*. Herrn Dr. Gottschalk danke ich für die Beratung bezüglich einer Modellierung; Herrn Dipl. Kaufm. Wolfgang Pinkas möchte ich für die Unterstützung bei Fragen zur Statistik danken. Ebenso gilt mein Dank allen hier nicht genannten Mitarbeitern der Abteilungen Molekularbiologie der Nutztiere des Tierärztlichen Instituts, der Abteilung Neurobiologie und der Abteilung Morphologie, Systematik und Evolutionsbiologie des Zoologisches Instituts der Universität Göttingen, die mir halfen, hier diese Arbeit auszuführen.

Ich möchte mich auch bei meiner Familie – besonders bei meiner Frau Gunhild Pinkas, die mir beim Tierfang half – für die Unterstützung und vor allem die Geduld, sich immer wieder das Gleiche anzuhören, bedanken.

Mein Dank gilt auch der DFG, die dieses Projekt für einen Zeitabschnitt von zwei Jahren im Rahmen einer Sachmittelförderung finanzierte.

Schließlich möchte ich mich bei der Volkswagenwerk AG für die leider im Jahre 1975 nach nur drei Jahren eingestellte Produktion des Typ 13 bedanken. Dieses Fahrzeug trug einen wesentlichen Teil zum Gelingen dieser Arbeit bei, da es täglich zum Erreichen von Fundorten und zur Beschaffung der Nahrungspflanzen eingesetzt wurde. In diesem Zusammenhang möchte ich mich abschließend noch bei Herrn Dipl.-Ing. Bernd Riechert bedanken, durch dessen Produkte mir eine Effizienzoptimierung des Typ 1 Motors möglich wurde.

Anhang *A*:

Anhang Populationsgröße und Habitat

Tab. 3.1*A*-1: Distanzmatrix für die räumlichen Distanzen zwischen den untersuchten Populationen. Werte in Kilometern Luftlinie. Bei einer Distanz von mehr als fünf Kilometern wurde gerundet; die Population *Knutbühren Bank* und *Knutbühren Kreuzung*, zwischen denen eine Distanz von 200 m liegt, wurden hier nicht im Verhältnis zu anderen Populationen unterschieden

	Bad Laer	Bad Lauterberg	Bremke	Göttinger Wald	Groß-Ellershausen	Has-bruch	Hildes-heim	Kaufunger Wald	Knut-bühren	Ludolfs-hausen	Zwölf-gehren	Ossen-feld I	Ossen-feld II	Sche-den	Weiß-wassertal	Ebersberg Weg	Ebersberg Weiher	Moosach I	Moosach II
Bad Laer																			
Bad Lauterberg	171																		
Bremke	149	38																	
Göttinger Wald	145	37	6																
Groß-Ellershausen	135	47	14	10															
Hasbruch	115	210	207	202	196														
Hildesheim	129	65	75	70	70	147													
Kaufunger Wald	141	65	28	30	25	213	95												
Knutbühren	134	46	16	12	2,8	193	67	28											
Ludolfshausen	150	41	4,5	10	15	210	79	25	18										
Zwölfgehren	133	45	17	12	6	191	65	31	2,6	20									
Ossenfeld I	133	49	16	13	2,4	195	70	25	3,2	17	6								
Ossenfeld II	134	48	15	12	1,4	195	70	25	2,8	16	6	0,9							
Scheden	135	54	17	17	9	201	78	17	11	16	14	8	8						
Weißwassertal	147	30	12	8	17	199	63	38	17	17	16	19	18	24					
Ebersberg Weg	524	408	408	407	411	605	471	394	414	397	416	412	413	406	410				
Ebersberg Weiher	524	408	408	407	411	605	471	394	414	397	416	412	413	406	410	0,5			
Moosach I	528	413	405	410	415	611	475	398	418	402	418	416	417	410	414	4	5		
Moosach II	528	413	405	410	415	611	475	398	418	402	418	416	417	410	414	5	5	0,5	
Oberkatzbach	539	420	413	420	424	620	485	407	427	410	429	425	426	420	422	20	20	19	19

Anhang Partnerwahl

Tab. 3.5*A*-1: Registrierte Kopulationen in den Partnerwahlversuchen. Der Geschlechtspartner des Weibchens wurde über die Gewichtsdifferenz ermittelt

Herkunft Weibchen	Herkunft Männchen 1	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	Gewichtsdifferenz (%)	Herkunft Männchen 2	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	Gewichtsdifferenz (%)	populationsfremdes Männchen	populationseigenes Männchen
Knutbühren	Bremke	22,5	21,700	0,800	22,53	21,700	0,830	-3	Knutbühren	21,91	21,330	0,580	21,81	21,330	0,480	10		1
Knutbühren	Bremke	22,54	21,700	0,840	22,36	21,700	0,660	18	Knutbühren	22,47	21,330	1,140	22,08	21,330	0,750	39		1
Knutbühren	Bremke	22,36	21,700	0,660	22,41	21,700	0,710	-5	Knutbühren	21,97	21,330	0,640	21,76	21,330	0,430	21		1
Knutbühren	Bremke	21,75	21,180	0,570	21,57	21,180	0,390	18	Knutbühren	22,13	21,440	0,690	22,1	21,440	0,660	3	1	
Knutbühren	Bremke	22,52	21,700	0,820	22,52	21,700	0,820	0	Knutbühren	21,91	21,330	0,580	21,83	21,330	0,500	8	1	
Knutbühren	Bremke	21,66	21,180	0,480	21,69	21,180	0,510	-3	Knutbühren	22,12	21,440	0,680	21,9	21,440	0,460	22		1
Knutbühren	Hasbruch	22,14	21,440	0,700	21,93	21,440	0,490	21	Knutbühren	21,82	21,180	0,640	21,82	21,180	0,640	0	1	
Knutbühren	Knutbühren	21,89	21,150	0,740	21,86	21,150	0,710	3	Bad Lauterberg	21,72	21,080	0,640	21,63	21,080	0,550	9		1
Knutbühren	Knutbühren	22,54	21,850	0,690	22,38	21,850	0,530	16	Bad Lauterberg	22,16	21,460	0,700	22,14	21,460	0,680	2		1
Knutbühren	Knutbühren	21,86	21,150	0,710	21,86	21,150	0,710	0	Bad Lauterberg	21,68	21,080	0,600	21,54	21,080	0,460	14	1	
Knutbühren	Knutbühren	22,55	21,850	0,700	22,53	21,850	0,680	2	Bad Lauterberg	22,14	21,460	0,680	22,02	21,460	0,560	12	1	
Knutbühren	Knutbühren	21,9	21,150	0,750	21,8	21,150	0,650	10	Bad Lauterberg	21,7	21,080	0,620	21,71	21,080	0,630	-1		1
Knutbühren	Knutbühren	22,55	21,850	0,700	22,37	21,850	0,520	18	Bad Lauterberg	22,02	21,460	0,560	22,02	21,460	0,560	0		1
Knutbühren	Knutbühren	22,1	21,430	0,670	22,09	21,430	0,660	1	Bad Lauterberg	22,2	21,490	0,710	22,05	21,490	0,560	15	1	
Knutbühren	Knutbühren	22,09	21,430	0,660	22,09	21,430	0,660	0	Bremke	22,19	21,490	0,700	22,1	21,490	0,610	9	1	
Knutbühren	Knutbühren	21,84	21,150	0,690	21,85	21,150	0,700	-1	Bad Lauterberg	21,71	21,080	0,630	21,61	21,080	0,530	10	1	
Knutbühren	Knutbühren	22,09	21,430	0,660	22,07	21,430	0,640	2	Bremke	22,18	21,490	0,690	22,06	21,490	0,570	12	1	
Knutbühren	Knutbühren	21,554	21,081	0,473	21,55	21,08	0,472	0	Ossenfeld I	22,21	21,49	0,725	22,01	21,49	0,527	20	1	
Knutbühren	Knutbühren	21,955	21,427	0,528	21,91	21,43	0,482	5	Ossenfeld I	21,94	21,18	0,766	21,68	21,18	0,503	26	1	
Knutbühren	Knutbühren	22,55	21,460	1,090	22,53	21,460	1,070	2	Bad Lauterberg	22,14	21,460	0,680	22,02	21,460	0,560	12	1	
Knutbühren	Knutbühren	22,09	21,430	0,660	22	21,430	0,570	9	Bad Lauterberg	22,1	21,490	0,610	22,13	21,490	0,640	-3		1
Knutbühren	Bremke	22,28	21,700	0,580	22,18	21,700	0,480	10	Knutbühren	21,88	21,330	0,550	21,92	21,330	0,590	-4	1	
Knutbühren	Knutbühren	21,77	21,150	0,620	21,7	21,150	0,550	7	Bad Lauterberg	21,7	21,080	0,620	21,75	21,080	0,670	-5		1
Knutbühren	Knutbühren	21,78	21,150	0,630	21,69	21,150	0,540	9	Bad Lauterberg	21,67	21,080	0,590	21,69	21,080	0,610	-2		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	21,63	21,150	0,480	21,63	21,150	0,480	0	Ebersberg	21,64	21,080	0,560	21,48	21,080	0,400	16	1	

