



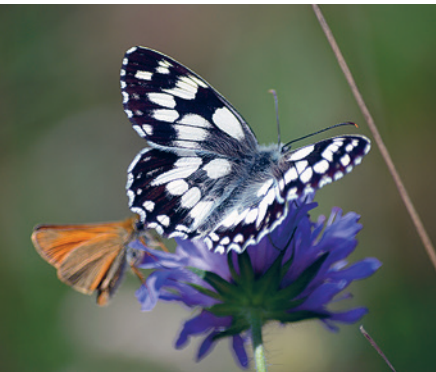
Heft 60, 2017

**WSL Berichte**

ISSN 2296-3588

**FORUM**  
für Wissen

2017

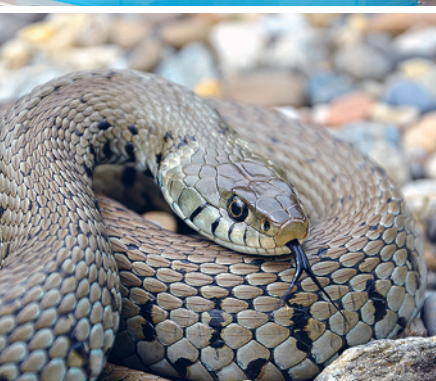
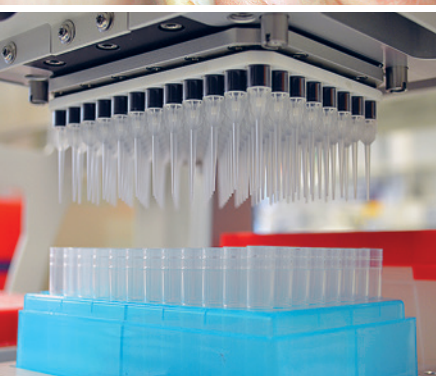


# Naturschutzgenetik

Redaktion

Daniela Csencsics

Felix Gugerli



Eidg. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL  
CH-8903 Birmensdorf



Heft 60, 2017

**WSL Berichte**

ISSN 2296-3456

---

**FORUM**

für Wissen

---

2017

# Naturschutzgenetik

Redaktion

Daniela Csencsics

Felix Gugerli



Eidg. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL  
CH-8903 Birmensdorf

Das Forum für Wissen ist eine Veranstaltung, die von der Eidg. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL durchgeführt wird. Aktuelle Themen aus den Arbeitsgebieten der Forschungsanstalt werden vorgestellt und diskutiert. Neben Referenten von der WSL können auswärtige Fachleute beigezogen werden. Gleichzeitig zu jeder Veranstaltung «Forum für Wissen» erscheint eine auf das Thema bezogene Publikation in der Reihe WSL Berichte. Alle Beiträge wurden von zwei Fachpersonen begutachtet.

Verantwortlich für die Herausgabe der Schriftenreihe  
Prof. Dr. Konrad Steffen, Direktor WSL

Verantwortlich für dieses Heft  
Prof. Dr. Rolf Holderegger, Leiter Forschungseinheit Biodiversität und Naturschutzbiologie  
Daniela Csencsics, Stv. Gruppenleiterin Ökologische Genetik  
Dr. Felix Gugerli, Gruppenleiter Ökologische Genetik

Schriftleitung  
Sandra Gurzeler

Wir danken folgenden Personen, welche sich als Reviewer zur Verfügung stellten, für die kritische Durchsicht der Beiträge und die hilfreichen Kommentare:  
Kurt Bollmann, Rolf Holderegger, Christine Huovinen, Sabine Fink, Martin Fischer, Martin Moritzi, Martina Peter, Jérôme Prunier, Maik Rehnus, Christian Sailer, Max Schmid, Benedikt Schmidt, Gernot Segelbacher, Josef Senn, Christoph Sperisen und Ivo Widmer.

Zitierung  
Csencsics, D.; Gugerli, F. (Red.) 2017: Forum für Wissen 2017. Naturschutzgenetik. WSL Ber. 60: 82 S.

Layout  
Jacqueline Annen, WSL  
Sandra Gurzeler, WSL

Fotos Umschlag  
1, 3: Martin C. Fischer, ETH  
2, 5: Felix Gugerli, WSL  
4: Nicolas Martinez, Hintermann & Weber  
6: Sylvain Dubey, Hintermann & Weber

Bezugsadresse  
WSL Shop  
Zürcherstrasse 111  
CH-8903 Birmensdorf  
e-shop@wsl.ch  
PDF Download: [www.wsl.ch/berichte](http://www.wsl.ch/berichte)

ISSN 2296-3448 (Print)  
ISSN 2296-3456 (Online)

© Eidgenössische Forschungsanstalt WSL  
Birmensdorf 2017

## Vorwort

Genetische Vielfalt ist ein grundlegender Bestandteil der Biodiversität und muss als solcher beachtet, beschrieben und erhalten werden. Dafür kommen moderne genetische Methoden zum Einsatz, die als Werkzeug auch im praktischen Naturschutz zunehmend Anwendung finden. Die neuesten Technologien ermöglichen es, genetische Muster und die ihnen zugrundeliegenden biologischen Prozesse auf vielfältige Art und Weise zu beschreiben. Dennoch ist die Thematik in breiten Kreisen der Praxis noch wenig bekannt und hohe Erwartungen stehen grundlegendem Misstrauen gegenüber. Damit Fachleute aus der Praxis das Potenzial genetischer Methoden im Naturschutz besser einschätzen und dadurch zielgerichtet anwenden können, ist der fortwährende Austausch zwischen Wissenschaft und Praxis eminent wichtig. Dabei geht es auch darum, gegenseitiges Verständnis zu entwickeln und gemeinsam spannende Fragen aus der Praxis mit Ansätzen aus der Werkzeugkiste der Naturschutzgenetik gemeinsam zu klären.

Die Beiträge des diesjährigen WSL Forums für Wissen zum Thema Naturschutzgenetik gliedern sich in einführende Beispiele aus der Forschung einerseits und in konkrete Anwendung der genetischen Methoden oder der Forschungsergebnisse in der Praxis andererseits. Es kommen verschiedenste methodische Ansätze zur Sprache, und die räumliche, zeitliche wie auch taxonomische Auflösung ist in den vorgestellten Beispielen ebenso unterschiedlich wie die dafür gesammelten und analysierten Proben, die zur Beantwortung der gestellten Fragen verwendet werden. Zudem wird ausgeführt, wie der Bund, insbesondere das Bundesamt für Umwelt (BAFU), die Erfassung und Erhaltung genetischer Ressourcen in die laufenden und zukünftigen Erhebungen und Monitorings einbinden wird. Letzteres ist im Zusammenhang mit dem kürzlich verabschiedeten Aktionsplan zur Biodiversitätsstrategie Schweiz des Bundes besonders aktuell.

Für die sehr vielfältige Unterstützung bei der Vorbereitung dieses Forums bedanken wir uns bei Rolf Holderegger. Die Organisation des Forums und die Redaktion des Tagungsbandes wurde von folgenden Personen sehr umsichtig und kompetent durchgeführt: Susanne Senn-Raschle, Sandra Gurzeler, Jacqueline Annen, Lisa Bose, Christine Huovinen und Martin Moritzi. Ebenso war der WSL-Hausdienst jederzeit ein unterstützender und hilfreicher Ansprechpartner. Ihnen allen danken wir sehr herzlich.

Birmensdorf, 28. November 2017

Daniela Csencsics und Felix Gugerli  
Konrad Steffen, Direktor WSL



Inhalt	Seite
Vorwort	3
<b>Genetik im Naturschutz: eine Übersicht</b> Rolf Holderegger	7
<b>Inzucht und ihre Bedeutung für den Naturschutz</b> Iris Biebach und Lukas Keller	15
<b>Isoliert oder vernetzt? Auswirkungen der Landschaft auf den Genfluss</b> Janine Bolliger und Felix Gugerli	23
<b>Bedeutung der lokalen Anpassung in der Naturschutzgenetik</b> Christian Rellstab, Martin C. Fischer, Daniela Csencsics, Felix Gugerli und Rolf Holderegger	31
<b>Der Boden – eine wertvolle Ressource für die genetische Vielfalt</b> Martin Hartmann und Christoph Sperisen	39
<b>Werkzeugkasten für genetische Methoden in der Biodiversitätsförderung</b> Robert Meier und André Stapfer	49
<b>Einsatz von eDNA im Amphibien-Monitoring</b> Benedikt R. Schmidt und Christoph R. Grünig	57
<b>Bedeutung der Naturschutzgenetik für den Bund</b> Francis Cordillot	63
<b>Naturschutzgenetik aus Ökobürosicht – Chancen und Erfahrungen</b> Conny Thiel-Egenter	71
<b>Application de la génétique de la conservation dans les bureaux d'études en écologie</b> Christoph Bühler et Sylvain Dubey	77





# Genetik im Naturschutz: eine Übersicht

Rolf Holderegger

Eidg. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL, Zürcherstrasse 111, CH-8903 Birmensdorf  
rolf.holderegger@wsl.ch

**Naturschutzgenetik stellt einerseits Grundlagen für die Argumentation im Naturschutz bereit. Andererseits wird sie bei Einzelstudien eingesetzt, bei denen es um die Beantwortung spezifischer Fragen aus der Praxis geht, zum Beispiel bei Erfolgskontrollen. Anwendungsmöglichkeiten der Naturschutzgenetik reichen von der Erfassung ökologischer Prozesse wie Verbund oder Zerschneidung von Lebensräumen, über Arterkennung bis zur genetischen Fitness betreffend Inzucht, Anpassbarkeit und Anpassungsfähigkeit. Ein neues Thema ist genetisches Monitoring, wo Veränderungen der genetischen Vielfalt in Raum und Zeit verfolgt werden. Der vorliegende Artikel gibt eine Übersicht über Möglichkeiten und Bedeutung von Naturschutzgenetik in der Praxis.**

## 1 Genetik im Naturschutz: Mehr als eine Modeströmung

Genetische Methoden im Naturschutz sind in vieler Munde. In der Praxis besonders beliebt ist es, Arten mit genetischen Methoden zu bestimmen, also eine Antwort auf die Frage zu finden, welche Arten in einem Gebiet vorkommen. Mittels einer Teichwasserprobe können zum Beispiel Amphibien bestimmt werden – mit bekannterweise grossem medialem Echo. Aber genetische Methoden im Naturschutz können viel mehr.

Die einen in Wissenschaft, Behörden, Praxis und Öffentlichkeit sind fasziniert von den Möglichkeiten der Genetik: Letztere erscheinen (fast) unbegrenzt und neue Perspektiven im Naturschutz öffnen sich. Andere sind gegenüber der Genetik im Naturschutz eher skeptisch eingestellt. Wie aber sind die Möglichkeiten für Genetik im Naturschutz tatsächlich einzuordnen? Wie, wann und warum sollen genetische Methoden im praktischen Naturschutz angewandt werden? Werden genetische Methoden im Naturschutz nur deshalb verwendet, weil sie Mode und technisch machbar sind oder bieten sie einen wirklichen Mehrwert? Das Ziel des vorliegenden Artikels ist es, eine kurze Übersicht zu den Möglichkeiten, der Bedeutung und den Grenzen von Genetik und genetischen Methoden im Naturschutz zu geben.

## 2 Genetik: Wie wichtig ist sie im Schweizer Naturschutz?

Bekanntlich umfasst die Biodiversität als Ganzes vier Ebenen: die genetische Vielfalt innerhalb von Arten sowie die Vielfalt der Arten, Lebensräume und Wechselwirkungen. Will man den Rückgang der Biodiversität und das Aussterben von Arten oder Populationen aufhalten, so müssen auch genetische Aspekte in die Planung und Massnahmen einfließen. Welche Vorgaben zum Schutz der genetischen Vielfalt als grundlegender Ebene der Biodiversität und welche Konzepte zur Verwendung genetischer Methoden im Naturschutz gibt es in der Schweiz?

In der Strategie Biodiversität Schweiz (Schweizerische Eidgenossenschaft 2012) spielt genetische Vielfalt eine grosse Rolle: Die Biodiversitätsstrategie fordert, dass die genetische Vielfalt von wildlebenden Tieren, Pflanzen, Pilzen und Bodenorganismen, aber auch von Nutztieren und -pflanzen für die Zukunft erhalten, die genetische Verarmung bis 2020 gestoppt und ein Konzept für die Überwachung der genetischen Vielfalt eingeführt werden. Auch soll die Anpassungsfähigkeit der Arten an den Klimawandel sichergestellt werden, wobei der Vernetzung zwischen Populationen für den Austausch von Erbgut eine wichtige Rolle zukommt. Dies mündet in die Forderung einer funktionierenden ökologischen Infrastruktur für die Schweiz. Eine ähnlich starke Gewichtung der genetischen Vielfalt findet man in weiteren Doku-

menten des Bundes: zum Beispiel Strategie zur Anpassung an den Klimawandel (UVEK und BAFU 2013), Waldpolitik 2020 (BAFU 2013), Vollzugshilfe zur Biodiversität im Wald (IMESCH *et al.* 2015), Waldbericht (RIGLING und SCHAFFNER 2015) oder Umweltziele Landwirtschaft (BAFU und BLW 2008). Folgerichtig spielt Genetik im Bereich Biodiversität im Forschungskonzept des Bundesamts für Umwelt BAFU für die Jahre 2017 bis 2020 eine wichtige Rolle (PESCH *et al.* 2016). Dort werden Untersuchungen zur genetischen Vielfalt von Arten, zum Evolutionspotenzial von (Meta-)Populationen und zur Vernetzung bzw. ökologischen Infrastruktur verlangt. Also: von der genetischen Diversität bis zur genetischen Untersuchung einer einzelnen Art – Genetik in allen Papieren!

Und in der Realität? Genetische Überlegungen oder Zielsetzungen spielen in der Praxis noch eine bescheidene Rolle, obwohl sie oft zur Argumentation im Naturschutz herangezogen werden. Genetische Methoden werden selten in Einzelstudien eingesetzt. Dabei haben genetische Methoden inzwischen Praxistauglichkeit erreicht. Sie können routinemässig eingesetzt werden, und ihre Kosten sind wegen des grossen technischen Fortschritts stark gesunken.

## 3 Einige grundlegende Gedanken

Viele ökologische Faktoren und Prozesse beeinflussen die genetische Vielfalt einer Population. Dies ist darum der Fall, weil die Populationsgrösse mit der genetischen Vielfalt zusammenhängt. Es gilt die Faustregel: Je grösser die Population, desto grösser ist ihre genetische Vielfalt. Damit wirken sich alle Faktoren und Prozesse, die die Populationsgrösse bestimmen, auch auf die genetische Vielfalt aus (Abb.1). Es sind dies zum Beispiel Lebensraumverän-

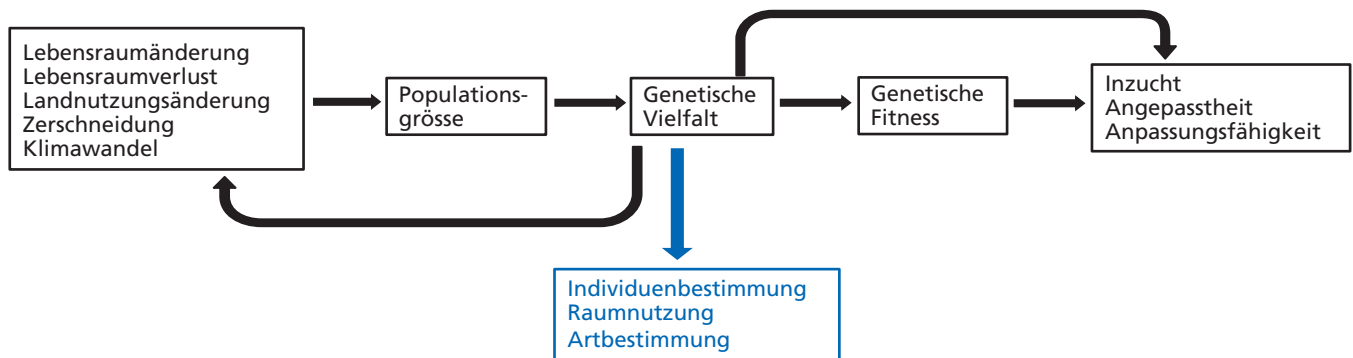


Abb. 1. Eine zentrale Grösse im Naturschutz ist die lokale Populationsgrösse (bzw. die Grösse der Metapopulation). Wegen der Abhängigkeit der genetischen Vielfalt einer Population (Mitte) von ihrer Grösse lassen sich via Genetik Rückschlüsse auf ökologische Prozesse ziehen, die die Populationsgrösse beeinflussen. Dies gilt etwa für den Austausch von Individuen und Genen (Genfluss) zwischen Populationen (linke Seite). Die genetische Vielfalt beeinflusst hingegen, wie überlebensfähig eine Population kurz- und langfristig ist (genetische Fitness). Mit genetischen Methoden können Inzucht, Angepasstheit oder Anpassungsfähigkeit untersucht werden (rechte Seite). Da die Individuen und Arten der Wirbeltiere und Gefässpflanzen sowie vieler Insekten, Moose und Flechten eine einzigartige genetische Zusammensetzung aufweisen, kann man mit genetischen Methoden auch Individuen (sowie deren Raumnutzung) und Arten bestimmen (blau unten).

derungen und -verlust, Landnutzungsänderungen, Zerschneidung oder Klimawandel. Der obige Zusammenhang zwischen Populationsgrösse und genetischer Vielfalt ermöglicht es umgekehrt, anhand der genetischen Vielfalt Rückschlüsse auf diese Prozesse zu ziehen, also zum Beispiel von der genetischen Zusammensetzung von Populationen auf deren Zerschneidung zu schliessen.