Herkunft Weibchen	Herkunft Männchen 1	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	Gewichtsdifferenz (%)	Herkunft Männchen 2	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	Gewichtsdifferenz (%)	populationsfremdes Männchen	populationseigenes Männchen
Ludolfshausen	Ludolfshausen	22,36	21,850	0,510	22,14	21,850	0,290	22	Ebersberg	22,13	21,460	0,670	22,13	21,460	0,670	0		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	22,26	21,700	0,560	22,15	21,700	0,450	11	Ebersberg	21,71	21,330	0,380	21,72	21,330	0,390	-1		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	21,63	21,150	0,480	21,53	21,150	0,380	10	Ebersberg	21,65	21,080	0,570	21,6	21,080	0,520	5		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	22,28	21,700	0,580	22,11	21,700	0,410	17	Ebersberg	21,72	21,330	0,390	21,71	21,330	0,380	1		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	21,7	21,180	0,520	21,62	21,180	0,440	8	Ebersberg	21,94	21,440	0,500	21,9	21,440	0,460	4		1
Ludolfshausen	Ludolfshausen	21,7	21,180	0,520	21,69	21,180	0,510	1	Ebersberg	22,12	21,440	0,680	22,03	21,440	0,590	9	1	
Ludolfshausen	Ludolfshausen	21,79	21,151	0,639	21,82	21,15	0,669	-3	Ebersberg	21,74	21,08	0,659	21,65	21,08	0,569	9	1	
Ludolfshausen	Ludolfshausen	21,8	21,150	0,650	21,83	21,150	0,680	-3	Ebersberg	21,79	21,080	0,710	21,66	21,080	0,580	13	1	
Ludolfshausen	Ludolfshausen	22,44	21,850	0,590	22,48	21,850	0,630	-4	Ebersberg	22,06	21,460	0,600	21,93	21,460	0,470	13	1	
Ludolfshausen	Ludolfshausen	22,08	21,430	0,650	21,92	21,430	0,490	16	Ebersberg	22	21,490	0,510	21,94	21,490	0,450	6		1
Bad Laer	Bad Laer	21,59	21,150	0,440	21,65	21,150	0,500	-6	Knutbühren	21,81	21,080	0,730	21,6	21,080	0,520	21	1	
Bad Laer	Bad Laer	21,65	21,150	0,500	21,58	21,150	0,430	7	Knutbühren	21,79	21,080	0,710	21,58	21,080	0,500	21	1	
Bad Laer	Bad Laer	21,61	21,150	0,460	21,51	21,150	0,360	10	Knutbühren	21,71	21,080	0,630	21,69	21,080	0,610	2		1
Bad Laer	Bad Laer	22,34	21,850	0,490	22,59	21,850	0,740	-25	Knutbühren	22,3	21,460	0,840	21,84	21,460	0,380	46	1	
Bad Laer	Bad Laer	21,81	21,430	0,380	21,79	21,430	0,360	2	Knutbühren	22,24	21,490	0,750	22,16	21,490	0,670	8	1	
Bad Laer	Bad Laer	21,66	21,150	0,510	21,68	21,150	0,530	-2	Knutbühren	21,88	21,080	0,800	21,68	21,080	0,600	20	1	
Bad Laer	Bad Laer	21,71	21,151	0,559	21,75	21,15	0,595	-4	Knutbühren	21,69	21,08	0,609	21,55	21,08	0,473	14	1	
Bad Laer	Bad Laer	21,95	21,427	0,523	21,8	21,43	0,369	15	Knutbühren	22,07	21,49	0,587	22,07	21,49	0,585	0		1
Bad Laer	Bad Laer	22,564	21,851	0,713	22,54	21,85	0,690	2	Knutbühren	22,13	21,46	0,670	21,99	21,46	0,527	14	1	
Bad Laer	Bad Laer	21,81	21,177	0,633	21,73	21,18	0,549	8	Knutbühren	22,03	21,44	0,595	21,9	21,44	0,463	13	1	
Bad Laer	Bad Laer	22,146	21,427	0,719	22,18	21,43	0,754	-4	Knutbühren	21,78	21,18	0,607	21,65	21,18	0,473	13	1	
Bad Laer	Bad Laer	22,17	21,700	0,470	22,18	21,700	0,480	-1	Oberkatzbach	21,86	21,330	0,530	21,75	21,330	0,420	11	1	
Bad Laer	Bad Laer	21,73	21,180	0,550	21,62	21,180	0,440	11	Oberkatzbach	21,95	21,440	0,510	21,99	21,440	0,550	-4		1
Bad Laer	Bad Laer	22,18	21,700	0,480	22,18	21,700	0,480	0	Oberkatzbach	21,84	21,330	0,510	21,79	21,330	0,460	5	1	
Bad Laer	Bad Laer	21,77	21,180	0,590	21,77	21,180	0,590	0	Oberkatzbach	21,99	21,440	0,550	21,86	21,440	0,420	13	1	
Bad Laer	Bad Laer	22,25	21,700	0,550	22,16	21,700	0,460	9	Oberkatzbach	21,83	21,330	0,500	21,83	21,330	0,500	0		1
Bad Laer	Bad Laer	22,24	21,700	0,540	22,13	21,700	0,430	11	Oberkatzbach	21,8	21,330	0,470	21,82	21,330	0,490	-2		1
Oberkatzbach	Bad Laer	21,77	21,180	0,590	21,59	21,180	0,410	18	Oberkatzbach	21,78	21,440	0,340	21,79	21,440	0,350	-1	1	
Oberkatzbach	Bad Laer	21,66	21,180	0,480	21,55	21,180	0,370	11	Oberkatzbach	21,79	21,440	0,350	21,8	21,440	0,360	-1	1	
Oberkatzbach	Bad Laer	21,93	21,430	0,500	21,79	21,430	0,360	14	Oberkatzbach	21,97	21,490	0,480	21,97	21,490	0,480	0	1	
Oberkatzbach	Bad Laer	21,87	21,430	0,440	21,78	21,430	0,350	9	Oberkatzbach	21,97	21,490	0,480	21,98	21,490	0,490	-1	1	

Herkunft Weibchen	Herkunft Männchen 1	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	Gewichtsdifferenz (%)	Herkunft Männchen 2	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	gewogen (g)	Glasgewicht (g)	Tiergewicht (g)	Gewichtsdifferenz (%)	populationsfremdes Männchen	populationseigenes Männchen
Oberkatzbach	Bad Laer	22,07	21,430	0,640	21,99	21,430	0,560	8	Oberkatzbach	21,94	21,490	0,450	21,96	21,490	0,470	-2	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	22,2	21,180	1,020	21,59	21,180	0,410	61	Bad Lauterberg	21,78	21,440	0,340	21,78	21,440	0,340	0		1
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	21,71	21,180	0,530	21,7	21,180	0,520	1	Bad Lauterberg	22,09	21,440	0,650	21,92	21,440	0,480	17	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	21,7	21,180	0,520	21,66	21,180	0,480	4	Bad Lauterberg	21,97	21,440	0,530	21,87	21,440	0,430	10	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	21,73	21,180	0,550	21,72	21,180	0,540	1	Bad Lauterberg	21,99	21,440	0,550	21,88	21,440	0,440	11	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	22,39	21,702	0,688	22,42	21,7	0,719	-3	Bad Lauterberg	21,98	21,33	0,647	21,89	21,33	0,556	9	1	
Gr.- Ellershsn.	Gr.- Ellershsn.	21,791	21,151	0,640	21,77	21,15	0,623	2	Bad Lauterberg	22,56	21,85	0,710	22,31	21,85	0,461	25	1	
Hasbruch	Hasbruch	21,82	21,150	0,670	21,73	21,150	0,580	9	Göttingen	21,52	21,080	0,440	21,33	21,080	0,250	19	1	
Hasbruch	Hasbruch	21,79	21,150	0,640	21,82	21,150	0,670	-3	Göttingen	21,85	21,080	0,770	21,64	21,080	0,560	21	1	
Hasbruch	Hasbruch	21,9	21,080	0,820	21,72	21,080	0,640	18	Knutbühren	21,89	21,150	0,740	21,89	21,150	0,740	0		1
Hasbruch	Hasbruch	22,22	21,460	0,760	22,18	21,460	0,720	4	Knutbühren	22,51	21,850	0,660	22,37	21,850	0,520	14	1	
Hasbruch	Hasbruch	22,18	21,490	0,690	21,99	21,490	0,500	19	Knutbühren	22,13	21,430	0,700	22,11	21,430	0,680	2		1
Ossenfeld I	Bad Laer	21,72	21,150	0,570	21,56	21,150	0,410	16	Ossenfeld II	21,7	21,080	0,620	21,69	21,080	0,610	1	1	
Ossenfeld I	Bad Laer	21,69	21,150	0,540	21,66	21,150	0,510	3	Ossenfeld I	21,72	21,080	0,640	21,57	21,080	0,490	15		1
Ossenfeld II	Bad Laer	22,2	21,430	0,770	TOT	21,430			Ossenfeld II	22,09	21,490	0,600	21,99	21,490	0,500	10	/	/
Ossenfeld II	Ossenfeld I	22,04	21,430	0,610	21,91	21,430	0,480	13	Ossenfeld II	22,02	21,490	0,530	21,99	21,490	0,500	3	1	
Hildesheim	Hildesheim	22,38	21,700	0,680	22,37	21,700	0,670	1	Ludolfshausen	21,86	21,330	0,530	21,71	21,330	0,380	15	1	
Hildesheim	Hildesheim	22,24	21,702	0,538	22,09	21,7	0,383	15	Ludolfshausen	21,67	21,08	0,592	21,7	21,08	0,614	-2		1
Hildesheim	Hildesheim	21,67	21,151	0,519	21,48	21,15	0,326	19	Ludolfshausen	21,79	21,18	0,612	21,78	21,18	0,607	1	1	
Kaufunger Wald	Bad Lauterberg	21,8	21,150	0,650	21,74	21,150	0,590	6	Kaufunger Wald	21,54	21,080	0,460	21,54	21,080	0,460	0	1	
Kaufunger Wald	Bad Lauterberg	22,15	21,490	0,660	22,03	21,490	0,540	12	Kaufunger Wald	22,11	21,430	0,680	22,13	21,430	0,700	-2	1	
Kaufunger Wald	Bad Lauterberg	21,76	21,180	0,580	21,77	21,180	0,590	-1	Kaufunger Wald	22,18	21,440	0,740	22,11	21,440	0,670	7		1
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	22,086	21,46	0,626	21,95	21,46	0,485	14	Hildesheim	22,05	21,43	0,622	21,93	21,43	0,501	12	/	/
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	22,159	21,487	0,672	22,21	21,49	0,718	-5	Hildesheim	22,32	21,7	0,616	22,22	21,7	0,522	9	1	
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	21,79	21,150	0,640	21,8	21,150	0,650	-1	Hasbruch	21,58	21,080	0,500	21,55	21,080	0,470	3	1	
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	22,34	21,850	0,490	22,35	21,850	0,500	-1	Hasbruch	21,9	21,460	0,440	21,79	21,460	0,330	11	1	
Bad Lauterberg	Bad Lauterberg	21,93	21,490	0,440	21,91	21,490	0,420	2	Hasbruch	22,13	21,430	0,700	21,91	21,430	0,480	22	1	
Scheden	Scheden	22,459	21,851	0,608	22,3	21,85	0,453	16	Zwölfgehren	21,85	21,18	0,673	21,54	21,18	0,366	31		1
Scheden	Scheden	22,073	21,46	0,613	21,88	21,46	0,423	19	Zwölfgehren	22,04	21,49	0,550	22,15	21,49	0,663	-11	1	
Ebersberg	Ludolfshausen	21,74	21,150	0,590	21,66	21,150	0,510	8	Ebersberg	21,6	21,080	0,520	21,59	21,080	0,510	1	1	
Bremke	Bremke	22,18	21,700	0,480	22,28	21,700	0,580	10	Bad Laer	21,92	21,330		21,65	21,330	0,320	-27	1	

Anhang Bioakustik

Tab. 3.6*A*-1: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms. Individuen aller untersuchten Populationen gemittelt

Größenklasse	Bad Laer (%)	Bad Lauter-berg (%)	Bremke (%)	Göttingen (%)	Hasbruch (%)	Hildesheim (%)	Knutbühren Bank (%)
50	0	0	0	0	0	0	0
100	5	3	2	2	3	3	3
150	27	19	14	30	29	17	22
200	5	13	17	3	9	17	12
250	4	4	4	7	4	3	3
300	2	4	5	4	4	0	2
350	0	3	2	1	1	0	1
400	1	1	1	0	1	0	0
450	1	1	0	0	0	0	1
500	1	1	0	1	1	3	1
550	1	2	0	2	0	4	2
600	3	3	0	5	1	8	4
650	8	6	2	9	3	14	4
700	9	8	4	14	5	16	6
750	12	6	6	9	10	8	10
800	8	6	13	6	9	4	11
850	6	6	8	4	8	1	8
900	4	6	9	2	4	0	6
950	2	4	6	1	3	0	4
1000	1	3	7	0	3	0	2

Größenklasse	Knutbühren Kreuzung (%)	Ludolfshausen (%)	Ebersberg (%)	Groß-Ellershausen (%)	Ossenfeld I (%)	Ossenfeld II (%)	Scheden (%)
50	0	0	0	0	0	0	0
100	1	3	1	4	1	2	1
150	15	24	37	37	22	21	30
200	8	14	10	8	8	10	16
250	3	4	2	2	3	1	3
300	4	3	1	2	6	1	1
350	2	1	0	1	2	1	0
400	1	1	0	0	0	1	0
450	0	1	0	0	0	1	0
500	1	2	0	0	0	1	0
550	2	2	2	1	0	2	1
600	4	5	6	3	2	4	5
650	6	7	10	6	9	6	8
700	7	9	9	6	8	11	13
750	7	9	5	9	9	9	11
800	10	7	5	7	5	9	7
850	10	5	3	4	5	7	2
900	9	3	1	3	9	6	2
950	6	1	0	2	6	5	1
1000	4	1	0	1	3	2	0

Tab. 3.6*A*-2: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Bad Laer*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)	Tier 5 (%)	Tier 6 (%)	Tier 7 (%)	Tier 8 (%)
50	0	0	0	0	0	0	0	0
100	5	0	3	1	18	0	7	8
150	19	20	45	11	26	41	35	22
200	7	3	3	10	4	2	4	7
250	2	10	0	5	7	0	0	10
300	0	5	0	2	1	0	0	5
350	0	0	0	0	0	0	0	2
400	0	0	0	0	0	0	2	2
450	0	1	0	1	0	0	2	2
500	1	3	0	0	0	0	4	1
550	0	2	0	2	1	0	2	0
600	5	6	2	3	5	3	0	1
650	9	16	12	10	6	5	2	5
700	9	10	9	11	13	7	7	5
750	12	10	15	10	9	23	13	8
800	15	4	8	10	5	12	7	5
850	7	4	2	13	2	4	7	5
900	5	3	0	8	1	2	7	5
950	1	2	0	2	0	0	2	5
1000	1	0	0	1	0	0	0	3
ausgewertete Intervalle	n= 274	n= 241	n= 260	n= 347	n= 408	n= 234	n= 55	n= 375

Tab. 3.6*A*-3: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Bad Lauterberg*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)	Tier 5 (%)	Tier 6 (%)	Tier 7 (%)
50	0	0	0	0	0	0	0
100	5	2	6	3	1	2	2
150	20	17	26	19	9	20	20
200	8	15	8	23	5	25	6
250	3	4	4	3	7	2	3
300	1	2	4	2	8	2	6
350	2	2	3	2	5	1	6
400	0	2	0	1	0	4	1
450	0	3	1	3	0	4	0
500	0	2	2	1	0	2	1
550	0	3	3	4	0	4	2
600	1	4	5	2	2	4	7
650	2	7	4	5	5	10	8
700	3	11	9	7	8	11	6
750	4	9	5	6	5	6	7
800	6	3	6	10	7	3	7
850	9	4	7	5	6	2	10
900	13	4	7	2	10	2	6
950	13	3	2	3	9	0	2
1000	9	3	0	0	12	0	1
ausgewertete Intervalle	n= 618	n= 271	n= 258	n= 195	n= 561	n= 133	n= 288

Tab. 3.6*A*-4: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Bremke*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)
50	0	0	0
100	1	0	6
150	15	7	20
200	15	26	11
250	4	3	5
300	6	5	5
350	1	1	4
400	0	2	1
450	0	0	0
500	0	0	0
550	0	0	1
600	0	0	0
650	0	2	4
700	3	5	3
750	8	9	3
800	19	16	3
850	10	8	6
900	7	8	10
950	6	3	9
1000	6	5	9
ausgewertete Intervalle	n= 511	n= 153	n= 309

Tab. 3.6*A*-5: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Göttingen*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)
50	0	0	0	0
100	3	4	0	0
150	17	18	41	45
200	2	3	6	3
250	14	14	1	0
300	5	10	1	1
350	2	1	0	0
400	0	0	0	0
450	0	1	0	0
500	1	1	0	0
550	4	3	0	0
600	11	7	1	1
650	10	12	7	6
700	11	10	18	15
750	6	8	8	15
800	5	3	8	7
850	5	2	4	4
900	2	2	3	2
950	1	0	1	0
1000	0	0	0	0
ausgewertete Intervalle	n= 263	n= 519	n= 180	n= 239

Tab. 3.6*A*-6: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Hasbruch*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)
50	0	0	0	0
100	2	9	2	0
150	13	40	14	51
200	3	4	24	6
250	10	2	4	0
300	8	2	5	0
350	3	1	0	0
400	2	1	0	0
450	0	1	0	0
500	0	0	0	1
550	1	1	0	0
600	4	1	1	0
650	6	3	2	0
700	5	9	4	2
750	11	8	7	13
800	8	8	11	10
850	9	4	9	11
900	3	2	8	3
950	6	2	5	0
1000	6	1	3	0
ausgewertete Intervalle	n= 324	n= 6572	n= 1224	n= 203

Tab. 3.6*A*-7: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Hildesheim*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)
50	0	0	0
100	0	0	8
150	19	10	22
200	26	21	5
250	1	1	6
300	0	0	1
350	0	0	0
400	0	0	0
450	0	0	1
500	1	1	5
550	1	2	9
600	7	4	14
650	13	19	11
700	22	18	9
750	8	12	4
800	0	7	4
850	0	2	0
900	0	0	0
950	0	0	0
1000	0	0	0
ausgewertete Intervalle	n= 203	n= 267	n= 330

Tab. 3.6*A*-8: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Knutbühren Kreuzung*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)	Tier 5 (%)	Tier 6 (%)
50	0	0	0	1	0	1
100	0	3	2	1	0	3
150	16	13	39	12	1	9
200	8	11	9	6	5	11
250	4	3	1	5	2	5
300	6	1	1	6	10	2
350	2	1	0	3	5	1
400	0	0	0	1	2	0
450	0	0	0	1	0	0
500	0	1	0	1	1	0
550	2	2	0	4	3	2
600	3	5	1	2	4	6
650	10	7	3	3	7	7
700	10	7	4	7	8	8
750	6	10	6	7	7	6
800	7	14	8	10	6	15
850	8	13	8	9	9	13
900	14	6	11	6	9	8
950	6	2	5	7	13	2
1000	0	1	2	9	9	1
ausgewertete Intervalle	n= 305	n= 1688	n= 539	n= 359	n= 422	n= 353

Tab. 3.6*A*-9: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Knutbühren Bank*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)	Tier 5 (%)	Tier 6 (%)	Tier 7 (%)	Tier 8 (%)	Tier 9 (%)	Tier 10 (%)	Tier 11 (%)
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	2	3	0	3	6	0	3	2	5	1	6
150	27	31	9	32	13	27	17	16	15	20	5
200	19	14	10	8	31	9	3	12	8	12	8
250	4	2	1	2	6	2	7	3	7	2	8
300	3	3	2	2	6	4	3	4	3	0	3
350	1	0	1	0	0	1	2	1	3	1	3
400	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1
450	0	0	2	1	0	0	0	1	0	1	3
500	0	0	2	0	0	2	0	3	0	1	8
550	0	0	4	1	0	2	3	6	1	2	9
600	2	0	8	2	0	5	3	11	4	0	16
650	2	0	6	4	0	4	4	10	9	3	6
700	3	1	9	5	0	6	4	7	7	4	6
750	8	3	7	10	25	3	11	5	7	16	6
800	9	9	7	8	0	3	12	7	7	26	7
850	8	13	9	8	0	9	9	5	9	9	3
900	8	8	12	5	6	9	8	4	9	1	2
950	2	9	6	3	6	10	8	2	4	1	1
1000	1	4	5	3	0	2	1	0	1	0	0
ausgewertete Intervalle	n= 607	n= 1403	n= 458	n= 237	n= 16	n= 248	n= 493	n= 458	n= 375	n= 237	n= 619

Fortsetzung Tab. 3.6*A*-9:

Größenklasse	Tier 12 (%)	Tier 13 (%)	Tier 14 (%)	Tier 15 (%)	Tier 16 (%)	Tier 17 (%)	Tier 18 (%)	Tier 19 (%)	Tier 20 (%)	Tier 21 (%)
50	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
100	0	2	14	1	1	1	2	3	9	5
150	28	27	14	49	20	22	14	27	28	9
200	20	19	8	9	0	14	21	13	9	1
250	1	4	3	1	1	1	5	1	2	0
300	0	3	2	0	0	3	2	0	0	0
350	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
400	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
450	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
500	0	0	6	0	0	1	0	1	0	0
550	0	0	5	1	0	0	0	1	0	0
600	2	2	6	10	1	1	1	1	2	1
650	8	2	7	12	1	2	7	2	5	1
700	5	3	6	5	14	4	9	6	12	8
750	14	8	6	7	26	3	11	10	7	20
800	16	9	5	3	18	4	13	19	12	28
850	3	8	5	1	16	10	4	14	7	21
900	1	8	6	0	2	14	5	2	4	5
950	0	2	2	0	0	10	4	0	1	2
1000	0	1	3	0	0	7	1	0	0	1
ausgewertete Intervalle	n= 291	n= 607	n= 200	n= 697	n= 312	n= 254	n= 294	n= 269	n= 217	n= 316