Des Weiteren hat die genetische Vielfalt direkten Einfluss auf Individuen und Populationen. Man spricht von genetischer Fitness (Abb. 1). Im Fokus stehen hier die von der genetischen Vielfalt massgeblich beeinflusste Angepasstheit und Anpassungsfähigkeit sowie die Inzucht und ihre negativen Folgen (Abb. 1) – Themen, die im Naturschutz bei Wiederansiedlungen oder bei den Auswirkungen des Klimawandels diskutiert werden. Wiederum gilt allgemein, je höher die genetische Vielfalt, desto besser.

Schliesslich besitzen (fast) alle höheren Organismen eine einzigartige genetische Zusammensetzung (Genotyp). Bekannt ist uns das vom Menschen, wo jedes Individuum genetisch einzigartig ist (genetischer Fingerabdruck; ausser bei eineiigen Zwillingen). Auch Arten unterscheiden sich genetisch voneinander, ist es doch die genetische Zusammensetzung, die Arten ausmacht. Somit kann man genetische Methoden verwenden, um Individuen innerhalb einer Art zu bestimmen bzw. man kann mit ihnen Arten unterscheiden (Abb.1).

#### 4 Was lässt sich mit Naturschutzgenetik untersuchen?

Drei grössere Themenkreise können mit Genetik im Naturschutz angegangen werden: 1. Genetische Methoden können für die Beschreibung von ökologischen Prozessen verwendet werden; 2. Genetische Methoden erlauben die Bestimmung von Individuen und Arten; 3. Mit Genetik kann die genetische Fitness geschätzt werden. Es gibt also vielfältige Anwendungsmöglichkeiten von genetischen Methoden im Naturschutz (HOLDEREGGER und SEGELBACHER 2016). Aus dieser Palette von Anwendungen betrachte ich die in Tabelle 1 gegebenen als für die Naturschutz-Praxis, für die überkommunale Planung im Naturschutz und auch für die Argumentation im Naturschutz gegenüber Politik und Öffentlichkeit als besonders wichtig. Daneben gäbe es an-

dere in Teilbereichen des Naturschutzes wichtige genetische Anwendungen wie bei der Hybridisierung (etwa zwischen einheimischen und nicht-einheimischen Arten oder zwischen Haus- und Wildtieren, wie zum Beispiel bei der Wildkatze; NUSSBERGER *et al.* 2014), die hier aber nicht weiter behandelt werden.

##### 4.1 Untersuchung ökologischer Prozesse

Wenn es um ökologische Prozesse wie **Zerschneidung oder Verbund von Populationen** geht, können genetische Methoden einen grossen Beitrag zum Naturschutz leisten. Wieso ist dies Fall? Betrachtet man die derzeit gängige Praxis der Planung von Vernetzung im praktischen Naturschutz, so zeigt sich ungefähr folgendes Bild. Entlang der in

Tab. 1. Wichtige Anwendungen von Genetik und genetischen Methoden im Naturschutz.

Ökologische Prozesse	Verbund und Zerschneidung (Wanderung und Austausch von Individuen und Genen zwischen Populationen)	Abb. 2a–d
	Veränderung der Populationsgrösse	Abb. 2e
Individuen- und Artbestimmung	Bestimmung der Populationsgrösse	Abb. 2f
	Raumnutzung von Individuen	Abb. 2g
	Artbestimmung (Barcoding oder Metabarcoding)	Abb. 2h
Genetische Fitness	Inzucht	Abb. 2i
	Angepasstheit	Abb. 2k
	Anpassungsfähigkeit	Abb. 2l

den kantonalen Richtplänen vorgegebenen Vernetzungskorridore werden verschiedenste Massnahmen ergriffen und bestehende Schutzgebiete, naturnahe und renaturierte Flächen oder verschiedenste strukturelle Einzelemente zu einem Vernetzungskorridor zusammengefasst. Andere Möglichkeiten sind punktuelle Verbesserungen wie Grünbrücken, um die Durchgängigkeit für Wildtiere wiederherzustellen. Schliesslich werden für einzelne Arten oder Artengruppen Trittsteine erstellt, so zum Beispiel neue Teiche zwischen bereits vorhandenen Amphibien-Laichgewässern. Alle diese strukturellen Vernetzungsmassnahmen dienen dazu – so wird angenommen –, den verschiedenen Arten sicheren Zugang zu Teil Lebensräumen zu gewährleisten, Wieder- und Neubesiedlungen zuzulassen, den Austausch zwischen Populationen möglichst über grosse Räume hinweg zu gewährleisten und so auch den genetischen Austausch sicherzustellen.

Doch Hand aufs Herz: Wir planen das alles aus Menschensicht nach bestem Wissen und Gewissen. Aber was wissen wir wirklich darüber, über welche Distanzen Organismen wandern, wie häufig sie das tun, welche Landschaftselemente für sie dabei Barrieren oder Vernetzungselemente darstellen und ob unsere Massnahmen grossräumig überhaupt wirken? Mit Ausnahme einiger gut untersuchter Wirbeltierarten wissen wir sehr wenig. Gerade beim Thema Verbund und Zerschneidung können genetische Methoden (oder Besonderungen mit GPS-Sendern) wesentlich zu unserem Verständnis dieser ökologischen Prozesse beitragen.

Genetische Methoden erlauben es, den Austausch und die Wanderung von Individuen und Genen (Genfluss) zu erfassen – und dies auf verschiedenen Zeitskalen. Es lassen sich einerseits die sich ausbreitenden Individuen selbst bestimmen, indem man sie ihren Ursprungpopulationen zuordnet (Abb. 2a) und dabei auch Aussagen zu ihren Ausbreitungsdistanzen erhält. Andererseits kann man Austauschraten und ihre Richtung zwischen Populationen während der letzten paar Generationen bestimmen (Abb. 2b) oder man untersucht wie sich Populationen genetisch unterscheiden (genetische Differenzierung). Letzteres erlaubt Aussagen zum längerfristigen Verbund und

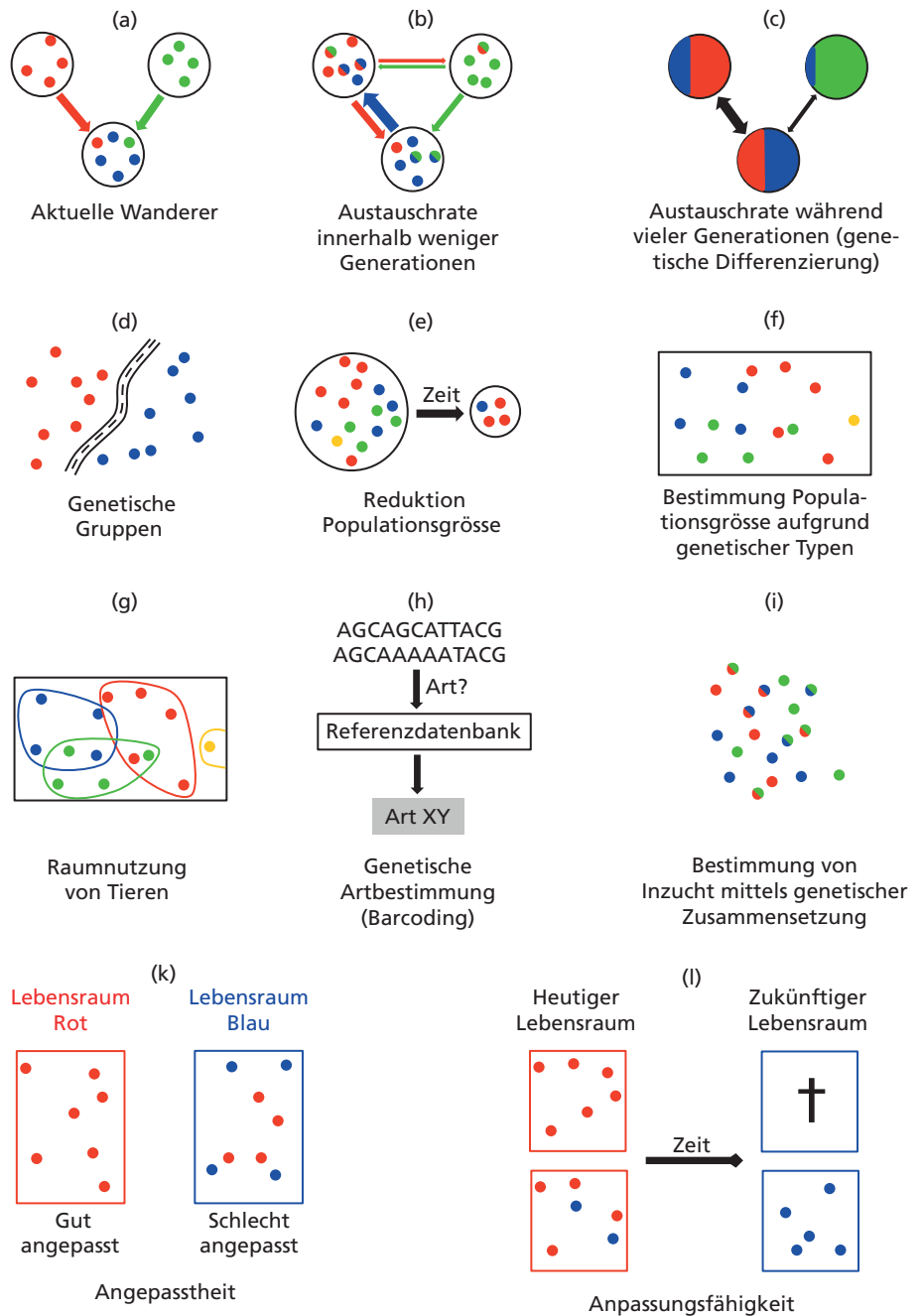


Abb. 2. Anwendungsmöglichkeiten der Naturschutzgenetik.

(a–e) Kapitel 4.1. (a) Erfassung aktuell gewanderter Individuen. Kreise: Populationen; farbige Punkte: verschiedene genetische Typen; Pfeile: Wanderungsrichtung. (b) Austauschrate innerhalb weniger Generationen (Quellen und Senken). Zweifarbige Punkte: Individuen, die verschiedene Genvarianten von ihren Eltern geerbt haben. Hier, Nachkommen von ansässigen Individuen und eingewanderten Individuen; Dicke der Pfeile: Ausmass des Austausches und dessen Richtung. (c) Austauschraten während vieler Generationen. Farbige Kreise: genetische Zusammensetzung der ganzen Population; schwarze zweiköpfige Pfeile: Austauschrate (im Verhältnis umgekehrt zur genetischen Differenzierung). (d) Geografisch strukturierte genetische Gruppen, hier beidseits einer Strasse. (e) Verkleinerung der Populationsgrösse.

(f–h) Kapitel 4.2. (f) Bestimmung der Individuenzahl aufgrund der vorkommenden genetischen Typen in einem Untersuchungsgebiet (Rechteck) zur Abschätzung der Populationsgrösse. (g) Raumnutzung von Tieren. Farbige Polygone: genutzter Raum eines Individuums. (h) Genetische Artbestimmung (Barcoding) aufgrund von DNA-Sequenzen und Vergleich mit einer Referenzdatenbank.

(i–l) Kapitel 4.3. (i) Bestimmung der Inzucht aufgrund der genetischen Zusammensetzung von Individuen (einfarbig: homozygot; zweifarbig: heterozygot). (k) Anpassungsfähigkeit. Farbige Rechtecke: verschiedene Lebensräume. (l) Anpassungsfähigkeit. Im oberen Fall besteht keine Anpassungsfähigkeit an einen veränderten Lebensraum.

Austausch zwischen Populationen über viele Generationen hinweg (je weniger verschieden, desto mehr Austausch; je verschiedener, desto weniger Austausch; Abb. 2c; BOLLIGER und GUGERLI 2017, in diesem Band). Der Vorgang fehlenden Austauschs zwischen Populationen oder Gruppen von Populationen führt zu geografisch strukturierten Gruppen, die sich genetisch nachweisen lassen (Abb. 2d). Welcher Zeitraum betrachtet wird, hängt von der Generationsdauer der untersuchten Arten ab: von unter einem Jahr bei Insekten bis zu Jahrzehnten bei Bäumen.

Bei alledem – und das ist der entscheidende Punkt – erfassen wir, was tatsächlich zwischen Population in grossräumigen Landschaften geschieht oder geschah (funktionale Vernetzung), unabhängig von unserer Menschensicht. Zerschneidung und Verbund werden in den Kapiteln von BOLLIGER und GUGERLI (2017) und MEIER und STAFFER (2017) in diesem Band näher behandelt. Dort finden sich konkrete Beispiele.

Auch ein ganz anderer ökologischer Prozess lässt sich mit Genetik erfassen, nämlich ob in der Vergangenheit eine starke **Reduktion der Populationsgrösse** stattgefunden hat. Eine solche Studie lässt Rückschlüsse darauf zu, ob eine Art früher in einem Gebiet deutlich häufiger war als heute. Dazu benötigt man entweder altes Museumsmaterial, das man mit heutigen genetischen Proben genetisch vergleicht, oder man weist eine Reduktion der Populationsgrösse mittels statistischer Verfahren aufgrund der heute vorkommenden genetischen Vielfalt nach (Abb. 2e). Bislang wurden solche Tests in Mitteleuropa selten und nur für spezifische Zielarten durchgeführt, zum Beispiel beim Birkhuhn (SEGELBACHER *et al.* 2014).

#### 4.2 Bestimmung von Individuen und Arten

Wie oben erwähnt, besitzt jedes Individuum der Wirbeltiere, aber auch der meisten Insekten, Gefässpflanzen, Pilze und Flechten eine einzigartige genetische Zusammensetzung (Genotyp). Das kann man sich im Naturschutz zunutze machen.

Stellen wir uns vor, wir wollen wissen, wie viele Baumarder in einem Gebiet leben. Zählen lassen sie sich kaum. Mittels Beobachtungen und Fotofallen lassen sich die Einzeltiere nicht unterscheiden. Die Anzahl Baumarder lässt sich aber genetisch bestimmen: Wir sammeln im ganzen Gebiet den Kot von Baumardern und analysieren diesen im Labor. Denn der Kot von Tieren enthält Erbgut (DNA) des jeweiligen Individuums. Weder haben wir dabei einen Baumarder gesehen, noch mussten wir einen fangen, um genetische Proben zu nehmen (nicht-invasives Sammeln). Aufgrund der verschiedenen genetischen Zusammensetzung der DNA im Kot finden wir heraus, wie viele Individuen des Baumarders im Gebiet mindestens vorkommen. Vermutlich haben wir von manchen Baumarder-Individuen zigfach Kot gesammelt und von anderen nur einmal oder sogar keinmal. Was sich also bestimmen lässt ist die Anzahl verschiedener genetischer Typen, die der Mindestanzahl des Baumarders im Gebiet entspricht (Abb. 2f). Natürlich müssen wir sicher sein, dass es Kot vom Baum- und nicht vom Steinmarder ist. Auch diese Artbestimmung erfolgt genetisch (siehe weiter unten). Die Erfahrung zeigt, dass die **genetische Bestimmung der Populationsgrösse** meist grösser ausfällt als jene, die mit herkömmlichen ökologischen Zähl- oder Monitoring-Methoden bestimmt wurde. Manchmal unterscheiden sich die Ergebnisse sogar drastisch (GUGERLI *et al.* 2008).