Tab. 3.6*A*-10: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Ebersberg*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)	Tier 5 (%)	Tier 6 (%)
50	0	0	0	0	0	0
100	0	0	2	0	1	3
150	36	52	23	43	47	21
200	8	9	16	10	9	9
250	4	1	4	2	1	1
300	1	0	2	2	1	0
350	0	0	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0	0
450	0	0	0	0	0	0
500	0	0	2	0	0	0
550	1	1	3	1	0	4
600	6	5	12	3	3	8
650	6	11	17	9	8	12
700	8	6	11	8	12	6
750	9	6	3	5	5	1
800	12	3	4	7	5	0
850	5	4	1	5	4	1
900	2	2	0	3	0	0
950	0	0	0	1	2	0
1000	1	0	0	0	1	0
ausgewertete Intervalle	n= 289	n= 279	n= 264	n= 489	n= 292	n= 191

Tab. 3.6*A*-11: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Groß-Ellershausen*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)	Tier 5 (%)	Tier 6 (%)	Tier 7 (%)	Tier 8 (%)
50	0	0	0	0	0	0	0	0
100	5	11	7	0	0	8	0	3
150	49	41	48	37	23	16	44	39
200	4	12	5	12	16	3	8	5
250	1	1	3	1	2	2	2	3
300	2	1	1	0	6	2	2	2
350	1	1	0	0	1	1	0	0
400	0	0	1	0	0	1	0	0
450	0	0	0	0	0	1	0	0
500	1	1	0	0	0	1	1	0
550	2	1	0	0	2	4	0	0
600	2	1	2	3	6	8	0	0
650	6	7	6	7	10	7	2	3
700	9	6	9	5	10	3	8	4
750	4	8	6	22	11	9	10	5
800	8	8	8	10	5	9	4	5
850	4	1	4	3	5	7	7	2
900	1	0	0	2	1	12	4	2
950	1	0	0	0	2	7	3	3
1000	0	0	0	0	0	1	4	1
ausgewertete Intervalle	n= 184	n= 306	n= 246	n= 186	n= 206	n= 191	n= 468	n= 167

Tab. 3.6*A*-12: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Ossenfeld I*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)	Tier 5 (%)	Tier 6 (%)
50	0	0	0	0	0	0
100	4	0	0	1	0	3
150	12	22	14	43	22	19
200	3	12	6	15	12	3
250	11	1	2	0	2	5
300	7	11	10	0	3	5
350	1	2	2	0	1	5
400	0	0	0	0	0	0
450	0	0	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	0
550	1	0	0	0	1	0
600	3	1	0	3	3	1
650	10	8	3	13	10	8
700	6	9	9	9	5	8
750	4	16	11	8	13	4
800	2	5	6	5	9	4
850	10	3	8	1	8	1
900	17	5	13	0	5	12
950	4	2	10	0	3	13
1000	3	2	5	0	1	8
ausgewertete Intervalle	n= 345	n= 129	n= 324	n= 271	n= 341	n= 473

Tab. 3.6*A*-13: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Ossenfeld II*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)
50	0	0	0
100	1	3	1
150	7	21	36
200	6	12	12
250	1	1	1
300	1	2	1
350	0	1	1
400	0	1	1
450	0	2	0
500	1	1	1
550	3	3	1
600	2	2	7
650	3	8	8
700	4	14	15
750	14	8	6
800	10	10	6
850	14	5	3
900	12	5	1
950	14	0	1
1000	7	0	0
ausgewertete Intervalle	n= 308	n= 332	n= 352

Tab. 3.6*A*-14: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Scheden*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)
50	0	0	0	0
100	1	1	2	1
150	21	25	32	42
200	21	21	18	2
250	3	4	5	1
300	1	1	0	0
350	0	0	0	0
400	0	0	0	0
450	0	0	0	0
500	0	0	0	0
550	1	1	2	1
600	3	5	6	4
650	4	5	7	15
700	9	10	8	25
750	15	10	10	7
800	9	9	7	3
850	5	4	1	0
900	3	2	2	1
950	3	1	0	0
1000	0	0	0	0
ausgewertete Intervalle	n= 814	n= 1610	n= 238	n= 142

Tab. 3.6*A*-15: Relative Häufigkeiten der Lauterzeugungsintervalle in Größenklassen von 50 bis 1000 ms der untersuchten Individuen aus der Population *Ludolfshausen*

Größenklasse	Tier 1 (%)	Tier 2 (%)	Tier 3 (%)	Tier 4 (%)	Tier 5 (%)	Tier 6 (%)
50	0	1	0	0	0	0
100	22	0	1	0	2	0
150	39	41	34	19	16	12
200	3	13	17	27	18	27
250	3	2	4	1	6	3
300	1	3	1	3	2	2
350	1	1	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0	0
450	0	1	0	0	0	0
500	0	6	0	0	0	0
550	4	4	0	0	0	1
600	6	10	1	3	5	4
650	8	2	4	9	13	7
700	4	4	14	10	11	13
750	3	3	10	11	12	11
800	1	3	10	6	4	8
850	2	3	1	7	1	7
900	2	1	0	4	6	3
950	0	0	0	0	0	0
1000	0	1	0	0	0	0
ausgewertete Intervalle	n= 318	n= 125	n= 296	n= 302	n= 202	n= 356

Größenklasse	Tier 7 (%)	Tier 8 (%)	Tier 9 (%)	Tier 10 (%)	Tier 11 (%)	Tier 12 (%)	Tier 13 (%)
50	0	0	1	0	0	0	0
100	0	3	2	4	0	0	0
150	19	22	11	32	13	39	16
200	6	8	7	6	8	11	27
250	4	9	10	8	2	2	2
300	2	4	7	3	8	0	2
350	0	2	7	2	3	0	0
400	0	5	4	1	1	0	0
450	0	2	4	1	1	0	0
500	1	3	5	3	2	0	0
550	3	1	6	2	4	0	0
600	9	6	9	3	7	0	1
650	13	9	6	6	8	0	8
700	8	7	6	7	7	10	13
750	15	9	7	5	10	10	11
800	12	6	5	7	10	10	7
850	5	3	2	4	6	11	7
900	2	1	0	2	6	2	4
950	0	0	0	2	5	2	1
1000	0	0	0	1	1	3	0
ausgewertete Intervalle	n= 445	n= 236	n= 469	n= 382	n= 400	n= 61	n= 1611

Tab. 3.6*A*-16: Mittelwerte und Standardabweichung der Strophen- und der Silbenintervalle

Population	Mittelwert Silbenabstand	Mittelwert Strophen-abstand	Std.-Abweichung des Silbenabstands	Std.-Abweichung des Strophenab-stands
Bad Laer	144	728	22,85	31,3
Bad Lauterberg	161	792	16,58	53,60
Bremke	168	825	12,38	22,67
Ebersberg	145	694	9,15	40,20
Göttinger Wald	162	695	26,67	18,89
Groß-Ellershausen	139	740	12,09	31,77
Hasbruch	138	763	28,04	22,52
Hildesheim	152	663	8,70	20,08
Knutbühren Bank	151	748	17,43	63,51
Knutbühren Kreuzung	162	771	33,01	28,66
Ludolfshausen	161	718	18,03	30,68
Ossenfeld I	169	779	19,15	52,33
Ossenfeld II	148	755	10,06	69,14
Scheden	156	721	16,86	30,07

Anhang Populationsgenetik

Tab. 2.6*A*-1: Individuen-/Populationscode für die RAPD-Analyse, nach dem die Reaktionsgefäße gelabelt wurden

Population	**Individuenzahl**	**Code**	Ind.1	Ind.2	Ind.3	Ind.4	Ind.5	Ind.6	Ind.7	Ind.8
Bad Laer	5	A	A1	A2	A3	A4	A5			
Bad Lauterberg	4	B	B1	B2	B3	B4				
Bremke	4	D	D1	D2	D3	D4				
Göttinger Wald	7	E	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	
Groß-Ellershausen	6	F	F1	F2	F3	F4	F5	F6		
Ebersberg Weg	5	G	G1	G2	G3	G4	G5			
Hasbruch	7	H	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	
Hildesheim	7	I	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7	
Kaufunger Wald	8	L	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
Knutbühren	7	M	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	
Ludolfshausen	6	N	N1	N2	N3	N4	N5	N6		
Moosach I	3	O	O1	O2	O3					
Moosach II	2	P	P1	P2						
12Gehren	5	R	R1	R2	R3	R4	R5			
Oberkatzbach	8	S	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Ossenfeld I	5	T	T1	T2	T3	T4	T5			
Ossenfeld II	3	V	V1	V2	V3					
Scheden	8	W	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8
Weißwassertal	7	X	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	
Ebersberg Weiher	3	Q	Q1	Q2	Q3					
B. obtusus	2	B.o.	B.o.1	B.o.2						
B. constrictus	5	Z	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5			
B. ocskayi	4	Z	Z6	Z7	Z8	Z9				
Summe	**124**									

Tab. 2.6*A*-2: Individuen-/Populationscode für die AFLP-Analyse, nach dem die Reaktionsgefäße gelabelt wurden

Population	**Individuenzahl**	**Code**	**Individuen**									
Bad Laer	5	A	A1	A2	A3	A4	A5					
Bad Lauterberg	11	B	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10
			B11									
Bremke	10	D	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
Göttinger Wald	7	E	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7			
Groß-Ellershausen	6	F	F1	F2	F3	F4	F5	F6				
Ebersberg Weg	6	G	G1	G2	G3	G4	G5	G6				
Hasbruch	7	H	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10
			H11	H12	H13	H14						

Hildesheim	7	I	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7			
Kaufunger Wald	8	L	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8		
Knutbühren	7	M	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7			
Knutbühren Kreuzung	13	Ma	Ma1	Ma2	Ma3	Ma4	Ma5	Ma6	Ma7	Ma8	Ma9	Ma10
			Ma11	Ma12	Ma13							
Knutbühren Bank	20	Mb	Mb1	Mb2	Mb3	Mb4	Mb5	Mb6	Mb7	Mb8	Mb9	Mb10
			Mb11	Mb12	Mb13	Mb14	Mb15	Mb16	Mb17	Mb18	Mb19	Mb20
Ludolfshausen	6	N	N1	N2	N3	N4	N5	N6				
Moosach I	3	O	O1	O2	O3							
Moosach II	2	P	P1	P2								
12Gehren	5	R	R1	R2	R3	R4	R5					
Oberkatzbach	12	S	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
			S11	S12	S13							
Ossenfeld I	5	T	T1	T2	T3							
Ossenfeld II	4	V	V1	V2	V3	V4						
Scheden	8	W	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8		
Weißwassertal	7	X	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7			
Ebersberg Weiher	3	Q	Q1	Q2	Q3							
B. obtusus	3	B.o.	B.o.1	B.o.2	B.o.3							
B. constrictus	5	B.c.	B.c.1	B.c.2	B.c.3	B.c.4	B.c.5					
B. constrictus	5	Z	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5					
B. ocskayi	6	Z	Z6	Z7	Z8	Z9	Z11	Z13				
B. yersini	6	B.y.	By1	By2	By3	By4	By5	By6				
B. fischeri	1	B.f.	Bf1									
Inzucht F3 Lu	12	Ø	Ø1	Ø2	Ø3	Ø4	Ø5	Ø6	Ø7	Ø8	Ø9	Ø10
			Ø11	Ø12								
Inzucht F3 Kontrolle Lu	7	Ø	Ø13	Ø14	Ø15	Ø16	Ø17	Ø18	Ø19			

Tab. 3.7*A*-1: Konzentration und Gesamtmenge isolierter DNA aus den Gewebeproben

Population	*Ind.-Code*	*λ 260/280nm*	*Konz. der Ausgangslösung ng/µl*	*Konz. Der Gesamtlösung ng/µl*	*Konz. der verdünnten Lösung ng/µl*
Bad Laer	A1	1,64	1802	83298	75,4
	A2	1,6	1033	50617	100,5
	A3	1,4	1389	68061	91.8
	A4	1,63	792	38808	117.1
	A5	1,68	1001	49049	84.4
Bd. Ltbg.	B1	1,49	919	45031	98,1
	B1	1,79	1302	63798	102,5
	B3	1,65	956	46844	108,4
	B4	1,5	1390	68110	126,2
	B5	1,76	536,5	25752	111,5
	B6	1,71	949	45552	100,9
	B7	1,83	638,3	30638	125,2
	B8	1,67	856,4	41107	120,8
	B9	1,76	1522,1	73061	93,7
	B10	1,75	1596,6	76637	91,4
	B11	1,79	1951,5	93672	67
Bremke	D1	1,72	508	24892	104,5
	D2	1,77	1045	51205	84,5
	D3	1,73	955	46795	103,3
	D4	1,57	356	17444	71,2
	D5	1,65	658,2	31594	128,7
	D6	1,75	1313,9	63067	92,4
	D7	1,73	1201,8	57686	87,8
	D8	1,63	889,8	42710	110,4
	D9	1,83	590,6	28349	121,6
	D10	1,75	695	33360	125,4
Gö-Wald	E1	1,78	431	21119	99.7
	E2	1,69	575	28175	108,1
	E3	1,77	854	41846	116,9
	E4	1,36	380	18620	99,1
	E5	1,48	306	14994	126,7
	E6	1,63	531	26019	123,1
	E7	1,81	514	25186	101,6
Gr.-Ellershsn.	F1	1,66	504	24696	118,3
	F2	1,52	1696	83104	164,4
	F3	1,62	810	39690	138,2
	F4	1,72	707	34643	115,8
	F5	1,73	589	28861	88,8
	F6	1,68	838	41062	107,7
Ebersb. Weg	G1	1,46	867	42483	90,5
	G2	1,57	1407	68943	89,2
	G3	1,54	1225	60025	109,2
	G4	1,56	1036	50764	138,3
	G5	1,44	345	16905	114,4
	G6	1,9	187,2	8986	130,5

Population	*Ind.-Code*	*λ 260/280nm*	*Konz. der Ausgangslösung ng/µl*	*Konz. Der Gesamtlösung ng/µl*	*Konz. der verdünnten Lösung ng/µl*
Hasbruch	H1	1,33	415	20335	111,3
	H2	1,57	860	42140	115,5
	H3	1,58	979	47971	91,7
	H4	1,67	302	14798	154,8
	H5	1,7	335	16415	115,1
	H6	1,61	910	44590	91,1
	H7	1,44	688	33712	42,3
	H8	1,64	2058,1	98789	99,6
	H9	1,67	1397,2	67066	91,3
	H10	1,67	1490	71520	88,7
	H11	1,65	1326,8	63686	96,7
Hasbruch	H12	1,53	1148	55104	140,7
	H13	1,64	1401,4	67267	109,5
	H14	1,53	1073,8	51542	119
Hildesheim	I1	1,92	623	27412	127
	I2	1,74	1429	62876	249
	I3	1,74	893	39292	108,2
	I4	1,52	811	35684	130,9
	I5	1,47	570	25080	132,6
	I6	1,63	605	26620	148
	I7	1,45	312	13728	126,1
Kauf. Wald	L1	1,61	245	12005	246,9
	L2	1,69	1098	53802	105,3
	L3	1,69	969	47481	78,4
	L4	1,67	392	19208	114,7
	L5	1,76	469	22981	113,1
	L6	1,81	769	37681	97,5
	L7	1,57	731	35819	115,5
	L8	1,33	808	39592	85,9
Knutbühren gesammelt 2003	M1	1,61	1327	65023	66,7
	M2	1,59	1319	64631	75,2
	M3	1,76	664	32536	318,7
	M4	1,65	604	29596	148,7
	M5	1,64	905	44345	92,5
	M6	1,54	1200	58800	101,2
	M7	1,52	788	38612	121,8
Knutbühren Kreuzung	Ma1	1,53	950,3	45614	114,2
	Ma2	1,65	1280,9	61483	95,9
	Ma3	1,63	1181,2	56698	103
	Ma4	1,51	890,7	42754	131,2
	Ma5	1,65	1247,5	59880	92,6
	Ma6	1,76	1956,5	93912	76,4
	Ma7	1,6	1014	48672	98,2
	Ma8	1,77	699,2	33562	147,1
	Ma9	1,71	927,2	44506	98,1
	Ma10	1,57	1233,4	59203	128,5
	Ma11	1,87	663,6	31853	124,7
	Ma12	1,52	796,7	38242	106,4

Population	*Ind.-Code*	*λ 260/280nm*	*Konz. der Ausgangslösung ng/µl*	*Konz. Der Gesamtlösung ng/µl*	*Konz. der verdünnten Lösung ng/µl*
Knutbühren Bank	Mb1	1,66	1190,3	57134	91,6
	Mb2	1,63	1400,2	67210	107,1
	Mb3	1,6	935,5	44904	102,9
	Mb4	1,63	1985,1	95285	80,9
	Mb5	1,7	1572,8	75494	92,3
	Mb6	1,65	1424,2	68362	109,7
	Mb7	1,59	1128,5	54168	110,6
	Mb8	1,66	1141,6	54797	109,3
	Mb9	1,67	1338,4	64243	90,6
	Mb10	1,8	1546,3	74222	83,5
	Mb11	1,79	2031	97488	91,1
	Mb12	1,76	1471,4	70627	109,4
	Mb13	1,6	917,5	44040	123,8
	Mb14	1,69	1409,7	67666	98,8
	Mb15	1,69	1292,1	62021	105,2
	Mb16	1,74	1789,8	85910	81,1
	Mb17	1,7	961,3	46142	101,3
	Mb18	2,04	690,6	33149	123,9
	Mb19	1,67	1497,9	71899	84,5
	Mb20	1,88	2368,5	113688	75,7
Ludolfshsn.	N1	1,36	1614	79086	111,3
	N2	1,81	1076	52724	96
	N3	1,73	653	31997	166
	N4	1,8	974	47726	109,9
	N5	1,68	1094	53606	92,4
	N6	1,48	1406	68894	70,5
Moosach I	O1	1,55	927	45423	94,1
	O2	1,67	647	31703	94,2
	O3	1,5	878	43022	105,2
Moosach II	P1	1,78	329	16121	143,3
	P2	1,8	951	46599	95,3
Ebersberg Weiher	Q1	1,67	561	27489	100,4
	Q2	1,42	198	9702	90,4
	Q3	1,72	973	47677	85,5
Zwölfgehren	R1	1,56	1024	50176	129,7
	R2	1,72	979	47971	82,6
	R3	1,63	837	41013	110,2
	R4	1,73	371	18179	164,6
	R5	1,21	601	29449	60
Oberkatzbach	S1	1,94	919	45031	106,3
	S2	1,91	496	24304	164,6
	S3	1,76	1137	55713	89,4
	S4	1,8	406	19894	134,5
	S5	1,8	465	22785	129,3
	S6	1,95	327	16023	144,8
	S7	1,85	442	21658	170,3
	S8	1,66	489	23961	108,2

Population	*Ind.-Code*	*λ 260/280nm*	*Konz. der Ausgangslösung ng/µl*	*Konz. Der Gesamtlösung ng/µl*	*Konz. der verdünnten Lösung ng/µl*
Oberkatzbach	S9	1,95	315,6	15464,4	29
	S10	1,6	33,3	1631,7	nicht verdünnt
	S11	1,92	404,4	19815,6	42,7
	S12	1,62	20,1	984,9	nicht verdünnt
Ossenfeld I	T1	1,58	995	48755	94,1
	T2	1,53	793	38857	104
	T3	1,68	726	35574	94,5
	T4	3,05	0	0	54,4
	T5	3,2	0	0	49,1
Ossenfeld II	V1	1,4	1238	60662	98,3
	V2	1,73	1060	51940	94,8
	V3	1,82	1553	76097	52,7
	V4	1,72	1623,5	77928	87,3
Scheden	W1	1,7	921	40524	144
	W2	1,79	1453	63932	98,2
	W3	1,62	563	24772	121,2
	W4	1,76	1138	50072	98,3
	W5	1,76	933	41052	100,4
	W6	1,66	1815	79860	100,1
	W7	1,62	1254	55176	91,4
	W8	1,78	888	39072	118
Weißwassertal	X1	1,57	176	8624	105,7
	X2	1,56	548	26852	114
	X3	1,72	250	12250	179,1
	X4	1,73	873	42777	125,3
	X5	1,57	509	24941	117,1
	X6	1,74	678	33222	104,4
	X7	1,78	793	38857	109
	X8	1,57	384	18816	117,9
B. constrictus	B.c.1	1,78	1169,2	56122	94,1
	B.c.2	1,79	1425,5	68424	94,5
	B.c.3	1,81	1828,3	87758	60,5
	B.c.4	1,84	1497,5	71880	80,1
	B.c.5	1,79	1265,7	60754	79,9
	Z1	1,53	934	45766	111,5
	Z2	1,72	1275	62475	86,7
	Z3	1,59	889	43561	102,1
	Z4	1,82	489	23961	120
	Z5	1,64	787	38563	151,9
B. ocscayi	Z6	1,74	1046	51254	157,4
	Z7	1,74	1384	67816	89,3
	Z8	1,47	630	30870	108
	Z9	1,72	1683	82467	95,5
	Z10	1,86	662,1	31780,8	75,3
	Z11	1,9	1024,4	49171,2	48,1
	Z12	1,85	2548,7	122337,6	41,9