Übrigens ist uns dieser Ansatz der genetischen Bestimmung von Individuen anhand von Kot- oder Speichelproben aus den Massenmedien bestens bekannt. Er wird gebraucht, wenn es zum Beispiel darum geht festzustellen, welcher Bär in der Schweiz gesehen wurde oder ob ein Schaf von welchem Wolf gerissen wurde.

Genetische Daten können ausserdem verwendet werden, um mit statistischen Verfahren die Populationsgrösse noch genauer zu schätzen (Fang-Wiederfang). Ebenso kann die Anzahl der Individuen, die sich an der Fortpflanzung beteiligen – also der eigentlich für den Naturschutz relevante Teil einer Population – aufgrund theoretischer Überlegungen berechnet werden. Beides wird allerdings selten gemacht.

Aus den obigen Daten lassen sich weitere Information – quasi gratis – ableiten: zum Beispiel die **Raumnutzung** von Individuen (Reviergrösse oder home range; Abb. 2g). Verbindet man nämlich die Orte, an denen der Kot desselben Individuums gefunden wurde, miteinander, so ergibt sich ein Polygon. Dieses zeigt, welches Gebiet ein Individuum innerhalb der untersuchten Fläche während des Sammelzeitraums der Kotproben genutzt hat. Die gleiche bzw. detailliertere Information erhält man mit Besenderungen.

Eine auch in der Schweiz besonders populäre Anwendung – die oft als genetisches Monitoring bezeichnet wird (siehe aber unten) – ist die **Artbestimmung mittels genetischer Methoden**. Arten sind genetisch voneinander verschieden, was sich zu deren Bestimmung nutzen lässt. In der Regel verwendet man ein kurzes Stück der DNA (DNA-Sequenz), das sich zwischen, aber nicht innerhalb von Arten unterscheidet. Jede Art zeigt gewissermassen einen einzigartigen genetischen Strichcode; man spricht von genetischem Barcoding. Man sammelt eine Probe im Feld – das kann eine genetische Probe direkt vom Organismus oder eine nicht-invasive Probe wie Kot, Haare, Federn usw. sein –, analysiert diese im Labor und vergleicht die erhaltene DNA-Sequenz mit einer Referenzdatenbank, die die DNA-Sequenzen aller relevanten Arten enthält. So kann man feststellen, um welche Art es sich handelt (Abb. 2h).

Besonders eindrücklich sind Beispiele, bei denen aus einer kleinen Menge Wasser bestimmt wird, welche Lebewesen in einem Teich vorkommen. Das Erbgut dieser Lebewesen schwimmt natürlich im Teichwasser, da es über Kot, über die Haut oder durch das Absterben der Lebewesen ins Wasser gelangt. Man spricht hierbei von Umwelt-DNA (eDNA = environmental DNA). So lässt sich genetisch feststellen, ob etwa der seltene Teichmolch in einem Teich vorkommt. Natürlich lassen sich auch mit einem Streich alle Amphibienarten in einem Teich genetisch nachweisen – also nicht nur der Teichmolch. Man spricht dann von Metabarcoding.

Es ist leicht, sich weitere Anwendungen genetischer Artbestimmung im Naturschutz vorzustellen, vor allem dort,

wo diese schwierig ist (z.B. bei Totholzpilzen und Flechten) oder wo Tiere heimlich leben und sich nur schwer beobachten lassen. Besonders wichtig ist dabei das Vorhandensein einer vollständigen und qualitativ hochstehenden Referenzdatenbank (SCHMIDT und GRÜNIG 2017, in diesem Band). Das ist leider für viele Artengruppen noch nicht der Fall. In einigen Projekten und Programmen in der Schweiz wird Genetik zur Artbestimmung aber bereits (fast) routinemässig eingesetzt. Beispiele zeigen MEIER und STAFFER sowie SCHMIDT und GRÜNIG in diesem Band. HARTMANN (in diesem Band) macht zudem deutlich, wie die weitgehend unbekannt Biodiversität der Bodenorganismen mittels genetischer Bestimmung zugänglich gemacht wird.

### 4.3 Genetische Fitness

Die genetische Zusammensetzung eines Individuums beziehungsweise einer Population beeinflusst deren Zustand massgeblich. Inzucht kann die Überlebensfähigkeit einer Population negativ beeinflussen (Inzucht-Depression). Solche Prozesse können sich kurzfristig auswirken. Die genetische Zusammensetzung von Individuen und Populationen zeigt auch, wie gut diese an die heutigen Lebensräume angepasst sind und wie gut sie sich an zukünftige Änderungen der Umwelt anpassen können.

Ob in einer Population **Inzucht** – also die Paarung zwischen genetisch nah verwandten Individuen – vorkommt, lässt sich mit genetischen Methoden bestimmen. Vor allem kleine Populationen weisen Inzucht auf (FRANKHAM 2015). Allerdings bedeutet das Vorkommen von Inzucht alleine noch nicht, dass dies auch negative Folgen für die Anzahl der Nachkommen einer Population und deren Überlebensfähigkeit haben muss (aber es kann!).

Jeder Nachkomme erbt zwei Varianten pro Gen, eine Variante von der Mutter, eine vom Vater. Sind diese Varianten gleich, liegt das Gen homozygot vor. Paaren sich genetisch nah verwandte Individuen, ist die Wahrscheinlichkeit für Homozygotie gross. Homozygotie gibt somit Auskunft über das Ausmass von Inzucht (Abb. 2i). Genaue Inzuchtuntersuchungen wurden im praktischen Naturschutz bislang nur

bei wenigen Arten von besonderem Interesse, vor allem bei grossen Wirbeltieren wie etwa dem Bartgeier, angewandt. Wie das geht und konkrete Beispiele dazu, zeigt der Beitrag von BIEBACH und KELLER (in diesem Band).

Der letzte hier vorgestellte Themenkreis umfasst die **Angepasstheit und Anpassungsfähigkeit** von Organismen. Menschen verändern Lebensräume in rasantem Tempo. Das können global wirkende Faktoren wie der in Massenmedien und Politik omnipotente Klimawandel oder der flächendeckende Stickstoffeintrag sein, das können aber auch lokal wirkende Faktoren wie Landnutzungs- und Lebensraumveränderungen oder Schwermetallbelastung sein. Manche Forscher behaupten sogar, dass heutige Umweltveränderungen so grundlegend ablaufen, dass die herkömmlichen Instrumente des Naturschutzes nicht mehr funktionieren, da ganz neue Ökosysteme mit neuen Artenkombinationen entstehen würden (STÖCKLIN 2017).

Wie aber reagieren Arten auf Umweltveränderungen? Beim Klimawandel ist dies augenfällig: Arten können lokal aussterben, sie können an andere, noch günstige Orte wandern oder sie können sich anpassen. Betreffend Wanderungen von Organismen infolge des Klimawandels sind wir recht gut unterrichtet (ESSL und RABITSCH 2013). Die in der Strategie Biodiversität Schweiz (Schweizerische Eidgenossenschaft 2012) postulierte ökologische Infrastruktur soll dieses Wandern von Organismen infolge des Klimawandels begünstigen. Ob Klimawandel kurzfristig zum lokalen Aussterben von Arten führt, ist noch unklar. Wie aber steht es mit der Anpassung und Anpassungsfähigkeit von Organismen? Oft wird mit der Erhaltung dieser Anpassungsfähigkeit im Naturschutz argumentiert: Eine hohe genetische Vielfalt sei wichtig, um die Anpassungsfähigkeit von Organismen (DARWIN 1859) und indirekt von Lebensräumen an eine sich ändernde Umwelt zu gewährleisten. Nur so würden auch deren Ökosystemleistungen längerfristig gesichert (PESCH *et al.* 2016).

Genetische Vielfalt, Angepasstheit (Abb. 2k) und Anpassungsfähigkeit – die Möglichkeit von Organismen, sich in Zukunft an ändernde Umweltbedingungen genetisch anzupassen

(Abb. 2l) – sind also Bestandteile der Naturschutz-Argumentation. Doch was wissen wir zu Anpassung und Anpassungsfähigkeit und zur Geschwindigkeit, mit der diese ablaufen, tatsächlich? Eigentlich wenig. Der Grund dafür ist, dass Untersuchungen zu Anpassung und Anpassungsfähigkeit bislang sehr aufwändig und fast nur im Rahmen wissenschaftlicher Untersuchungen bei Nutztieren und -pflanzen durchgeführt wurden. Das ändert sich derzeit rasant, da neue genetische Techniken entwickelt werden, welche die direkte Untersuchung von Anpassung und auch die Vorhersage von Anpassungsfähigkeit in die Zukunft erlauben (MIMURA *et al.* 2016). Das Thema Angepasstheit und Anpassungsfähigkeit wird von RELLSTAB *et al.* (2017, in diesem Band) genauer vorgestellt. Angepasstheit spielt schon heute eine wichtige Rolle im Naturschutz, etwa dann, wenn es um Spenderflächen für Direktbegrünungen oder um Quellpopulationen für (Wieder-)Ansiedlungen oder *Ex-situ*-Vermehrungen geht.

## 5 Einsatzmöglichkeiten von Genetik im Naturschutz

Wo können genetische Methoden im Naturschutz eingesetzt werden? Aus den oben genannten Anwendungen können vor allem vier Einsatzmöglichkeiten der Naturschutzgenetik abgeleitet werden.

Mit genetischen Methoden können **Grundlagen** zu Phänomenen und Prozessen, die für den Naturschutz wichtig sind, untersucht werden. Diese grundlegenden Untersuchungen sind forschungsnah. Ihre Ergebnisse fliessen in die allgemeine Argumentation des Naturschutzes ein. Wie weit wandern Tiere? Was sind Barrieren für die Ausbreitung? Herrscht Inzucht in kleinen Populationen? Wie gross ist die Biodiversität? Wie gross ist die Anpassungsfähigkeit von Organismen? Dies sind einige der vielen möglichen Fragen, deren Beantwortung für den Naturschutz von allgemeiner Bedeutung ist. Was erarbeitet wird, ist Grundlagenwissen, zum Beispiel zur Wirksamkeit der ökologischen Infrastruktur.

**Einzeluntersuchungen** werden speziell für den praktischen Naturschutz

durchgeführt, meist zu wichtigen Zielarten des Naturschutzes. Beispielsweise lauten die Fragen, ob die Populationen des Moorbläulings in den zerstückelten Mooren eines Mittellandkantons miteinander verbunden sind oder wie viele Schneehühner in einem Bergmassiv der Alpen leben. Solche genetischen Untersuchungen sind weitgehend Routine. Es ist offensichtlich, dass hier ein grosses Feld für den Einsatz von Naturschutzgenetik besteht. Es handelt sich dabei um evidenzbasierten Naturschutz (HOFER 2016). Sind einmal viele genetische Einzelartenstudien durchgeführt, lassen sich daraus wieder allgemeine Argumente ableiten. Die Beiträge von THIEL-EGENTER (2017) sowie BÜHLER und DUBEY (2017) in diesem Band zeigen Beispiele für solche Einzelstudien aus der Schweiz.

Genetische Methoden kann man auch für **Erfolgskontrollen** einsetzen. In diesem Punkt ist das Potenzial der Naturschutzgenetik bislang nicht ausgeschöpft. Gerade im Bereich Verbund ist vieles möglich: Führt eine Grünbrücke über eine Autobahn tatsächlich zu einer grossräumigen Lebensraumvernetzung mit Fernwanderung oder verbindet sie einfach die lokal ansässigen Wildtiere rechts und links der Autobahn, ohne massgebliche Wirkung im Hinterland? Durchmischen sich die Arten einer frisch angesäten Wiese mit jenen der Nachbarwiesen oder wurde nur eine weitere nicht vernetzte Lebensrauminsel geschaffen?

Schliesslich fordert die Strategie Biodiversität Schweiz (Schweizerische Eidgenossenschaft 2012) ein **genetisches Monitoring** (Abb. 3). Hier handelt es

sich um die Erfassung der Veränderungen der genetischen Vielfalt von Arten in Raum und Zeit. Genetisches Monitoring ist also ähnlich wie das Arten- und Lebensraummonitoring des Bundes. Zielgrössen des genetischen Monitorings sind dabei die Vernetztheit von Populationen, der Inzuchtgrad oder die für die Anpassungsfähigkeit relevante genetische Vielfalt (genetische Fitness). Wiederum stossen im Moment technische Entwicklungen in der Genetik neue Türen auf. Zwar ist genetisches Monitoring noch Neuland, aber es sind weltweit Überlegungen und Planungen dazu im Gang (MIMURA *et al.* 2016); die Schweiz sollte nicht abseits stehen (HOLDEREGGER *et al.* 2016; CORDILLOT 2017, in diesem Band).

### 6 Naturschutzgenetik ist kein Allerweltsheilmittel

Die Erwartungen und Hoffnungen an die Naturschutzgenetik sind hoch, manchmal zu hoch. Nur ein Beispiel: Zwar kann man genetisch bestimmen, welche Amphibienarten in einem Gewässer vorkommen, aber (noch) nicht, wie viele Individuen es pro Art sind. Wie alle Methoden hat auch die Naturschutzgenetik ihre positiven und negativen Seiten. Einige dieser negativen Seiten sind methodische Details, genetische Fachbegriffe und statistische Auswertungen, die nicht einfach zu verstehen sind für diejenigen, die nicht täglich damit zu tun haben. Wieviel muss man als PraktikerIn bei einer Behörde, bei einer Naturschutzorganisation oder in einem Planungsbüro von Naturschutzgenetik verstehen (Abb. 4)? Es empfiehlt sich folgendes Vorgehen: Wer eine genetische Untersuchung durchführen will, sollte zuallererst eine möglichst präzise Frage stellen. Mit Genetik-Spezialisten zusammen wird dann ein Konzept für das Sammeln der Proben erstellt. Hier ist viel Fach- und Feldwissen gefragt, weshalb die PraktikerInnen einen massgeblichen Beitrag zu diesem Sammelkonzept leisten sollten. Was beim Sammeln falsch läuft, lässt sich später kaum mehr korrigieren. Die genetischen Analysen im Labor, die spezialisierten statistischen Auswertungen und die Interpretation dieser Resultate kann man



Abb. 3. Genetisches Monitoring muss verschiedene Lebensräume und Arten mit je verschiedener Funktionalität umfassen. Beim genetischen Monitoring von Trockenwiesen (Xero- und Mesobrometum; links) kann beispielsweise das dominante und strukturgebende Gras dieses Wiesentyps – die häufige Aufrechte Trespe (*Bromus erectus*) – genetisch untersucht werden. Zusätzlich können die weniger häufige, aber doch regelmässig vorkommende Spitzorchis (*Anacamptis pyramidalis*; Mitte) oder der seltene, streng an warm-trockene Lebensräume gebundene Schmetterlingshaft (*Libelloides coccajus*; rechts) genetisch analysiert werden (Fotos: Rolf Holderegger).

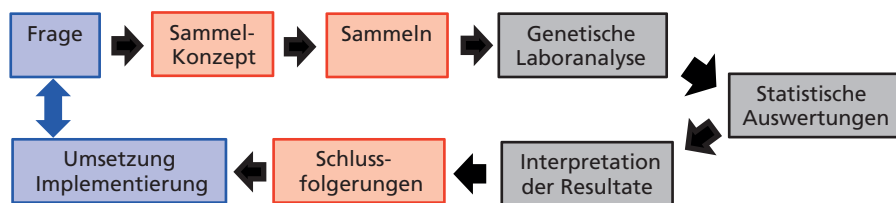


Abb. 4. Ablauf einer naturschutzgenetischen Einzeluntersuchung. Blau: Arbeitsschritte der Praxis. Rot: Zusammenarbeit von Praxis und Genetik-Experten. Grau: Arbeitsschritte der Genetik-Experten. Nur wenn die Frage präzise gestellt wird, kann eine naturschutzgenetische Untersuchung gut auf die Umsetzung und Implementierung der Ergebnisse in der Naturschutzpraxis ausgerichtet werden (zweiköpfiger blauer Pfeil).

getrost den Genetik-Spezialisten überlassen, wobei natürlich von Praxisseite her Verständnis- und Rückfragen möglich sein müssen. Um aus der Interpretation der Resultate Schlussfolgerungen zu ziehen, müssen die PraktikerInnen wieder wesentlich beitragen: Ein gewisses Grundverständnis der genetischen Resultate ist also wichtig (HOLDEREGGER und SEGELBACHER 2016). Die Anwendung und Implementierung der Schlussfolgerungen ist dann natürlich Sache der PraktikerInnen. Ein Wechselspiel zwischen Genetik-Spezialisten von spezialisierten privaten Firmen und Planungsbüros (MEIER und STAFFER 2017, in diesem Band) oder der Forschung mit der Praxis ist somit nötig. Naturschutzgenetische Methoden bieten zwar nicht alles, aber vieles. Nutzen wir sie!

### Dank

Ich danke Michèle Büttner, Felix Gugerli und einem anonymen Begutachter für die gründliche Durchsicht und vielen Verbesserungen des Manuskripts sowie dem KTI-Projekt Nr. 19204.1 PFLS-LS für finanzielle Unterstützung.

## 8 Literatur

- BAFU, 2013: Waldpolitik 2020. BAFU, Bern.
- BAFU; BLW, 2008: Umweltziele Landwirtschaft. BAFU, Bern.
- BIEBACH, I.; KELLER, L., 2017: Inzucht und ihre Bedeutung für den Naturschutz. WSL Ber. 60: 15–22.
- BOLLIGER, J.; GUGERLI, F., 2017: Isoliert oder vernetzt? Auswirkungen der Landschaft auf den Genfluss. WSL Ber. 60: 23–29.
- BÜHLER, C.; DUBEY, S., 2017: Application de la génétique de la conservation dans les bureaux d'études en écologie. WSL Ber. 60: 77–82.
- CORDILLOT, F., 2017: Bedeutung der Naturschutzgenetik für den Bund. WSL Ber. 60: 63–69.
- DARWIN, C., 1859: On the origin of species. John Murray, London.
- ESSL, F.; RABITSCH, W. (Hrsg.), 2013: Biodiversität und Klimawandel. Springer, Berlin.
- FRANKHAM, R., 2015: Genetic rescue of small inbred populations: meta-analysis reveals large and consistent benefits of gene flow. Mol. Ecol. 24: 2610–2618.
- GUGERLI, F.; JACOB, G.; BOLLMANN, K., 2008: Molekulare Marker erzählen aus dem Geschichtenbuch: Auerhuhn-Populationsgenetik in den Schweizer Alpen. Ornith. Beobachter 105: 77–84.
- HARTMANN, M., 2017: Der Boden – eine wertvolle Ressource für die genetische Vielfalt. WSL Ber. 60: 39–47.
- HOFER, U., 2016: Evidenzbasierter Naturschutz. Haupt, Bern.
- HOLDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G. (Hrsg.), 2016: Naturschutzgenetik. Ein Handbuch für die Praxis. Haupt, Bern.
- HOLDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G.; WIDMER, A., 2016: Genetisches Monitoring. In: HORDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G. (Hrsg.). Naturschutzgenetik. Ein Handbuch für die Praxis. Haupt, Bern, 165–182.
- IMESCH, N.; STADLER, B.; BOLLIGER, M.; SCHNEIDER, O., 2015: Biodiversität im Wald: Ziele und Massnahmen. BAFU, Bern.
- MEIER, R.; STAFFER, A., 2017: Werkzeugkasten für genetische Methoden in der Biodiversitätsförderung. WSL Ber. 60: 49–56.
- MIMURA, M.; YAHARA, T.; FAITH, D.P.; VAZQUEZ-DOMINGUEZ, E.; COLAUTTI, R.I.; ARAKI, H.; JAVADI, F.; NUNEZ-FARFAN, J.; MORI, A.S.; ZHOU, S.; HOLLINGSWORTH, P.M.; NEAVES, L.E.; FUKANO, Y.; SMITH, G.F.; SATO, Y.-I.; TACHIDA, H.; HENDRY, A.P., 2016: Understanding and monitoring the consequences of human impacts on intraspecific variation. Evol. Appl. 10: 121–139.
- NUSSBERGER, B.; WANDELER, P.; WEBER, D.; KELLER, L.F., 2014: Monitoring introgression in European wildcats in the Swiss Jura. Conserv. Genet. 15: 1219–1230.
- PESCH, M.-L.; JACQUAT, O.; ZÜRCHER, D., 2016: Forschungskonzept Umwelt für die Jahre 2017–2020. BAFU, Bern.
- RELLSTAB, C.; FISCHER, M.C.; CSENCICS, D.; GUGERLI, F.; HOLDEREGGER, R., 2017: Bedeutung der lokalen Anpassung in der Naturschutzgenetik. WSL Ber. 60: 31–37.
- RIGLING, A.; SCHAFFER, H.-P. (Eds.), 2015: Waldbericht 2015. BAFU, Bern.
- SCHMIDT, B.; GRÜNIG, C., 2017: Einsatz von eDNA zum Amphibien-Monitoring. WSL Ber. 60: 57–62.
- Schweizerische Eidgenossenschaft, 2012: Strategie Biodiversität Schweiz. BAFU, Bern.
- SEGELBACHER, G.; STRAND, T.M.; QUINTELA, M.; AXELSSON, T.; JANSMAN, H.A.H.; KOELWIJN, P.; HÖGLUND, J., 2014: Analysis of historical and current populations of Black Grouse in Central Europe reveal strong effects of genetic drift and genetic diversity. Conserv. Genet. 15: 1183–1195.
- STÖCKLIN, S., 2017: Das gestaltete Naturparadies. Horizonte 113: 42–43.
- THIEL-EGENTER, C., 2017: Naturschutzgenetik aus Ökobürosicht – Chancen und Erfahrungen. WSL Ber. 60: 71–76.
- UVEK; BAFU, 2013: Anpassung an den Klimawandel in der Schweiz. UVEK, BAFU, Bern.

### Abstract

#### Genetics in conservation management: an overview

Conservation genetics produces basic knowledge that forms part of the catalogue of arguments for nature conservation. But it is also used in case studies, in which answers to specific questions from conservation management are sought for, e.g. studies on implementation success. Applications of conservation genetics range from the determination of ecological processes such as connectivity or fragmentation, across species identification – e.g. the detection of species from water samples through environmental DNA and barcoding – to the determination of genetic fitness encompassing inbreeding, adaptation and adaptability. A new theme is genetic monitoring. Here, changes in the genetic diversity of populations and species are assessed across space and time. The present article provides an overview of the importance and the possibilities of conservation genetics in practical conservation management.

Keywords: conservation genetics, barcoding, connectivity, inbreeding, genetic monitoring, adaptability, conservation management





# Inzucht und ihre Bedeutung für den Naturschutz

Iris Biebach und Lukas Keller

Institut für Evolutionsbiologie und Umweltwissenschaften, Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich  
iris.biebach@ieu.uzh.ch, lukas.keller@ieu.uzh.ch

**Naturschutzrelevante Populationen sind meist klein und isoliert – Eigenschaften, die zu Inzucht führen. Ingezüchtete Individuen leiden häufig unter einer reduzierten Fitness wie zum Beispiel geringere Fruchtbarkeit. Diese Inzuchtprobleme wurden in vielen Wildpopulationen nachgewiesen. Ohnehin gefährdete kleine Populationen werden also durch Inzucht noch stärker bedroht. Zudem bleiben die negativen Effekte der Inzucht noch lange bestehen, nachdem eine Population wieder gewachsen ist. Beispielsweise ist dies bei wiederangesiedelten Steinbockpopulationen in der Schweiz der Fall. Wenn Inzucht nicht berücksichtigt wird, besteht die Gefahr, das Aussterberisiko einer Population zu unterschätzen und somit den Schutzstatus falsch einzuordnen. Daher sollte Inzucht und ihre negativen Folgen in kleinen oder ehemals kleinen Populationen beachtet und gegebenenfalls mit geeigneten Massnahmen verringert werden.**

## 1 Was ist Inzucht?

Inzucht entsteht durch die Verpaarung von verwandten Individuen und kann in zwei Kategorien eingeteilt werden. In der ersten Kategorie wählen Individuen bevorzugt Verwandte als Paarungspartner, obwohl auch weniger verwandte Individuen zur Auswahl stünden. Die extremste Form dieser Inzucht kommt bei denjenigen Organismen vor, die sich selbst befruchten können, wie dies häufig bei Pflanzen vorkommt. Bei Wirbeltieren kommt Inzucht in natürlichen Populationen jedoch nur selten durch bevorzugte Partnerwahl von Verwandten vor.

Bei der zweiten Kategorie handelt es sich um kleine Populationen, in denen die Anzahl der Paarungspartner allein durch die geringe Grösse der Population limitiert ist. Dadurch kommt es selbst bei zufälliger Partnerwahl zur Verpaarung von verwandten Individuen. In Populationen, die im Naturschutz von Interesse sind, kommt aufgrund der oft begrenzten Populationsgrösse diese Art der Inzucht häufig vor. Je länger Populationen klein sind, desto mehr Inzucht sammelt sich an. Denn solange die Population klein ist, kommt mit jeder Generation weitere Inzucht zu der bereits bestehenden hinzu. Dabei ist zu bedenken, dass das relevante Zeitmass die Generationszeit einer Population ist, und nicht

die Anzahl Jahre. So steigt die Inzucht während eines bestimmten Zeitraums in Populationen von gleicher Grösse mit kurzer Generationszeit (z.B. einjährige Pflanzen, kleine Singvögel) stärker an als bei solchen mit langer Generationszeit (z.B. Steinbock, Elefant).

Selbst wenn eine kleine Population wieder angewachsen ist, bleibt die Inzucht noch lange erhalten. Die einzigen Möglichkeiten, die Inzucht in Populationen wieder zu reduzieren, sind die Einwanderung von Individuen aus anderen Populationen oder die Entstehung von neuen Genvarianten durch Mutationen im Erbgut. Letzteres ist ein langwieriger Prozess, der viele Generationen dauert und den man im Naturschutz nicht abwarten kann. Denn nur wenige kleine und isolierte Populationen werden ohne Eingreifen eine so lange Zeit überleben.

## 2 Inzuchtdepression

Inzucht ist für naturschutzrelevante Populationen bedeutsam, weil ingezüchtete Individuen im Vergleich zu Individuen mit weniger Inzucht eine niedrigere Fitness haben. Dies wird als Inzuchtdepression bezeichnet. Eine niedrigere Fitness bedeutet, dass das ingezüchtete Individuum über das ge-

samte Leben betrachtet weniger fortpflanzungsfähige Nachkommen hat als ein weniger ingezüchtetes. Die Ursachen dafür sind mannigfaltig, beispielsweise kann die Überlebenswahrscheinlichkeit dieses Individuums, seine Abwehrkräfte gegen Krankheiten, die Fruchtbarkeitsrate oder das Überleben seiner Nachkommen bis ins Erwachsenenalter reduziert sein.

Am einfachsten lässt sich Inzuchtdepression an einem Stammbaum veranschaulichen (Abb. 1). Jedes Individuum trägt an jedem Genort zwei Genvarianten in sich, wobei eine Variante von der Mutter und die andere vom Vater stammt. Nachkommen erben zufällig eine der beiden Genvarianten von jedem Elternteil. Nachkommen einer Geschwisterverpaarung können – wenn sie die gleiche Genvariante von jedem Elternteil vererbt bekommen haben – zweimal die gleiche Genvariante in sich tragen, die ursprünglich vom Grossvater oder der Grossmutter stammen. Individuen, die zweimal die gleiche Genvariante in sich tragen, nennt man homozygot. Homozygot an Genorten zu sein ist dann nachteilig, wenn die homozygote Genvariante schädlich und rezessiv ist. Rezessiv bedeutet, dass die Genvarianten nicht auffällig sind, solange eine der beiden gesund ist. Das ist bei heterozygoten Individuen der Fall, welche die schädliche Genvariante nur von einem Elternteil geerbt haben. Wenn aber ein Individuum eine schädliche Genvariante zweifach in sich trägt, kommen die Nachteile zum Vorschein, weil die schädliche Genvariante nicht von einer gesunden überdeckt wird. Solch schädliche rezessive Genvarianten kommen häufig vor: Jeder Mensch trägt hunderte solcher schädlicher Genvarianten in sich (AGRAWAL und WHITLOCK 2012), meist aber in Kombination mit einer gesunden Genvariante. Beispielsweise ist die Ursache für die Krankheit cystische Fibrose eine rezessive Mutati-

on des Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Gens.

Anzahl und Art dieser schädlichen Genvarianten unterscheiden sich von Population zu Population. Die Unterschiede zwischen Populationen entstehen durch Unterschiede in der Geschichte der Populationen, etwa, wie gross die Populationen in der Vergangenheit waren. Dementsprechend ist auch die Inzuchtdepression zwischen Populationen verschieden ausgeprägt, da sie davon abhängt, wieviele und welche schädlichen Genvarianten in gezüchtete Individuen zweifach in sich tragen. Im Durchschnitt jedoch ist die Inzucht schädlich und die Nachteile der Inzucht wurden wiederholt in Wildpopulationen nachgewiesen. Beispielsweise haben Singammern mit steigendem Inzuchtgrad eine geringere Lebenserwartung und eine geringere Anzahl Nachkommen (NIETLISBACH *et al.* 2017).

In manchen Fällen zeigt sich ein Zusammenhang zwischen Inzuchtdepression und Umweltbedingungen: Unter ungünstigen Umweltbedingungen kann Inzuchtdepression ausgeprägter oder

sogar nur dann nachweisbar sein. Zu den ungünstigen Umweltbedingungen zählen etwa widrige Klimabedingungen oder starke Umweltveränderungen. Beispielsweise galten Nacktmulle (*Heterocephalus glaber*) lange Zeit als Ausnahme unter den Wirbeltieren, da sie trotz hoher Inzucht keine Anzeichen von Inzuchtdepression aufwiesen. Als ein fremdartiges Virus in einer Kolonie von Nacktmullen ausbrach, zeigte sich die Inzuchtdepression jedoch deutlich: Stark in gezüchtete Tiere hatten ein 300 Prozent höheres Risiko, an dem Virus zu sterben, als nicht in gezüchtete Tiere (ROSS-GILLESPIE *et al.* 2007).

Für den Naturschutz ist die Inzuchtdepression vor allem dann bedeutsam, wenn sich der Fitnessverlust der in gezüchteten Individuen auch im Populationswachstum zeigt. Denn dann wird eine ohnehin kleine Population noch kleiner oder wächst nur sehr langsam an. Die Inzuchtprobleme verstärken sich noch und tragen gemeinsam mit anderen Faktoren zu einem erhöhten Aussterberisiko von kleinen Populationen bei. So hat Inzuchtdepression

in Computersimulationen mit 18 Säugetier- und 12 Vogelarten die Zeit bis zum Aussterben um ein Drittel verkürzt (O'GRADY *et al.* 2006). Es ist jedoch nicht so, dass Inzuchtdepression immer zu einem geringeren Populationswachstum führt. Das Populationswachstum wird zum Beispiel von Inzucht wenig beeinflusst, wenn weniger in gezüchtete Tiere die geringere Anzahl an fortpflanzungsfähigen Nachkommen der mehr in gezüchteten Tiere ausgleichen, indem sie selbst mehr fortpflanzungsfähige Nachkommen haben. Die Bedingungen, unter denen sich Inzucht auf das Populationswachstum auswirkt, sind jedoch noch wenig erforscht. Ebenso ist wenig darüber bekannt, wie häufig Wildpopulationen auf Grund von Inzucht im Populationswachstum gehemmt sind (KARDOS *et al.* 2016).