Population	*Ind.-Code*	*λ 260/280nm*	*Konz. der Ausgangslösung ng/µl*	*Konz. Der Gesamtlösung ng/µl*	*Konz. der verdünnten Lösung ng/µl*
B. obtusus	Bo1	1,75	695	34055	225,3
	Bo2	1,97	694	34006	130,6
	Bo3	1,98	290,7	13953,6	65,7
	Bo4	1,86	707	33936	34,6
B. yersini	By1	1,83	445,8	21398,4	107,1
	By2	1,93	1037,3	49790,4	59,4
	By3	1,92	615	29520	108,9
	By4	1,89	1384,9	66475,2	54,5
	By5	1,89	631,6	30316,8	66,1
	By6	1,71	915	43920	123
	By7	1,86	389,8	18710,4	95,2
	By8	1,88	404,7	19425,6	130,1
	By9	1,84	510,9	24523,2	65,7
B. fischeri	Bf1	1,79	1821,2	87418	57,4
Inzucht F3 Ludolfshausen	Ø1	1,7	1018,4	48883	99,3
	Ø2	1,7	1210,1	58085	88,5
	Ø3	1,78	2088	100224	69,6
	Ø4	1,8	1179,8	56630	102,8
	Ø5	1,72	476,6	22877	105,6
	Ø6	1,99	646,9	31051	30,8
	Ø7	1,84	2008,1	96389	66,9
	Ø8	1,83	1899,7	91186	58,7
	Ø9	1,8	1605,4	77059	65,5
	Ø10	1,74	1317,4	63235	78
	Ø11	1,7	893	42864	96,4
	Ø12	1,7	979	46992	95,2
Ludolfshausen Kontrolle	Ø13	1,74	1628,7	78178	69,8
	Ø14	1,82	432	20736	109,7
	Ø15	1,74	1432,7	68770	75,8
	Ø16	1,76	1340,2	64330	74,1
	Ø17	1,7	1226	58848	90,4
	Ø18	1,73	1319,4	63331	91,9
	Ø19	1,7	967,7	46450	93,2

Tab. 3.7*A*-2: Berechnung der genetischen Distanz basierend auf den Daten der AFLP-Analyse von 21 Populationen der Art *B. serricauda*, sowie fünf weiteren Arten der Gattung *Barbitistes* nach NEI 1972. Zur Berechnung wurde das Programm AFLP-SURV 1.0 herangezogen. Als Grundlage dienten 106 polymorphe Amplifikate in einer Größenordnung von 60 bis 300 Basenpaaren

Nei_s genetic distance after Lynch and Milligan - 1994

Bad Laer	0.0000																					
Bad Lauterberg	0.1025	0.0000																				
Bremke	0.1201	0.0400	0.0000																			
Goettinger Wald	0.0760	0.0482	0.0419	0.0000																		
Gr.-Ellershsn.	0.0808	0.1027	0.1021	0.0365	0.0000																	
Ebersberg Weg	0.1546	0.1202	0.0749	0.0671	0.1148	0.0000																
Hasbruch	0.0788	0.0643	0.0584	0.0568	0.1054	0.1559	0.0000															
Hildesheim	0.1458	0.1459	0.1072	0.1239	0.1516	0.0859	0.1446	0.0000														
Kaufunger Wald	0.0856	0.0928	0.0390	0.0630	0.0835	0.1426	0.0675	0.1326	0.0000													
Knutb. Kr.	0.1266	0.0837	0.0681	0.0851	0.0861	0.1391	0.0875	0.1360	0.0466	0.0000												
Knutb. Bank	0.1163	0.0810	0.0678	0.0764	0.0802	0.1664	0.0674	0.1682	0.0395	0.0074	0.0000											
Ludolfshausen	0.1432	0.1234	0.0876	0.0839	0.0923	0.0748	0.1310	0.1245	0.0988	0.1034	0.0927	0.0000										
Moosach I	0.1347	0.1423	0.1364	0.0891	0.1266	0.0855	0.1497	0.1621	0.2307	0.1782	0.1720	0.1207	0.0000									
Moosach II	0.2608	0.1969	0.1908	0.1777	0.1722	0.1708	0.1867	0.2595	0.2052	0.1196	0.1050	0.1205	0.0657	0.0000								
Ebersberg Weiher	0.1538	0.0829	0.0826	0.1013	0.1541	0.0916	0.1282	0.0920	0.1082	0.0896	0.1011	0.0791	0.1088	0.0884	0.0000							
12Gehren	0.1212	0.1013	0.1054	0.0829	0.0944	0.1169	0.1326	0.1576	0.1057	0.1064	0.0851	0.0616	0.0943	0.0959	0.0852	0.0000						
Oberkatzbach	0.1291	0.1120	0.1046	0.1275	0.1478	0.1668	0.1065	0.2184	0.0887	0.0954	0.0671	0.1493	0.1677	0.1170	0.0512	0.1046	0.0000					
Ossenfeld 1	0.2053	0.1635	0.1637	0.1048	0.1638	0.2076	0.1608	0.2637	0.1245	0.1240	0.1060	0.1142	0.2324	0.2213	0.1848	0.1767	0.1548	0.0000				
Ossenfeld 2	0.1804	0.1672	0.1894	0.1477	0.1481	0.2729	0.1091	0.2811	0.1348	0.1168	0.0626	0.1595	0.1958	0.1159	0.2066	0.1107	0.1465	0.0890	0.0000			
Scheden	0.1453	0.1216	0.1032	0.1005	0.1335	0.0767	0.1616	0.1027	0.1238	0.1270	0.1337	0.0667	0.0859	0.1268	0.0799	0.0469	0.1520	0.1722	0.2101	0.0000		
Weisswassertal	0.1548	0.1070	0.0590	0.0989	0.1436	0.0999	0.1315	0.0843	0.0860	0.0823	0.0838	0.0966	0.1722	0.1611	0.0523	0.0698	0.0855	0.1954	0.2078	0.0588	0.0000	
B. *constrictus*	0.4419	0.4029	0.3205	0.4036	0.3907	0.4575	0.3556	0.4795	0.3061	0.3129	0.2917	0.3937	0.4322	0.2861	0.3833	0.2765	0.2609	0.5354	0.3497	0.3873	0.2967	0.0000
B. obtusus	0.4111	0.3800	0.2715	0.3383	0.4201	0.3411	0.3848	0.2997	0.2851	0.2964	0.2833	0.3679	0.4621	0.2747	0.2996	0.3412	0.3184	0.4136	0.4016	0.3912	0.2313	0.4022	0.0000
B. yersini	0.2279	0.2630	0.1736	0.2294	0.2958	0.2644	0.2338	0.2295	0.1846	0.2119	0.2125	0.2696	0.3032	0.2645	0.1989	0.2185	0.1802	0.3408	0.3315	0.2285	0.1232	0.2658	0.2654	0.0000
B. ocskayi	0.2323	0.2064	0.1432	0.1941	0.2561	0.2162	0.2171	0.2071	0.1576	0.1492	0.1551	0.2227	0.2630	0.2236	0.1272	0.1334	0.1230	0.3214	0.2448	0.1914	0.0941	0.2495	0.2888	0.1334	0.0000
B. fischeri	0.4591	0.3578	0.2909	0.3586	0.4656	0.4389	0.2817	0.4261	0.3375	0.3123	0.2841	0.4114	0.5046	0.5383	0.3891	0.4779	0.3193	0.3361	0.3903	0.4762	0.3027	0.5618	0.3395	0.3616	0.4053	0.0000

Tab. 3.7*A*-3: Berechnung der genetischen Distanz basierend auf den Daten der RAPD-Analyse von 20 Populationen der Art *B. serricauda*, sowie drei weiteren Arten der Gattung *Barbitistes* nach NEI 1972. Zur Berechnung wurde das Programm Popgene 32 herangezogen. Als Grundlage dienten 90 Amplifikate in einer Größenordnung von 200 bis 2000 Basenpaaren