### 3 Wie erfasst man Inzucht und Inzuchtdepression?

#### 3.1 Erfassung von Inzucht

Quantitative Erfassungen von Inzucht beziehen sich immer auf eine bestimmte Generation in der Vergangenheit, in der aus pragmatischen Gründen angenommen wird, dass alle Tiere nicht in gezüchtet und nicht miteinander verwandt sind (Inzuchtgrad = 0). Der Inzuchtgrad ist also ein relatives Mass, was bei der Inzuchtmessung mit Stammbäumen anschaulich wird: Der Inzuchtgrad ist höher, wenn der Inzuchtschätzung ein Stammbaum über mehrere Generationen zu Grunde liegt, als wenn die Schätzung nur über zwei Generationen erfolgt. Im zweiten Fall fehlt die Information, dass zum Beispiel die Grosseltern verwandt sind. Dementsprechend liegen die meisten mit Stammbäumen berechneten Inzuchtgrade unter dem tatsächlichen Wert.

Die Inzucht kann mit Stammbäumen oder mit genetischen Methoden gemessen werden. Die Inzucht mit Hilfe von Stammbäumen zu messen, galt bis zur Entwicklung neuer genomischer Methoden als die genaueste Methode, solange der Stammbaum Informationen über mehrere Generationen enthielt. Die Erstellung solcher Stammbäume ist jedoch für die meis-

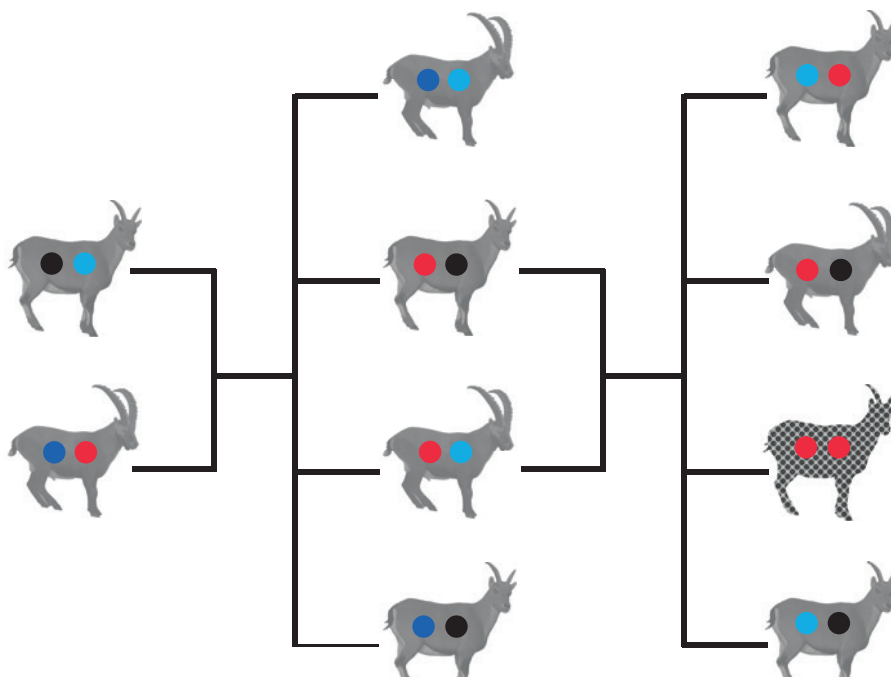


Abb. 1. Illustration zur Entstehung von schädlichen Folgen durch Inzucht. Die farbigen Punkte stellen unterschiedliche Genvarianten an einem Genort dar. Die rote Genvariante ist eine schädliche Genvariante, die anderen nicht. Tiere, die eine schädliche und eine gesunde Genvariante tragen, haben keine Einbussen in der Fitness, da die gesunde Genvariante den Effekt der schädlichen Genvariante überdeckt (=rezessiv). Hat ein Tier jedoch von beiden Eltern die schädliche Genvariante geerbt (hier ursprünglich vom Grossvater), kommt es zu Einbussen in der Fitness (gepunktetes Tier; Steinbockzeichnungen von Nadine Colin).

ten Populationen sehr zeitaufwändig, wenn sie überhaupt möglich ist. Denn man muss eine Population über mehrere Generationen hinweg markieren oder genetisch erfassen, um einen möglichst fehlerfreien Stammbaum erstellen zu können.

Die Schätzung der Inzucht mit genetischen Methoden ist hingegen für sehr viele Populationen möglich, da man nur einmalig genetisches Material von Individuen sammeln muss und kein Stammbaum nötig ist. Vor der Entwicklung neuer genomischer Methoden, mit denen unter anderem abertausende über das Genom verteilte Marker genotypisiert werden können, war es üblich, die Inzucht in naturschutzrelevanten Populationen mit etwa 10 bis 40 genetischen Markern (Mikrosatelliten) zu berechnen. Diese relativ wenigen genetischen Marker können den Inzuchtgrad einzelner Individuen nur schlecht abbilden. Um die durchschnittliche Inzucht von Populationen zu schätzen, ist diese geringe Anzahl von Markern jedoch ausreichend – vorausgesetzt die untersuchten Populationen stammen alle von einer gemeinsamen Population ab. Dann kann mit dem Grad des genetischen Unterschieds einer Population relativ zu den anderen untersuchten Populationen (populationsspezifisches  $F_{ST}$ ; psp  $F_{ST}$ ) berechnet werden, wieviel Inzucht sich seit der Trennung von der gemeinsamen Population angesammelt hat.

Mit den neuen genomischen Techniken können einige wenige bis hunderttausende genetische Marker (single-nucleotide polymorphisms; SNPs) pro Individuum untersucht werden. Mit so vielen genetischen Markern kann der Inzuchtgrad einzelner Individuen sehr präzise gemessen werden, oft sogar besser als bei der Berechnung mit Hilfe von Stammbäumen (KARDOS *et al.* 2015). Es gibt mehrere Methoden, die Inzucht mit genomischen Daten zu berechnen. Bei einer dieser Methoden werden Erbgutstücke gesucht, die an allen genetischen Markern homozygot sind. Über die Länge von homozygoten Erbgutstücken kann zwischen Inzucht unterschieden werden, die mehrere oder nur wenige Generationen zurückliegt. Längere homozygote Erbgutstücke zeigen dabei Inzucht an, die erst vor wenigen Generationen entstanden ist.

### 3.2 Erfassung von Inzuchtdepression

Zur Messung der Inzuchtdepression müssen zusätzlich zu den Inzuchtwerten von Individuen oder Populationen Fitnessmerkmale erfasst werden. Mit einem statistischen Modell wird anschliessend berechnet, ob und wie stark die Inzucht das Fitnessmerkmal beeinflusst. Häufig erfasste Fitnessmerkmale sind beispielsweise die Anzahl Nachkommen in einer bestimmten Zeitspanne, das Überleben, der Parasitenbefall, oder Merkmale, die der sexuellen Selektion unterliegen wie Gesang bei Vögeln oder Horngrösse bei Wildschafen. Merkmale, die der sexuellen Selektion unterliegen, sind Indikatoren der Fitness, da Individuen mit einem stärker ausgeprägten sexuellen Merkmal mehr Nachkommen haben: Entweder sind sie bei den Paarungspartnern begehrt oder sie können sich bei der Paarungswahl besser gegen Konkurrenten durchsetzen. Wird die Inzuchtdepression auf Populationsebene untersucht, so treten anstelle der Fitnessmerkmale von Individuen populationsspezifische Merkmale wie zum Beispiel das Populationswachstum.

Der Nachweis von Inzuchtdepression wird jedoch durch einige Faktoren erschwert: Erstens muss ein Fitnessmerkmal untersucht werden, das auch tatsächlich durch Inzucht beeinflusst wird. Da sich Inzucht in verschiedenen Merkmalen äussern kann, kommt es vor, dass man nicht das Merkmal gemessen hat, bei dem sich die Inzuchtdepression tatsächlich zeigt. Zweitens muss es Unterschiede im Ausmass der Inzucht zwischen den untersuchten Individuen oder Populationen geben. Bei Populationen, die schon über viele Generationen hinweg klein sind, kann es sein, dass alle Individuen einen ähnlich hohen Inzuchtgrad haben. In diesem Fall kann man Inzuchtdepression erst feststellen, wenn man Individuen aus anderen Populationen einkreuzt. Beispielsweise hat man innerhalb von Zuchtlinien des mexikanischen Wolfs (*Canis lupus baileyi*) zunächst keine Inzuchtdepression feststellen können. Erst durch Kreuzungen zwischen den Zuchtlinien konnte starke Inzuchtdepression vor allem bei einer der drei Zuchtlinien gezeigt werden (FREDRICKSON *et al.* 2007). Drittens muss der

Inzuchtgrad präzise genug gemessen werden. Eine unpräzise Messung kann dazu führen, dass man keine Inzuchtdepression feststellen kann oder den Effekt der Inzucht auf das Fitnessmerkmal unterschätzt. Bei Seehunden (*Phoca vitulina*) zum Beispiel wurde Inzuchtdepression mit wenigen genetischen Markern (27 Mikrosatelliten) und auch mit sehr vielen genetischen Markern (14500 SNPs) untersucht (HOFFMAN *et al.* 2014). Nur die Analyse mit den vielen Markern konnte Inzuchtdepression statistisch deutlich feststellen. Viertens müssen genügend viele Individuen oder Populationen untersucht werden, damit vorhandene Inzuchtdepression auch statistisch fassbar wird.

Die oben genannten Faktoren zeigen, dass eine Population durchaus an Inzuchtdepression leiden kann, auch wenn ein direkter Nachweis fehlt. Daher sollte man davon ausgehen, dass eine Population unter Inzuchtdepression leidet, wenn ein hoher Inzuchtgrad festgestellt wurde. Dies vor allem dann, wenn es sich um kleine Populationen handelt, wie sie häufig im Naturschutz vorkommen.

## 4 Inzucht und Inzuchtdepression bei Steinböcken

Steinböcke (*Capra ibex*) in der Schweiz sind ideal, um Inzucht und Inzuchtdepression zu studieren, da die Gründungsgeschichte der Schweizer Steinbockpopulationen einem genetischen Grosseperiment gleicht: Es gibt viele Populationen, die weitgehend isoliert sind und Details zur Gründung und Entwicklung der Populationen sind gut dokumentiert.

### 4.1 Geschichte der Schweizer Steinbockpopulationen

Alle heutigen Alpensteinbockpopulationen gehen auf die Gran Paradiso-Population in Italien zurück, der einzigen überlebenden Steinbockpopulation des 19. Jahrhunderts. Anfang des 20. Jahrhunderts wurde in der Schweiz ein Zuchtprogramm für Alpensteinböcke mit Kitzen aus der Gran Paradiso-Population aufgebaut. Steinböcke

aus zwei Wildparks (Wildpark Peter und Paul, Wildpark Interlaken-Harder), die vorwiegend zum Zuchtprogramm beitrugen, waren die Gründertiere der ersten freilebenden Steinbockpopulationen in der Schweiz seit ihrer Ausrottung. Vor allem aus drei dieser früh gegründeten und gut wachsenden freilebenden Populationen wurden Steinböcke für alle weiteren Wiederansiedlungen in der Schweiz ausgewählt. Dadurch wurden viele Schweizer Steinbockpopulationen mehrmals stark in ihrer Grösse reduziert – sie haben sogenannte genetische Flaschenhälse durchlaufen – und mit jedem genetischen Flaschenhals ihre Inzucht erhöht.

Den ersten genetischen Flaschenhals haben alle heute noch lebenden Alpensteinböcke erfahren, als nur eine kleine Population im Gran Paradiso-Gebiet der Ausrottung im 19. Jahrhundert entkommen war. Der zweite genetische Flaschenhals entstand bei der Gründung der Zuchtpopulation in der Schweiz. Durch die Gründung der ersten freilebenden Steinbockpopulationen durchliefen die Populationen den dritten genetischen Flaschenhals. Zum vierten und manchmal auch fünften genetischen Flaschenhals kam es, als alle weiteren Steinbockpopulationen aus bereits bestehenden freilebenden Populationen gegründet wurden.

## 4.2 Inzucht bei Alpensteinböcken

Die heutigen Steinbockpopulationen stammen letztendlich alle von der Gran Paradiso-Population ab, weshalb es möglich ist, mit relativ wenigen genetischen Markern die durchschnittliche Inzucht pro Population zu berechnen. Wir haben mit 37 Mikrosatelliten die Inzucht, die sich seit dem Zuchtprogramm über etwa 12 Generationen angesammelt hat, in 41 Schweizer Steinbockpopulationen gemessen (BIEBACH und KELLER 2010). Die Inzucht ( $F_{ST}$ ) ist im Durchschnitt bei den Steinböcken fast so hoch ( $F_{ST} = 0,118$ ) wie bei Nachkommen einer Halbgeschwisterverpaarung (Inzuchtgrad = 0,125). Es gibt aber Unterschiede zwischen den Populationen, die zum grossen Teil mit der Anzahl der Gründertiere und dem Wachstum der Populationen nach der Gründung zu erklären sind. Je mehr Tiere zur Gründung einer

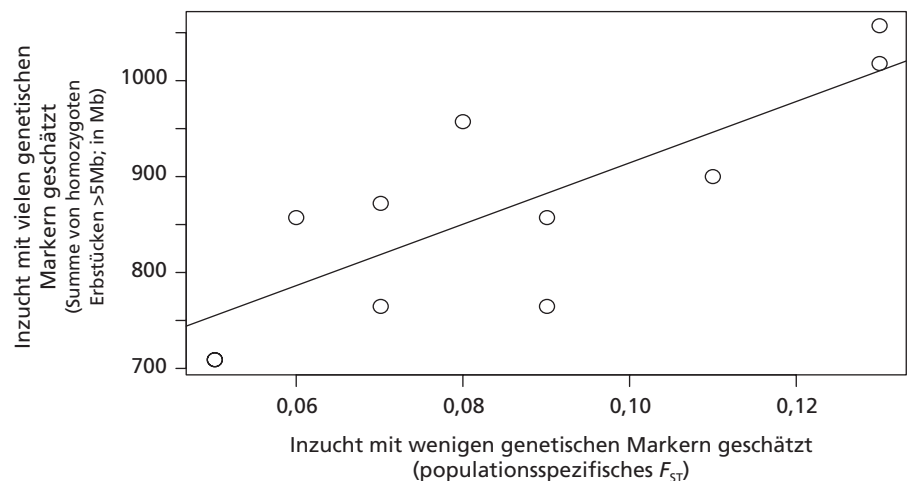


Abb. 2. Zusammenhang der Inzuchtschätzungen mit jeweils wenigen und vielen genetischen Markern in 10 Schweizer Populationen des Steinbocks. Die Inzuchtschätzung mit wenigen genetischen Markern wurde mit 37 Mikrosatelliten durchgeführt und zeigt die Inzucht an, die sich über die letzten 12 Generationen angesammelt hat. Die Inzuchtschätzung mit vielen genetischen Markern wurde mit 31 580 SNPs berechnet und schätzt die Inzucht, die sich in den letzten 10 bis 12 Generationen angesammelt hat (Mb = Megabasen; 1 Mb entspricht 1 Million Nukleotiden). Die Linie zeigt die Korrelation zwischen den beiden Inzuchtschätzern an ( $r = 0,79$ ;  $p = 0,007$ ).

neuen Population angesiedelt wurden und je stärker die Population nach der Gründung gewachsen ist, desto geringer ist die durchschnittliche Inzucht einer Population (BIEBACH und KELLER 2010).

In einer Vergleichsstudie überprüfen wir, ob die Inzuchtschätzung mit Mikrosatelliten ein ähnliches Bild ergibt wie eine mit vielen genomischen Markern (31 580 SNPs). Dazu untersuchten wir den statistischen Zusammenhang der unterschiedlich berechneten Inzuchtschätzungen. Die beiden Inzuchtschätzer zeigen eine hohe Korrelation. Das heisst Populationen mit hohem Inzuchtgrad, der aus der Analyse mit den wenigen Markern hervorgeht, haben auch einen hohen Inzuchtgrad bei der Schätzung mit vielen genetischen Markern. Dieser Zusammenhang zeigt sich sowohl für Inzucht, die sich erst über die letzten vier bis fünf Generationen angesammelt hat wie auch für die Inzucht, die sich seit den Aussetzungen angesammelt hat. Wie zu erwarten war, besteht die beste Korrelation jedoch für die Inzucht, die in den letzten 10 bis 12 Generationen entstanden ist (Abb. 2), der Zeitspanne also, über die wir die Inzucht mit den wenigen genetischen Markern gemessen haben.