Nei's genetic distance after Lynch and Milligan - 1994

Bad Laer	0.0000																					
BadLauterberg	0.1044	0.0000																				
Bremke	0.1671	0.1776	0.0000																			
Goettinger Wald	0.1345	0.0865	0.2081	0.0000																		
Gr.-Ellershsn.	0.1199	0.1539	0.0968	0.1886	0.0000																	
Ebersberg Weg	0.1740	0.1319	0.1027	0.1650	0.0284	0.0000																
Hasbruch	0.1539	0.0999	0.1583	0.0712	0.1021	0.0830	0.0000															
Hildesheim	0.2929	0.3487	0.1846	0.2266	0.2194	0.2571	0.2788	0.0000														
Kaufunger Wald	0.1619	0.1084	0.1150	0.0892	0.0936	0.0575	0.0114	0.2245	0.0000													
Knutbuehren	0.1363	0.1553	0.1126	0.1416	0.1248	0.0962	0.0606	0.1791	0.0527	0.0000												
Ludolfshausen	0.1611	0.1854	0.1423	0.1597	0.1217	0.1233	0.1001	0.1707	0.0696	0.0785	0.0000											
Moosach I	0.1282	0.1743	0.1143	0.2238	0.1104	0.1123	0.1468	0.2980	0.1561	0.1278	0.1737	0.0000										
Moosach II	0.0597	0.0651	0.1218	0.1274	0.0174	0.0360	0.0880	0.2870	0.0463	0.1380	0.1221	0.0354	0.0000									
Ebersberg Weiher	0.2264	0.1544	0.0487	0.1877	0.1134	0.0851	0.0649	0.2966	0.0557	0.1241	0.2023	0.1468	0.1080	0.0000								
12Gehren	0.2477	0.1569	0.2142	0.1186	0.1633	0.1133	0.0916	0.3329	0.1005	0.0998	0.1619	0.1301	0.1220	0.1332	0.0000							
Oberkatzbach	0.2881	0.1751	0.3130	0.1016	0.2385	0.1396	0.0810	0.4333	0.0873	0.1833	0.1962	0.2815	0.1634	0.1701	0.1312	0.0000						
Ossenfeld 1	0.1455	0.1212	0.1786	0.1588	0.0806	0.1301	0.0822	0.2532	0.1050	0.1306	0.1068	0.1285	0.0830	0.1417	0.1396	0.1796	0.0000					
Ossenfeld 2	0.0659	0.0991	0.2160	0.1205	0.1138	0.1530	0.0929	0.2394	0.1176	0.0734	0.1129	0.1168	0.0363	0.2262	0.1311	0.2159	0.0486	0.0000				
Scheden	0.1717	0.2128	0.1991	0.1242	0.1450	0.2008	0.1770	0.0897	0.1695	0.1484	0.1497	0.2712	0.2188	0.2674	0.2394	0.2988	0.1860	0.1602	0.0000			
Weisswassertal	0.1789	0.1227	0.1930	0.0676	0.1314	0.0880	0.0329	0.3461	0.0549	0.1070	0.1164	0.1463	0.1095	0.1319	0.0894	0.0844	0.1648	0.1336	0.2387	0.0000		
B. constrictus	0.2611	0.1842	0.1754	0.1741	0.1918	0.1189	0.1035	0.3825	0.1061	0.1907	0.1635	0.1845	0.1010	0.1042	0.1937	0.1455	0.1783	0.1853	0.2910	0.1219	0.0000	
B. ocskayi	0.2982	0.2996	0.2954	0.3340	0.2679	0.2955	0.2878	0.5448	0.2916	0.3341	0.3403	0.2500	0.2166	0.2276	0.2619	0.3771	0.3309	0.3887	0.4501	0.3594	0.2723	0.0000
B. obtusus	0.2527	0.2306	0.2228	0.1721	0.2051	0.2587	0.1685	0.3179	0.1901	0.2251	0.2207	0.2111	0.1012	0.2253	0.1815	0.2604	0.2218	0.2892	0.2697	0.1772	0.2598	0.2896	0.0000

Tab. 3.7*A*-4: Genetische Distanz (F_{ST}) basierend auf den Daten der AFLP-Analyse von 21 Populationen der Art *B. serricauda*, sowie fünf weiteren Arten der Gattung *Barbitistes*. Zur Berechnung wurde das Programm AFLP-SURV 1.0 herangezogen. Als Grundlage dienten 106 polymorphe Fragmente

Pairwise Fst between populations

Bad Laer	0.0000																																	
Bad Lauterberg	0.2553	0.0000																																
Bremke	0.2490	0.0955	0.0000																															
Goettinger Wald	0.1957	0.1233	0.0933	0.0000																														
Gr.-Elleshsn.	0.2229	0.2450	0.2125	0.1014	0.0000																													
Ebersberg Weg	0.3549	0.2811	0.1735	0.1748	0.2823	0.0000																												
Hasbruch	0.1870	0.1453	0.1132	0.1239	0.2220	0.2983	0.0000																											
Hildesheim	0.3609	0.3361	0.2407	0.2906	0.3556	0.2516	0.2996	0.0000																										
Kaufunger Wald	0.1970	0.1918	0.0782	0.1335	0.1843	0.2785	0.1296	0.2805	0.0000																									
Knutb. Kr.	0.2469	0.1676	0.1192	0.1610	0.1789	0.2595	0.1508	0.2702	0.0867	0.0000																								
Knutb. Bank	0.2355	0.1654	0.1205	0.1496	0.1713	0.2950	0.1231	0.3126	0.0758	0.0142	0.0000																							
Ludolfshausen	0.3187	0.2685	0.1815	0.1934	0.2264	0.1990	0.2491	0.3035	0.2008	0.1964	0.1830	0.0000																						
Moosach I	0.3420	0.3291	0.2812	0.2297	0.3163	0.2493	0.3043	0.3965	0.3882	0.3182	0.3151	0.2958	0.0000																					
Moosach II	0.4548	0.3689	0.3203	0.3342	0.3521	0.3590	0.3220	0.4682	0.3376	0.2244	0.2066	0.2704	0.1965	0.0000																				
EbersbWeiher	0.3259	0.1957	0.1684	0.2174	0.3142	0.2260	0.2394	0.2407	0.2093	0.1712	0.1901	0.1883	0.2692	0.2110	0.0000																			
12Gehren	0.2800	0.2281	0.2038	0.1870	0.2250	0.2695	0.2458	0.3448	0.2063	0.1957	0.1669	0.1547	0.2443	0.2247	0.1947	0.0000																		
Oberkatzbach	0.2682	0.2244	0.1837	0.2354	0.2821	0.3127	0.1906	0.3840	0.1629	0.1624	0.1233	0.2738	0.3281	0.2374	0.1166	0.2079	0.0000																	
Ossenfeld 1	0.3850	0.3146	0.2764	0.2221	0.3253	0.3829	0.2787	0.4526	0.2310	0.2176	0.1963	0.2468	0.4233	0.3840	0.3313	0.3232	0.2729	0.0000																
Ossenfeld 2	0.3480	0.3100	0.2954	0.2743	0.2966	0.4309	0.2051	0.4554	0.2368	0.2014	0.1243	0.3004	0.3762	0.2484	0.3448	0.2288	0.2553	0.1929	0.0000															
Scheden	0.3531	0.2932	0.2289	0.2463	0.3222	0.2262	0.3150	0.2952	0.2622	0.2527	0.2645	0.1895	0.2594	0.3084	0.2120	0.1394	0.3044	0.3545	0.3863	0.0000														
Weisswassertal	0.3007	0.2159	0.1143	0.1940	0.2754	0.2199	0.2221	0.2068	0.1584	0.1433	0.1474	0.1996	0.3320	0.2935	0.1182	0.1509	0.1603	0.3158	0.3190	0.1531	0.0000													
B. constrict	0.6276	0.5814	0.4825	0.5652	0.5887	0.6291	0.5118	0.6578	0.4766	0.4596	0.4497	0.5762	0.6369	0.5197	0.5615	0.4945	0.4489	0.6234	0.5298	0.6104	0.4742	0.0000												
B. obtusus	0.6182	0.5739	0.4517	0.5334	0.6069	0.5762	0.5316	0.5712	0.4656	0.4521	0.4473	0.5667	0.6532	0.5152	0.5147	0.5429	0.4947	0.5792	0.5617	0.6166	0.4254	0.6629	0.0000											
B. yersini	0.4214	0.4269	0.2988	0.3835	0.4640	0.4492	0.3640	0.4373	0.3134	0.3233	0.3276	0.4316	0.4956	0.4358	0.3591	0.3797	0.3132	0.4716	0.4553	0.4291	0.2421	0.4994	0.5034	0.0000										
B. ocskayi	0.4046	0.3559	0.2475	0.3302	0.4123	0.3852	0.3307	0.3938	0.2669	0.2430	0.2527	0.3711	0.4431	0.3798	0.2545	0.2638	0.2279	0.4389	0.3724	0.3703	0.1854	0.4626	0.4980	0.2733	0.0000									
B. fischeri	0.5778	0.5014	0.4108	0.4867	0.5666	0.5645	0.4110	0.5777	0.4448	0.4090	0.3939	0.5294	0.6077	0.5898	0.5096	0.5514	0.4388	0.4781	0.4983	0.5918	0.4260	0.6568	0.5664	0.5078	0.5098	0.0000								

Tab. 3.7*A*-5: Genetische Distanz (F_{ST}) basierend auf den Daten der RAPD-Analyse von 20 Populationen der Art *B. serricauda*, sowie drei weiteren Arten der Gattung *Barbitistes*. Zur Berechnung wurde das Programm AFLP-SURV 1.0 herangezogen. Als Grundlage dienten 90 Amplifikate in einer Größenordnung von 60 bis 300 Basenpaaren

Pairwise Fst between populations

Bad Laer	0.0000																						
Bad Lauterberg	0.2388	0.0000																					
Bremke	0.3091	0.3249	0.0000																				
GoettingerWald	0.2369	0.1764	0.2996	0.0000																			
Gr.-Ellershsn.	0.2425	0.3130	0.2139	0.2928	0.0000																		
Ebersberg Weg	0.2924	0.2679	0.2062	0.2509	0.0641	0.0000																	
Hasbruch	0.2713	0.2246	0.2655	0.1305	0.1949	0.1441	0.0000																
Hildesheim	0.4922	0.5338	0.3791	0.3690	0.4163	0.4225	0.4450	0.0000															
Kaufunger Wald	0.2618	0.2211	0.1943	0.1425	0.1563	0.0803	0.0244	0.3747	0.0000														
Knutbuehren	0.2524	0.2837	0.2074	0.2050	0.2248	0.1710	0.1234	0.3412	0.0957	0.0000													
Ludolfshausen	0.3035	0.3377	0.2665	0.2453	0.2505	0.2412	0.1951	0.3609	0.1301	0.1578	0.0000												
MoosachI	0.2522	0.3137	0.2259	0.3062	0.2097	0.1956	0.2461	0.4733	0.2392	0.2202	0.2990	0.0000											
MoosachII	0.1265	0.1640	0.2132	0.1946	0.0405	0.0653	0.1456	0.4142	0.0628	0.2026	0.2200	0.0644	0.0000										
EbersbergWeiher	0.3575	0.3016	0.1024	0.2734	0.2089	0.1506	0.1292	0.4718	0.1044	0.2155	0.3255	0.2584	0.1767	0.0000									
12Gehren	0.3357	0.2570	0.2957	0.1626	0.2497	0.1836	0.1443	0.4425	0.1379	0.1598	0.2488	0.2052	0.1748	0.1992	0.0000								
Oberkatzbach	0.4387	0.3385	0.4409	0.1878	0.3897	0.2673	0.1742	0.5745	0.1718	0.3055	0.3474	0.4103	0.2720	0.3093	0.2299	0.0000							
Ossenfeld 1	0.3065	0.2765	0.3355	0.2672	0.2036	0.2649	0.1860	0.4737	0.2049	0.2539	0.2372	0.2662	0.1848	0.2792	0.2431	0.3506	0.0000						
Ossenfeld 2	0.1524	0.2172	0.3489	0.2049	0.2110	0.2499	0.1796	0.4359	0.1982	0.1579	0.2378	0.2266	0.0654	0.3492	0.2232	0.3665	0.1281	0.0000					
Scheden	0.3290	0.3772	0.3492	0.2189	0.2871	0.3267	0.3045	0.2511	0.2764	0.2606	0.2881	0.4056	0.3176	0.4007	0.3308	0.4461	0.3567	0.3055	0.0000				
Weisswassertal	0.2818	0.2192	0.2885	0.1082	0.2203	0.1487	0.0633	0.4634	0.0916	0.1720	0.2016	0.2334	0.1601	0.2136	0.1344	0.1665	0.2772	0.2230	0.3419	0.0000			
B. constrictus	0.4244	0.3563	0.3273	0.2790	0.3298	0.2228	0.2058	0.5553	0.1926	0.3194	0.3157	0.3308	0.1823	0.2149	0.3001	0.3035	0.3514	0.3376	0.4464	0.2210	0.0000		
B. ocskayi	0.4678	0.4653	0.4404	0.4085	0.4396	0.4349	0.4111	0.6568	0.3902	0.4449	0.4872	0.4083	0.3363	0.3753	0.3741	0.5179	0.5021	0.5078	0.5622	0.4397	0.4544	0.0000	
B. obtusus	0.3966	0.3810	0.3598	0.2672	0.3268	0.3515	0.2731	0.4984	0.2767	0.3331	0.3547	0.3416	0.1631	0.3426	0.2671	0.4040	0.3799	0.4101	0.4146	0.2744	0.4083	0.4725	0.0000