Die Inzuchtberechnung mit den vielen genomischen Markern wurde an Populationen durchgeführt, die unter-

schiedlich viele genetische Flaschenhälse erfahren haben: einen (Gran Paradiso), drei (Albris, Mont Pleureur, Briener Rothorn), drei bis vier (Graue Hörner, Schwarzmonch und Aletsch-Bietschhorn) und vier (Rheinwald, Weisshorn und Cape au Moine). Es zeigte sich, dass der Inzuchtgrad im Durchschnitt höher ist, je mehr genetische Flaschenhälse eine Population durchlaufen hat (Abb. 3; GROSSEN *et al.* 2017). Populationen, die vier genetische Flaschenhälse erfahren haben, haben einen signifikant höheren Inzuchtgrad als Populationen, die nur einen bis drei genetische Flaschenhälse durchlaufen haben.

Alpensteinböcke in der Schweiz sind deutlich ingezüchteter als ihre Verwandten, die iberischen Steinböcke und die Hausziegen (Abb. 3; GROSSEN *et al.* 2017). Iberische Steinböcke haben eine ähnlich hohe oder niedrigere Inzucht wie die Gran Paradiso-Population der Alpensteinböcke. Die Hausziegen hingegen sind etwa 50-mal weniger ingezüchtet als die zehn untersuchten Populationen der Alpensteinböcke.

## 4.3 Inzuchtdepression bei Steinböcken

Ob Inzucht die individuelle Fitness von Steinböcken herabsetzt, wurde in der Gran Paradiso-Population untersucht.

Das Ausmass der Inzucht der untersuchten Böcke wurde mit 37 Mikrosatelliten berechnet. Obwohl die Schätzung der Inzucht mit diesen relativ wenigen genetischen Markern nicht sehr präzise ist, wurde Inzuchtdepression gefunden: Mit steigender Inzucht hatten adulte Böcke ein geringeres Körpergewicht, kürzere Hörner und mehr Parasiten (BRAMBILLA *et al.* 2015).

Eine weitere Studie untersuchte, ob sich die Inzucht bei Steinböcken auch auf das Populationswachstum auswirkt. Bei den Schweizer Steinbockpopulationen wurde die Aussetzungsgeschich-

te aussergewöhnlich gut dokumentiert. Von den meisten Populationen wurden sowohl die Anzahl wie auch die Herkunft der Gründertiere und der jährliche Bestand erfasst. Mit den jährlichen Bestandsdaten seit der Gründung einer Population konnte das Wachstum von 26 Populationen berechnet werden. Von den gleichen 26 Populationen wurden die Inzuchtwerte mit wenigen genetischen Markern ermittelt. Die Untersuchung zeigte, dass die Inzucht einen deutlichen Einfluss auf das Populationswachstum hat (Abb. 4; Bozzuto *et al.*, unveröffentlicht). Eine

Population, die zum Beispiel jährlich um 15 Prozent wächst, hat nur noch ein jährliches Wachstum von 5 Prozent wenn der Inzuchtgrad um 0,1 ansteigt. Das reduzierte Populationswachstum durch Inzucht ist in diesen statistischen Analysen klar zu erkennen, in den Bestandeszahlen der meisten Steinbockpopulationen aber noch nicht, denn sie sind meist im Wachstum begriffen und werden jagdlich genutzt. Wenn noch mehr Steinbockgenerationen vergehen, kann sich dies aber ändern: Ohne weitere Massnahmen ist die Inzucht dann noch höher und wird das Populationswachstum dementsprechend stärker reduzieren.

Die Stärke der Inzuchtdepression hing dabei vom Sommerniederschlag ab, der auch sonst das Wachstum von Steinbockpopulationen stark beeinflusst (GROTAN *et al.* 2008). In Gebieten mit niedrigem Sommerniederschlag zeigten Populationen keine Inzuchtdepression, in Gebieten mit hohem Sommerniederschlag war hingegen die Inzuchtdepression stark ausgeprägt.

Bisherige Studien über den Einfluss von Inzucht auf das Wachstum natürlicher Populationen haben diesen Zusammenhang nur innerhalb einer Generation untersucht. So haben zum Beispiel Populationen des Wegerich-Scheckenfalters (*Melitaea cinxia*) mit stärkerer Inzucht ein höheres Risiko, innerhalb einer Generation auszusterben, als weniger ingezüchtete Falterpopulationen (SACCHERI *et al.* 1998). Mit der Steinbockstudie konnten wir zeigen, dass Inzucht auch langfristige Konsequenzen auf die Demographie von Populationen haben kann. Für die dauerhafte Erhaltung von isolierten und kleinen Populationen oder solchen, die vor einigen Generationen klein waren, spielen solche genetischen Konsequenzen also eine wichtige Rolle.

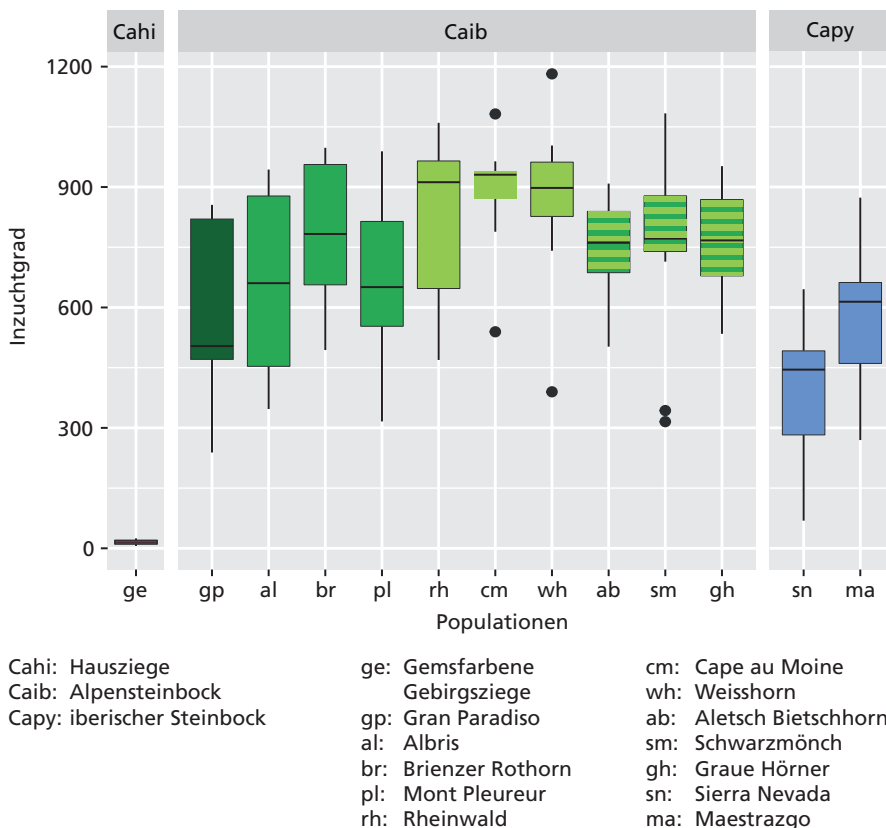


Abb. 3. Ausmass der Inzucht, basierend auf einer Schätzung mit vielen genomischen Markern (SNPs). Es ist die Inzucht gezeigt, die sich über die letzten 10 bis 12 Generationen in Populationen des Alpensteinbocks (grün), des iberischen Steinbocks (blau) und der Hausziege (rot) angesammelt hat. Die Schattierung der Grünfärbung bei den Alpensteinböcken markiert die Anzahl der genetischen Flaschenhälse, welche die jeweilige Population erfahren hat: Dunkelgrün: 1 genetischer Flaschenhals, mittelgrün: 3 genetische Flaschenhälse, hellgrün: 4 genetische Flaschenhälse, mittelgrün-hellgrün gestreift: 3–4 genetische Flaschenhälse, da die Gründertiere aus verschiedenen Populationen stammen. Die Kästen markieren den Bereich, in dem die mittleren 50 % der Inzuchtwerte pro Population liegen. Die Querlinien in den Kästen zeigen den mittleren Wert an: Die Hälfte der Inzuchtwerte liegt darüber und die andere Hälfte darunter. Die vertikalen Linien kennzeichnen jenen Bereich, in dem alle Inzuchtwerte der jeweiligen Population mit Ausnahme von extremen Werten zu finden sind. Individuen mit extrem hohem oder niedrigem Inzuchtgrad im Vergleich zu den anderen Individuen ihrer Population sind mit schwarzen Punkten gekennzeichnet. Populationen, die vier genetische Flaschenhälse durchlaufen haben (hellgrün), haben eine höhere Inzucht als Populationen, die nur 1–3 genetische Flaschenhälse (mittelgrün und dunkelgrün) erfahren haben.

## 5 Reduktion von Inzucht und Inzuchtdepression

Die negativen Auswirkungen von Inzucht auf die Fitness von Individuen sind inzwischen unumstritten. Inzuchtdepression in Populationen nachzuweisen, ist – wie oben beschrieben – jedoch oftmals aufwändig und schwierig. Man

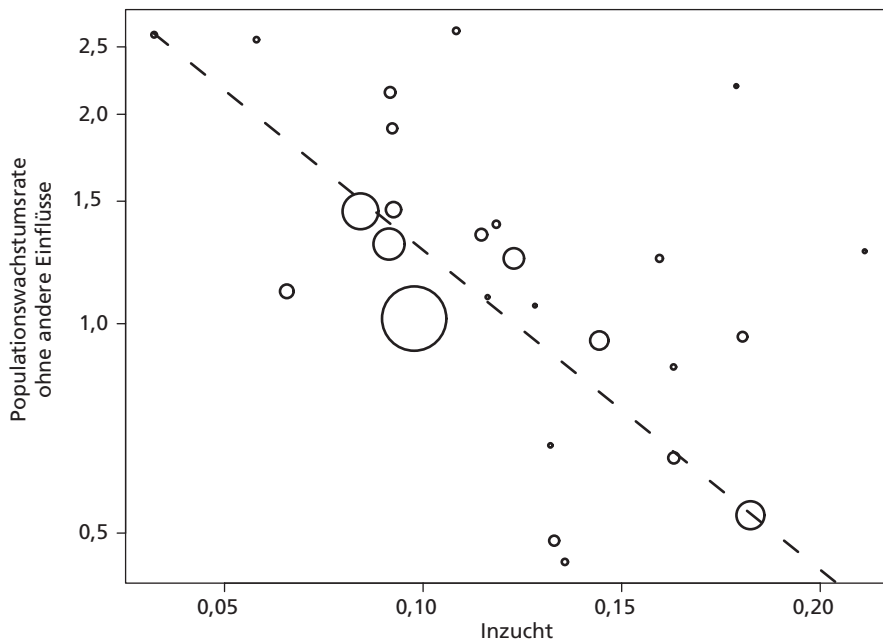


Abb. 4. Einfluss der Inzucht auf die Wachstumsrate von 26 Steinbockpopulationen, nachdem andere Einflüsse wie Sommer- und Winterniederschlag oder das Jahr der Aussetzung statistisch entfernt wurden. Die Fläche der Kreise zeigt, wie gross der Schätzfehler der Populationswachstumsrate bei jedem Datenpunkt ist: Je grösser der Kreis ist, desto geringer ist der Schätzfehler. Die gestrichelte Linie zeigt das berechnete statistische Modell: Die Wachstumsrate einer Population ist kleiner, je grösser der Inzuchtgrad der jeweiligen Population ist.

kann allerdings davon ausgehen, dass Individuen mit hohem Inzuchtgrad Einbussen in ihrer Fitness haben, auch wenn es keinen unmittelbaren Nachweis für Inzuchtdepression gibt. Populationen, deren Inzucht reduziert werden kann, werden so wieder eine höhere Fitness erlangen (z.B. JOHNSON *et al.* 2010). Wenn sich die Inzucht auf das Populationswachstum auswirkt, bedeutet das in der Folge ein erhöhtes Populationswachstum und dementsprechend eine schnellere Erholung nach Einbrüchen in der Populationsgrösse. Dies ist besonders bei kleinen Populationen wichtig, da sie ohnehin schon ein erhöhtes Aussterberisiko durch demographische Faktoren haben.

Häufig diskutiert wird eine nur vermeintlich geeignete Methode zur Reduktion der Inzuchtdepression, nämlich schädliche Genvarianten durch Inzucht auszumerzen («purging»). Wenn sich ingezüchtete Individuen nicht mehr erfolgreich fortpflanzen, sollten schädliche Genvarianten mit der Zeit seltener oder gar nicht mehr in der Population vorkommen. Unter ganz bestimmten Bedingungen ist dies tatsächlich auch der Fall, beispielsweise wenn die Inzucht langsam ansteigt, in der Popu-

lation auch Individuen mit keiner oder wenig Inzucht sind und die schädlichen Genvarianten einen starken negativen Effekt auf die Fitness des einzelnen Individuums haben (HEDRICK und GARCIA-DORADO 2016). Diese Bedingungen kommen in Wildpopulationen, um die sich der Naturschutz kümmert, selten vor: Sie sind meist klein, so dass die Inzucht schnell ansteigt, und alle Individuen sind ähnlich stark ingezüchtet. Dementsprechend gibt es auch kaum Nachweise von Wildpopulationen, deren schädliche Genvarianten durch Inzucht ausgemerzt worden sind. Selbst in Zuchtpopulationen ist die gezielte Inzucht keine erfolgreiche Strategie, um die negativen Folgen der Inzucht zu mildern. Denn das Risiko ist gross, dass genau das Gegenteil des erwünschten Effekts erreicht wird, nämlich dass schädliche Genvarianten in ihrer Häufigkeit zunehmen.

Die einzige praktikable Möglichkeit, die Inzucht einer Population zu reduzieren, besteht darin, dass Individuen aus anderen Populationen hinzukommen und sich erfolgreich fortpflanzen. Um dies zu erreichen, kann zum einen die natürliche Einwanderung von benachbarten Populationen wiederherge-

stellt oder gefördert werden, sofern es benachbarte Populationen gibt. Zum anderen können Individuen aus anderen Populationen umgesiedelt werden.

Die umgesiedelten Individuen sollten zur gleichen Art gehören und aus einer Population stammen, wo ähnliche Umweltbedingungen herrschen (HEDRICK und FREDRICKSON 2010). Denn bei zu grossen genetischen Unterschieden oder unterschiedlichen Anpassungen an jeweils andere Umweltbedingungen zwischen den beiden Populationen besteht das Risiko, dass man mehr schadet als hilft: Es kann zu sogenannter Auszuchtdepression kommen, also eine Reduzierung der Fitness bei Kreuzungen von Individuen aus genetisch stark unterschiedlichen Populationen. Auch sollte die Herkunftspopulation nicht zu nahe verwandt mit der Empfängerpopulation sein, um die Inzucht möglichst effektiv zu reduzieren. Welche Herkunftspopulationen sich am besten eignen, wird idealerweise mit Hilfe von genetischen Analysen bestimmt (WHITELEY *et al.* 2015). Zum Beispiel kann mit den neuen genomischen Methoden festgestellt werden, ob starke genetische Unterschiede zwischen Populationen als Folge jahrhundertelanger Trennung und Isolierung durch den Verlust von Habitaten entstanden sind oder durch Anpassung an verschiedene Umweltbedingungen (RELLSTAB *et al.* 2017). Im ersten Fall wären die genetischen Unterschiede rein zufällig entstanden, da die Populationen keine Individuen mehr austauschen können und klein sind. Dann ist ein künstlicher Austausch von Individuen zwischen den Populationen gut geeignet, um der Inzucht in den kleinen isolierten Populationen entgegen zu wirken. Sind die Unterschiede hingegen durch Anpassungen an verschiedene Umweltbedingungen entstanden, würden bei einem Austausch von Individuen Kreuzungen entstehen, die weder an die eine noch die andere Umwelt angepasst sind. Sind genetische Untersuchungen nicht möglich, kann folgende Faustregel angewendet werden: Wenn die Populationen in ähnlichem Lebensraum beheimatet sind und nicht mehr als 500 Jahre getrennt sind, sind die genetischen Unterschiede zwischen Populationen mit grosser Wahrscheinlichkeit zufällig entstanden und ein künstlicher Austausch von

Individuen zwischen den Populationen kann ins Auge gefasst werden (FRANKHAM *et al.* 2011).