Tab. 3.7*A*-6: Genetische Distanz (F_{ST}) basierend auf den Daten der AFLP-Analyse für einen angenommenen Inzuchtkoeffizienten f = 0,93 (HWD). Zur Berechnung wurde das Programm AFLP-SURV 1.0 herangezogen

Pairwise Fst between populations

Bad Laer	0.0000																										
Bad Lauterberg	0.2312	0.0000																									
Bremke	0.2348	0.1160	0.0000																								
Goettinger Wald	0.1821	0.1359	0.1326	0.0000																							
Gr.-Ellershsn.	0.2323	0.2126	0.1850	0.0847	0.0000																						
Ebersberg Weg	0.3337	0.3037	0.2178	0.1946	0.2742	0.0000																					
Hasbruch	0.2574	0.1738	0.1498	0.1810	0.2457	0.3573	0.0000																				
Hildesheim	0.3630	0.3455	0.2845	0.3209	0.3559	0.2717	0.3729	0.0000																			
Kaufunger Wald	0.2267	0.1884	0.0870	0.1479	0.1733	0.2865	0.1702	0.3218	0.0000																		
Knutb. Kr.	0.3051	0.2177	0.1657	0.2374	0.2068	0.3393	0.2200	0.3686	0.1170	0.0000																	
Knutb. Bank	0.2883	0.1913	0.1537	0.2110	0.1903	0.3512	0.1647	0.3788	0.1071	0.0378	0.0000																
Ludolfshausen	0.2880	0.2532	0.1866	0.2082	0.2239	0.2073	0.2814	0.2929	0.1608	0.2295	0.2053	0.0000															
Moosach I	0.3224	0.3491	0.3067	0.2636	0.3396	0.2495	0.3629	0.3806	0.3984	0.3872	0.3772	0.3154	0.0000														
Moosach II	0.4362	0.3548	0.3144	0.3275	0.3114	0.3070	0.3449	0.4244	0.3204	0.2594	0.2257	0.2589	0.1620	0.0000													
Ebersb Weiher	0.3112	0.2390	0.2021	0.2417	0.2909	0.2066	0.3066	0.2575	0.2246	0.2382	0.2499	0.1507	0.2491	0.1475	0.0000												
12Gehren	0.2898	0.2376	0.2532	0.2511	0.2519	0.2972	0.3111	0.3584	0.2416	0.2605	0.2330	0.1410	0.2638	0.2315	0.2150	0.0000											
Oberkatzbach	0.2994	0.2575	0.2267	0.2771	0.2936	0.3600	0.2502	0.4507	0.2128	0.2482	0.2027	0.2986	0.3638	0.2542	0.1937	0.2753	0.0000										
Ossenfeld 1	0.3549	0.2656	0.2191	0.2266	0.2731	0.3658	0.2442	0.4436	0.1849	0.1799	0.1479	0.2237	0.4043	0.3339	0.2729	0.2707	0.2297	0.0000									
Ossenfeld 2	0.3135	0.2441	0.2185	0.2424	0.2482	0.3917	0.1418	0.4275	0.1743	0.1661	0.0724	0.2684	0.3533	0.2521	0.3109	0.2254	0.2169	0.0873	0.0000								
Scheden	0.3180	0.3232	0.2946	0.2750	0.3471	0.2701	0.3762	0.2712	0.2797	0.3322	0.3276	0.1797	0.2587	0.2879	0.1927	0.1550	0.3597	0.3387	0.3579	0.0000							
Weisswassertal	0.2717	0.2045	0.1557	0.2055	0.2647	0.2374	0.2567	0.2277	0.1565	0.1930	0.1736	0.1565	0.3010	0.2422	0.1345	0.1553	0.2084	0.2249	0.2468	0.1523	0.0000						
B. constrictus	0.6297	0.5735	0.4870	0.5724	0.5977	0.6281	0.5501	0.6682	0.4896	0.5012	0.4788	0.5677	0.6357	0.5285	0.5481	0.5099	0.4537	0.6021	0.5258	0.6118	0.4509	0.0000					
B. obtusus	0.6337	0.5654	0.4616	0.5385	0.6073	0.5688	0.5666	0.5724	0.4862	0.5119	0.4870	0.5440	0.6360	0.4944	0.5025	0.5348	0.5294	0.5513	0.5442	0.6020	0.4197	0.6495	0.0000				
B. yersini	0.4399	0.4467	0.3572	0.3990	0.4767	0.4572	0.4287	0.4690	0.3543	0.3924	0.3829	0.4280	0.4937	0.4436	0.3818	0.4186	0.3779	0.4515	0.4467	0.4441	0.2838	0.4937	0.5080	0.0000			
B. ocskayi	0.4252	0.3824	0.3202	0.3729	0.4392	0.4267	0.4158	0.4560	0.3230	0.3365	0.3269	0.3749	0.4265	0.3749	0.2922	0.3006	0.2974	0.4049	0.3590	0.3880	0.2398	0.4415	0.4923	0.3012	0.0000		
B. fischeri	0.5889	0.4903	0.3893	0.4834	0.5575	0.5554	0.4258	0.5663	0.4580	0.4367	0.4109	0.5175	0.6064	0.5758	0.4969	0.5517	0.4646	0.4676	0.4786	0.5823	0.4007	0.6471	0.5655	0.5089	0.5087	0.0000	

Editorial Board for Biodiversity and Ecology Series:

Prof. Dr. Hermann Behling, Dept. of Palynology and Climate Dynamics
Prof. Dr. Erwin Bergmeier, Dept. of Vegetation Analysis and Phytodiversity
Prof. Dr. Susanne Bögeholz, Dept. of Didactics of Biology
Prof. Dr. Norbert Elsner, Dept. of Neurobiology
Prof. Dr. Thomas Friedl, Dept. of Experimental Phycology
Prof. Dr. Gerhard Gerold, Dept. of Landscape Ecology
Prof. Dr. S. Robbert Gradstein, Dept. of Systematic Botany
Prof. Dr. Bernd Herrmann, Dept. of Historical Anthropology and Human Ecology
Prof. Dr. Peter Kappeler, Dept. of Sociobiology
Prof. Dr. Christoph Leuschner, Dept. of Plant Ecology and Ecosystems Research
Prof. Dr. Michael Mühlenberg, Dept. of Conservation Biology
Prof. Dr. Joachim Reitner, Dept. of Geobiology
Prof. Dr. Matthias Schaefer, Dept. of Animal Ecology
Prof. Dr. Wolfgang Schmidt, Dept. of Silviculture of the Temperate Zones and Forest Ecology
Prof. Dr. Henner Simianer, Dept. of Animal Breeding
Prof. Dr. Teja Tscharntke, Dept. of Agroecology
Prof. Dr. Stefan Vidal, Dept. of Agroentomology
Prof. Dr. Rainer Willmann, Dept. of Animal Morphology, Systematics and Evolutionary Biology
Prof. Dr. Gert Wörheide, Dept. of Geobiology

Members of the Göttingen Centre for Biodiversity and Ecology

Geographisch isolierte Populationen mit geringer Individuendichte sind in der Evolutionsbiologie von zentraler Bedeutung. Während solche Populationen in neuerer Zeit meist nur mit anthropogen induzierten Aussterbeprozessen in Zusammenhang gebracht werden, sind sie andererseits auch der Ausgangspunkt allopatrischer Speziation.
Durch die wahrscheinlich anthropogen begünstigte Ansiedlung der Rotbuche in Mitteleuropa wurde der Lebensraum der flugunfähigen Laubholz-Säbelschrecke *Barbitistes serricauda* (Fabricius 1798) fragmentiert. Die Rotbuche kann von dieser baumbewohnenden Laubheuschrecke nicht als Nahrungspflanze verwertet werden.
B. serricauda kommt überwiegend in lokal abgrenzbaren Subpopulationen mit einer geringen Individuenzahl vor. Tiere dieser Art weisen eine geringe Tendenz zur Dispersion auf; Individuen verteilen sich in der Regel auf ein bis zwei als Nahrungsquellen geeignete Pflanzen. Die Fragmentierung ihres Habitats führte zu einer drastischen Einschränkung des genetischen Austausches zwischen Populationen dieser Heuschreckenart.
Durch diese Isolation lokaler Vorkommen kam es, wie biometrische und autökologische Untersuchungen zeigen konnten, zu Diversifizierungsprozessen, woraus eine große genetische Vielfalt innerhalb der Art resultiert. Habitatfragmentierung kann so langfristig einen Beitrag zur Biodiversität liefern, selbst wenn einige Populationen lokal aussterben.

GEORG-AUGUST-UNIVERSITÄT
GÖTTINGEN

ISSN: 1863-3935
ISBN: 978-3-940344-57-1

Universitätsverlag Göttingen