Bei der Planung von Massnahmen zur Reduzierung der Inzucht muss bedacht werden, dass einige Generationen vergehen, bis die neu eingeführten Genvarianten in der Population weit verbreitet sind und eine sichtliche Reduktion von Inzucht und Inzuchtdepression bewirken können. Bei einem langlebigen Tier wie dem Steinbock bedeutet dies eine Vorausplanung von 10 bis 20 Jahren. Auch sollte beachtet werden, dass man mit der Einführung von Individuen aus anderen Populationen Krankheiten einschleppen kann. Daher sollten Herkunftspopulationen frei von unerwünschten Krankheiten sein oder die Individuen vor der Umsiedlung auf entsprechende Krankheiten getestet werden.

Es gibt einige erfolgreiche Beispiele von kleinen, isolierten natürlichen Populationen, deren Populationsgrösse rückläufig war und nach der Ansiedlung von Individuen aus anderen Populationen wieder anstieg (WHITTELEY *et al.* 2015). Beispielsweise wies eine kleine Population von Dickhornschafen abnehmende Bestandeszahlen auf. Nach der Einführung von 15 Tieren aus anderen Populationen über einen Zeitraum von 10 Jahren stiegen die Bestandeszahlen wieder beträchtlich an (HOGG *et al.* 2006). Individuen, die relativ mehr Genvarianten der eingeführten Individuen in sich tragen, leben länger und haben mehr Nachkommen. Trotz dieser dokumentierten Erfolge findet die genetische Rettung durch Ansiedlung von Individuen aus anderen Populationen noch wenig Anwendung im Naturschutz. Die Gründe dafür sind vielfältig. Ein häufiger Grund jedoch ist, dass die genetische Distanz zwischen Populationen überbewertet und das Risiko der Auszuchtdepression als zu hoch eingestuft wird. Gerade in kleinen Populationen oder solchen, die einmal klein waren, sind genetische Distanzen meist zufällig entstanden und stellen keine Anpassung an verschiedene Umweltbedingungen dar. Solche Populationen müssen also aus genetischer Sicht nicht getrennt bleiben und der Austausch von Individuen zwischen solchen Populationen würde auch keine Auszuchtdepression hervorrufen.

## 6 Inzucht im Naturschutz

Wie vorhergehend beschrieben sind also viele Populationen, die im Naturschutz von Interesse sind, von Inzucht und ihren negativen Folgen betroffen. Ohne Berücksichtigung von Inzucht werden wichtige Kriterien zur Einordnung des Schutzstatus, wie beispielsweise der Rückgang von Populationen und das Aussterberisiko, unterschätzt.

Mit den heutigen genomischen Methoden kann das Ausmass der Inzucht präzise bestimmt werden. Dies hilft, das Risiko, welches von der Inzucht ausgeht, einzuschätzen, auch wenn Inzuchtdepression nicht direkt nachgewiesen werden kann. Eine frühzeitige Erkennung von Inzucht ist wichtig, damit genügend Zeit bleibt, um Massnahmen einzuleiten. Denn es vergehen einige Generationen, bis die Inzucht und Inzuchtdepression durch das Einführen von Individuen aus anderen Populationen reduziert ist.

Inzucht und ihre negativen Folgen bleiben viele Generationen bestehen oder können sich im Laufe der Zeit noch verstärken, auch wenn die Population bereits wieder angewachsen ist. Daher ist es im Naturschutz wichtig, die Inzucht auch in solchen Populationen im Auge zu behalten, die keiner direkten Bedrohung mehr ausgesetzt sind, aber in früheren Generationen kleine Populationsgrösse aufwiesen.

## 7 Literatur

AGRAWAL, A.F.; WHITLOCK, M.C., 2012: Mutation load: the fitness of individuals in populations where deleterious alleles are abundant. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 43: 115–135.

BIEBACH, I.; KELLER, L.F., 2010: Inbreeding in reintroduced populations: the effects of early reintroduction history and contemporary processes. *Conserv. Genet.* 11: 527–538.

BRAMBILLA, A.; BIIEBACH, I.; BASSANO, B.; BOGLIANI, G.; VON HARDENBERG, A., 2015: Direct and indirect causal effects of heterozygosity on fitness-related traits in Alpine ibex. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 282: 20141873.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; ELDRIDGE, M.D.B.; LACY, R.C.; RALLS, K.; DUDASH, M.R.; FENSTER, C.B., 2011: Predicting the

probability of outbreeding depression. *Conserv. Biol.* 25: 465–475.

FREDRICKSON, R.J.; SIMINSKI, P.; WOOLF, M.; HEDRICK, P.W., 2007: Genetic rescue and inbreeding depression in Mexican wolves. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 274: 2365–2371.

GROSSEN, C.; BIIEBACH, I.; ANGELONE-ALASAAD, S.; KELLER, L.F.; CROLL, D., 2017: Populations genomics analyses of European ibex species show lower diversity and higher inbreeding in reintroduced populations. *Evol. Appl.* DOI: 10.1111/eva.12490

GROTAN, V.; SAETHER, B.E.; FILLI, F.; ENGEN, S., 2008: Effects of climate on population fluctuations of ibex. *Global Change Biol.* 14: 218–228.

HEDRICK, P.W.; FREDRICKSON, R., 2010: Genetic rescue guidelines with examples from Mexican wolves and Florida panthers. *Conserv. Genet.* 11: 615–626.

HEDRICK, P.W.; GARCIA-DORADO, A., 2016: Understanding inbreeding depression, purging, and genetic rescue. *Trends Ecol. Evol.* 31: 940–952.

HOFFMAN, J.I.; SIMPSON, F.; DAVID, P.; RIJKS, J.M.; KUIKEN, T.; THORNE, M.A.S.; LACY, R.C.; DASMAHAPATRA, K.K., 2014: High-throughput sequencing reveals inbreeding depression in a natural population. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111: 3775–3780.

HOGG, J.T.; FORBES, S.H.; STEELE, B.M.; LUIKART, G., 2006: Genetic rescue of an insular population of large mammals. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 273: 1491–1499.

JOHNSON, W.E.; ONORATO, D.P.; ROELKE, M.E.; LAND, E.D.; CUNNINGHAM, M.; BELDEN, R.C.; MCBRIDE, R.; JANSEN, D.; LOTZ, M.; SHINDLE, D.; HOWARD, J.; WILDT, D.E.; PENFOLD, L.M.; HOSTETLER, J.A.; OLI, M.K.; O'BRIEN, S.J., 2010: Genetic restoration of the Florida panther. *Science* 329: 1641–1645.

KARDOS, M.; LUIKART, G.; ALLENDORF, F.W., 2015: Measuring individual inbreeding in the age of genomics: marker-based measures are better than pedigrees. *Heredity* 115: 63–72

KARDOS, M.; TAYLOR, H.R.; ELLEGREN, H.; LUIKART, G.; ALLENDORF, F.W., 2016: Genomics advances the study of inbreeding depression in the wild. *Evol. Appl.* 9: 1205–1218.

NIETLISBACH, P.; KELLER, L.F.; CAMENISCH, G.; GUILLAUME, F.; ARCESE, P.; REID, J.M.; POSTMA, E., 2017: Pedigree-based inbreeding coefficient explains more variation in fitness than heterozygosity at 160 microsatellites in a wild bird population. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 284: 2016–2763.

- O'GRADY, J.J.; BROOK, B.W.; REED, D.H.; BALLOU, J.D.; TONKYN, D.W.; FRANKHAM, R., 2006: Realistic levels of inbreeding depression strongly affect extinction risk in wild populations. *Biol. Conserv.* 133: 42–51.
- RELLSTAB, C.; FISCHER, M.J.; CSENCICS, D.; GUGERLI, F.; HOLDEREGGER, R., 2017: Bedeutung der lokalen Anpassung in der Naturschutzgenetik. *WSL Ber.* 60: 31–37.
- ROSS-GILLESPIE, A.; O'RIAIN, M.J.; KELLER, L.F., 2007: Viral epizootic reveals inbreeding depression in a habitually inbreeding mammal. *Evolution* 61: 2268–2273.
- SACCHERI, I.; KUUSSAARI, M.; KANKARE, M.; VIKMAN, P.; FORTELIUS, W.; HANSKI, I., 1998: Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* 392: 491–494.
- WHITELEY, A.R.; FITZPATRICK, S.W.; FUNK, W.C.; TALLMON, D.A., 2015: Genetic rescue to the rescue. *Trends Ecol. Evol.* 30: 42–49.

## Abstract

### Inbreeding and its impact in conservation

Populations of conservation concern are often small and isolated — properties that lead to inbreeding. Inbreeding depression, the negative consequences of inbreeding, include reduced fitness of individuals such as lower survival or fecundity, or reduced pathogen resistance. These may lead to reduced population growth rates. Inbreeding depression has been shown to be ubiquitous in natural populations. Thus, inbreeding depression is an additional threat in populations already endangered for other reasons. However, the threat of inbreeding still remains once a population has again increased in size and is no longer threatened demographically. Reintroduced Swiss Alpine ibex (*Capra ibex*) populations serve as an example for this phenomenon. Therefore, it is crucial to consider inbreeding in conservation applications to determine the conservation status of a population and to initiate timely management strategies to reduce inbreeding.

Keywords: inbreeding, inbreeding depression, conservation genetics, Alpine ibex, outbreeding



# Isoliert oder vernetzt? Auswirkungen der Landschaft auf den Genfluss

Janine Bolliger und Felix Gugerli

Eidg. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL, Zürcherstrasse 111, CH-8903 Birmensdorf  
janine.bolliger@wsl.ch, felix.gugerli@wsl.ch

**Der Verlust naturnaher Lebensräume und ihrer Vernetzung in intensiv genutzten Landschaften isoliert die Populationen seltener Arten und gefährdet langfristig die biologische Vielfalt. Mit genetischen Methoden werden Beziehungen zwischen isolierten Populationen und damit ihre funktionale Vernetzung erfasst. Dies lässt Rückschlüsse auf kurz- oder langfristige Bewegungen von Individuen in der Landschaft zu. Die Landschaftsgenetik stellt genetische Beziehungen zwischen Populationen oder Individuen in Zusammenhang mit der Anordnung von Landschaftselementen und leistet so in verschiedenen Naturschutzbereichen einen wichtigen Beitrag: Genetische Methoden erlauben, die Bewegung von Organismen und deren Richtung im Raum zu messen oder Barriere- und Korridorwirkungen von Landschaftselementen wie zum Beispiel Strassen zu analysieren. Dies ermöglicht, Naturschutzmassnahmen zu optimieren und hinsichtlich ihrer Wirkung zu beurteilen.**

## 1 Genfluss als Mass funktionaler Vernetzung in der Landschaft

Die Bewegungen von Organismen, insbesondere von Tieren, lassen sich mit verschiedenen Ansätzen beschreiben. Einerseits liefern Methoden wie Sichtbeobachtungen, Fang–Wiederfang, GPS-Tracking oder Telemetrie räumlich exakte Daten darüber, wie sich die Individuen in der Landschaft bewegen. Andererseits bleibt bei diesen Methoden unklar, welchen Einfluss die Bewegung auf das längerfristige Fortbestehen von Populationen hat beziehungsweise ob die beobachteten Bewegungen von Organismen für die genetischen Beziehungen zwischen Populationen bedeutend sind. Dies ist nämlich nur dann der Fall, wenn es zu Paarungen zwischen Individuen aus verschiedenen Populationen kommt und die Nachkommen somit genetisch durchmischt sind. Zudem sind die erwähnten Methoden oft mit grossem logistischem Aufwand verbunden. Daten über Genfluss, welche mit Hilfe genetischer Analysen bestimmt werden, bieten eine einzigartige Möglichkeit, die räumliche Vernetzung (oder umgekehrt Isolation) von Populationen zu beschreiben. Genfluss bedeutet, dass sich Tiere oder pflanzliche Ausbreitungseinheiten wie Samen, Pollen oder Sporen in der Landschaft ausbreiten, sich so von ei-

ner Population zur anderen bewegen und dadurch für die Durchmischung des Erbguts sorgen. Reger Genfluss hat also eine ausgleichende Wirkung auf die genetische Zusammensetzung von Populationen und verhindert, dass sich Populationen genetisch auseinanderentwickeln. Diese Gefahr besteht insbesondere bei kleinen Populationen. Wandern Individuen, Samen oder Pollen von aussen in eine kleine Population ein, erhöhen sie die genetische Vielfalt. Dies wirkt dem zufälligen Verlust bestimmter Genvarianten (genetische Drift) entgegen, den die räumliche Isolation einer Population mit sich bringt. Genfluss ist ein wichtiges Mass für den realisierten Austausch zwischen Individuen und Populationen und beschreibt somit die funktionale Vernetzung. Für die langfristige Erhaltung der Biodiversität ist Genfluss von herausragender Bedeutung.

Grundsätzlich geht man davon aus, dass räumlich nahe beieinanderliegende Populationen einen hohen Genfluss aufweisen, während weit auseinanderliegende Populationen geringen Genfluss zeigen und sich dadurch genetisch stärker unterscheiden. Die Landschaftsgenetik untersucht, welche Landschaftsstrukturen nebst der geographischen Distanz einen Einfluss auf den Genfluss haben. Setzt man also Genfluss und Landschaftsstruktur in Beziehung, können Barriere- respek-

tive Korridorwirkung einzelner Landschaftselemente erklärt werden. Im Fall von Korridoren gleichen sich genetische Unterschiede zwischen Populationen aus (hoher Genfluss), während bei Barrieren sich die Populationen aufgrund geringen Genflusses genetisch auseinanderentwickeln. Fehlt die Durchlässigkeit, so können gezielte Vernetzungsmassnahmen wie zum Beispiel Trittsteinbiotope oder Grünbrücken den Genfluss längerfristig erhöhen (GUGERLI *et al.* 2016).

## 2 Genfluss messen

Die Bestimmung von Genfluss erfolgt entweder indirekt oder direkt (HOLDE-REGGER 2017, in diesem Band). Als indirektes Mass für Genfluss wird oft die genetische Differenzierung zwischen Individuen oder Populationen verwendet. Die genetische Differenzierung errechnet sich aus genetischen Markern und wird zum Beispiel als  $F_{ST}$ -Wert angegeben.  $F_{ST}$  ist ein relatives Mass und wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst wie zum Beispiel der Stichprobengrösse, ihrer Dichte, der Grösse des Untersuchungsgebietes, und nicht zuletzt von den verwendeten genetischen Markern.  $F_{ST}$  nimmt Werte zwischen 0 (Populationen sind genetisch identisch) und 1 an (Populationen sind genetisch komplett verschieden). Somit deuten tiefe  $F_{ST}$ -Werte auf einen regen genetischen Austausch zwischen den Populationen, während  $F_{ST}$ -Werte nahe 1 darauf hinweisen, dass es kaum Austausch zwischen den Populationen gibt. Allerdings ist zu beachten, dass die genetische Differenzierung  $F_{ST}$  den historischen Genfluss widerspiegelt: Was wir heute messen, ist ein Ergebnis aus der Vergangenheit. Das kann dazu führen, dass die gemessene genetische Differenzierung und der daraus abgeleitete Genfluss nicht direkt mit der heute vorhandenen Landschaft in Beziehung

stehen. Die Barrierewirkung einer neu erbauten Strasse wird zum Beispiel für Rehe erst in ein paar Jahrzehnten als erhöhte genetische Differenzierung sichtbar werden. Ebenso können Wirkungskontrollen von Vernetzungsmassnahmen wie Trittsteinbiotope für Amphibien erst nach ein paar Jahren erkennbar werden, wenn man sich auf die Messung von genetischer Differenzierung beschränkt.

Als direktes Mass für den aktuellen Genfluss wird aufgrund sogenannter Zuordnungstests die Wanderungsrate bestimmt, die durch Landschaftsveränderungen in jüngerer Vergangenheit geprägt wird. Dieser Ansatz erlaubt, den aktuellen Austausch von Individuen zwischen Populationen aufzuzeigen. Zuordnungstests berechnen die Wahrscheinlichkeit, dass ein Individuum mit einem bestimmten Genotyp

(= Gesamtheit der Genvarianten eines Individuums) zu einer lokalen Population gehört. Wenn der Genotyp des untersuchten Individuums nicht zu den Genotypen der lokalen Populationen passt, ist das Individuum vermutlich zugewandert. Im besten Fall kann aufgrund der Ähnlichkeit des Genotyps sogar die Herkunftspopulation und somit die zurückgelegte Distanz und die Ausbreitungsrichtung bestimmt werden. Dieser Ansatz verlangt jedoch, möglichst alle in Frage kommenden Herkunftspopulationen ebenfalls genetisch zu charakterisieren, was sehr aufwändig sein kann. Dafür ist es so möglich, den aktuellen Genfluss räumlich einzuordnen und die Populationsdynamik genauer zu beschreiben. Basierend auf verschiedenen solcher Zuordnungstests zeigten LE LAY *et al.* (2015) für Laubfrösche im Reusstal,

tal, dass die Wanderungsdistanz einzelner Tiere beträchtlich war (bis zu 7 km) und dass dabei offenbar die Reuss überquert wurde (Abb. 1). Die Studie zeigte ebenso, dass die Besiedlung neu erbauter Tümpel nicht nur von den nächsten benachbarten Tümpeln erfolgte, sondern auch von weiter weg.

Der Genfluss zwischen zwei Populationen ist entweder in beide Richtungen gleich gross oder in einer Richtung stärker ausgebildet als in der anderen. Wenn zum Beispiel mehr Genfluss von Population 1 zu Population 2 stattfindet, wird Population 1 als Quelle und Population 2 als Senke bezeichnet. Quellen sind oft grosse Populationen, während kleine Populationen zumeist Senken sind. Eine Studie über die zierliche Moosjungfer (Libelle) zeigte, dass drei von vier untersuchten Populationen im Reusstal keine bevorzugte

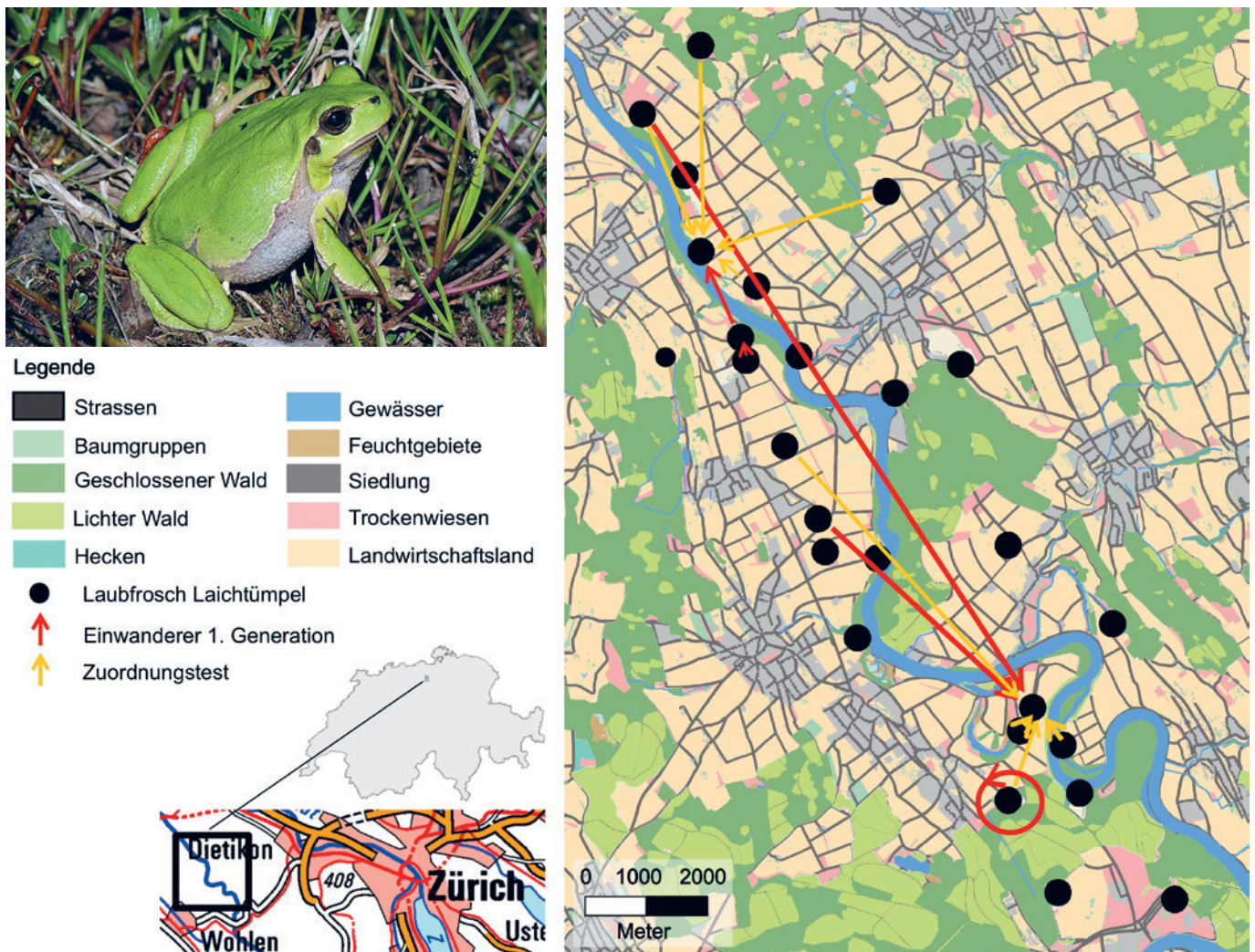


Abb. 1. Ergebnisse von Zuordnungstests für Laubfrösche (*Hyla arborea*) im Reusstal. Die Laubfrösche bewegen sich bis zu 7 km in der Landschaft, und die Reuss scheint keine vollständige Barriere für die Bewegung der Tiere zu sein. Verändert nach LE LAY *et al.* (2015). Foto: Thomas Reich.

Richtung von Genfluss aufwies. Die kleinste Population war jedoch klar eine Senke, ihr Fortbestand somit von der Zuwanderung aus den andern drei Populationen abhängig (BOLLIGER *et al.* 2011).

### 3 Verkehrsinfrastruktur als Barriere für den Genfluss?

Autobahnen stehen an erster Stelle, wenn von Barrierewirkung im Zusammenhang mit Landschaftselementen die Rede ist. Eine Studie untersuchte in der Gegend von Aarau, Zürich und im Thurgau drei Autobahnabschnitte, um abzuschätzen, wie durchlässig die Landschaft für Bergmolche ist. Es zeigte sich, dass Autobahnen und grössere Flüsse die genetische Struktur des weitverbreiteten und häufigen Bergmolchs nicht substantiell beeinflussen. Vielmehr liess sich in der am intensivsten beprobten Region bei Aarau ein genetischer Gradient statt einer klaren Teilung, die der Trennwirkung

durch die Autobahn zugeordnet werden könnte, erkennen (GUGERLI *et al.* 2017). Ähnliche Resultate wie beim Bergmolch fanden sich für die Wasserfrösche (Kleiner Wasserfrosch, Teichfrosch, Seefrosch). Abgeleitet von der genetischen Differenzierung hatten auch hier die untersuchten Autobahnabschnitte im Kanton Zürich und Aargau nicht die erwartete starke Trennwirkung auf die Bewegung der Tiere. Vielmehr spielte die räumliche Anordnung und die Distanz zwischen den Bruttümpeln sowie der Anteil Landwirtschaftsfläche zwischen Populationspaaren eine wichtige Rolle für die Bewegung der Wasserfrösche in der Landschaft (GUGERLI *et al.* 2017).

Diese Studien zu Amphibien sind auf regionaler Ebene durchgeführt worden (40–100 km<sup>2</sup>), und die teils geringen Stichprobenzahlen erlauben nur begrenzt statistisch gesicherte Aussagen. Eine auf grösserer Landschaftsskala durchgeführte Untersuchung (ca. 800 km<sup>2</sup>) zeigte, dass Autobahnen sowie urbane Siedlungen den Genfluss von Grasfröschen und Bergmol-

chen um bis zu 40 Prozent vermindern kann (VAN BUSKIRK 2012). Ob in letzterer Studie bei entsprechend geringer räumlicher Auflösung nicht andere, in die Analyse nicht miteinbezogene Landschaftsmerkmale als die Autobahnen eine Barrierewirkung erzielen, bleibt unklar. Dies nicht zuletzt deshalb, weil eine sehr ähnliche Studie in Frankreich beim Bergmolch ebenfalls keine Trennwirkung durch eine Autobahn nachweisen konnte (PRUNIER *et al.* 2014).

Grundsätzlich stellt sich immer die Frage, ob alle relevanten Faktoren, die das Mass des Genflusses zwischen Populationen erklären können, erfasst und in die Analyse miteinbezogen sind. Es bleibt somit offen, ob und wie stark solche unterschiedlichen Resultate wie beim Bergmolch durch Faktoren wie Stichprobenzahl und -dichte, Wahl der genetischen Marker oder Landschaftskonfiguration beeinflusst sind. Dennoch lassen die Ergebnisse den Schluss zu, dass eher häufige und kleine Tierarten in einer Landschaft, die wir strukturell als stark fragmentiert wahrnehmen,

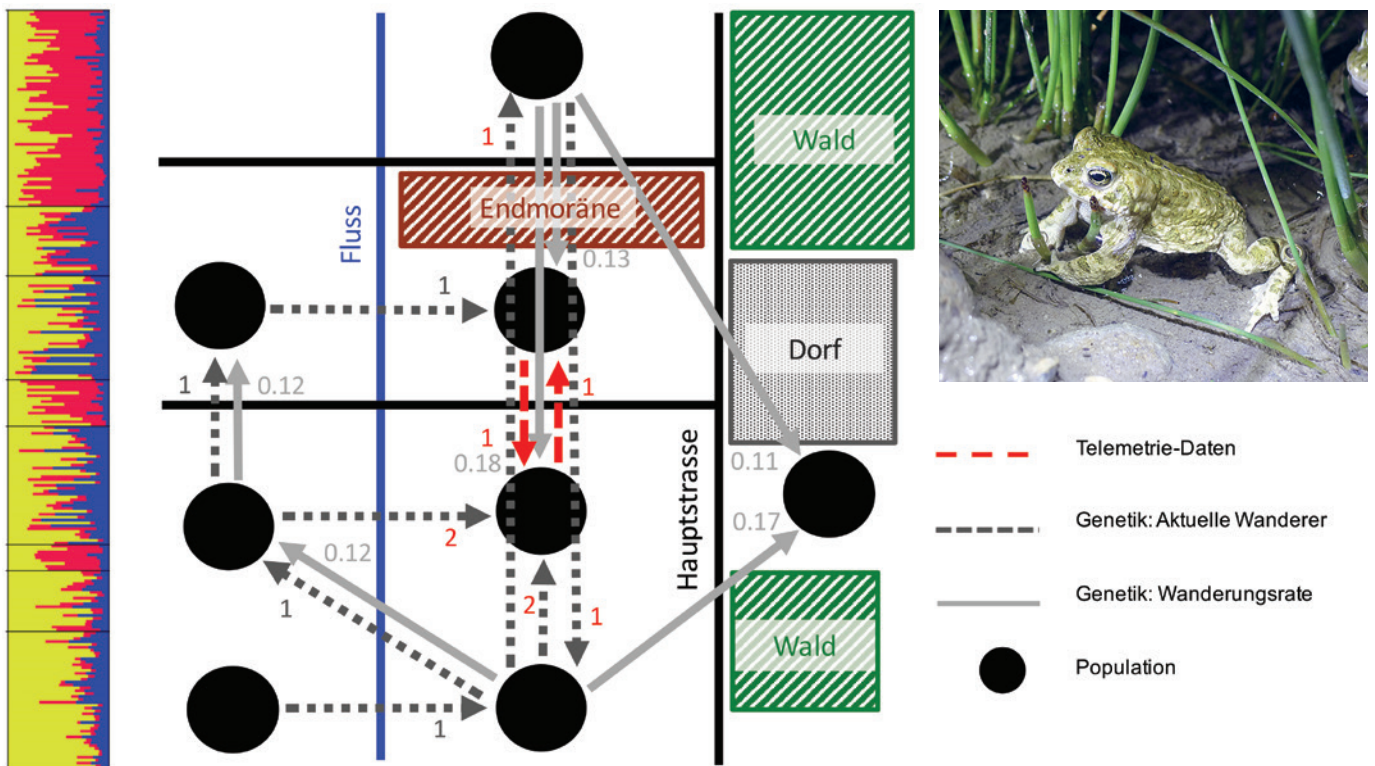


Abb. 2. Schematische Darstellung des Austauschs zwischen lokalen Vorkommen bei der Kreuzkröte (*Epidalea calamita*) im Suhretal. Die unterschiedlichen Ansätze Telemetrie, direktes (aktuelle Wanderer) und indirektes Mass für Genfluss (Wanderungsrate) widerspiegeln verschiedene Prozesse und räumlich-zeitliche Skalen. Links: Zuordnungswahrscheinlichkeit der untersuchten Individuen (horizontale Balken; geordnet nach Populationen von Nord [oben] nach Süd [unten]) zu einer von drei genetischen Verwandtschaftsgruppen. Der Anteil der gelben Gruppe nimmt von Nord nach Süd zu, derjenige der roten Gruppe verringert sich entsprechend. Verändert nach FREI *et al.* (2016). Foto: Christoph Bühler.

zumindest regional nicht so stark am Austausch zwischen Populationen gehindert werden wie befürchtet.

Anders sieht die Situation bei grossen Wirbeltieren aus. Am Beispiel des Rehs konnten HEPENSTRICK *et al.* (2012) im Wildtierkorridor Suret (Kanton Aargau) die Barrierewirkung der beiden eingezäunten Autobahnen aufzeigen: Rehe, die zwischen der Nationalstrasse A1 und der kantonalen Autobahn T5 vorkommen, zeigten eine erhöhte genetische Differenzierung zu ihren umliegenden Artgenossen als Vorkommen, die durch die Aare, welche ebenfalls das Untersuchungsgebiet durchschneidet, getrennt sind (Abb. 2). Hingegen beeinflusste die vierspurige, sehr stark befahrene, aber nicht eingezäunte Eisenbahnlinie Zürich–Olten den Genfluss nicht erkennbar. Diese Untersuchung wurde ange-regt, um die Situation in diesem sehr wichtigen Wildtierkorridor zwischen Jura und Voralpen zu erfassen, bevor umfangreiche Vernetzungsmassnahmen durchgeführt werden. Dank dieser Beschreibung der genetischen Struktur der Rehvorkommen ist nach Abschluss der Aufwertungen eine Wirkungsanalyse möglich. Da eine Vernetzungsmassnahme ihre Wirkung je nach Populationsgrösse wie bereits erwähnt entfaltet, muss für eine Wirkungskontrolle jedoch noch zugewartet werden.

Eine ähnliche Frage hinsichtlich der Barrierewirkung von Autobahnen auf Genfluss beim Reh stellten sich BURKART *et al.* (2016). In dieser Studie ging es darum, die Experteneinschätzung zur Durchlässigkeit von Wildtierkorridoren im Bereich von Autobahnen zu überprüfen. Dazu wurde ebenfalls aufgrund der genetischen Differenzierung bei Rehvorkommen im Umfeld ausgewählter Wildtierkorridore das Mass an Genfluss abgeschätzt und in Beziehung zur Expertenbeurteilung gesetzt. Als Datengrundlage dienten die Genotypen von über tausend Rehen aus der Jagd und von Fallwild, gesammelt in vier Grossregionen des Schweizer Mittellands. Die von Experten als intakt eingeschätzten Korridore wiesen tatsächlich mehr Genfluss auf als die Korridore, welche als beeinträchtigt oder unterbrochen erachtet wurden. Daraus lässt sich ableiten, dass beim Reh die strukturelle Vernetzung, wie sie von

Expertinnen und Experten beurteilt wird, gut mit der funktionellen Vernetzung übereinstimmt, wie sie über den historischen, langfristigen Genfluss abgeschätzt wird. Wenn hingegen eine markante landschaftliche Veränderung erfolgt – beispielsweise wenn ein Strassen- oder Eisenbahnabschnitt neu eingezäunt wird – erkennen wir dies zwar

als strukturelle Barriere, das Mass des Genflusses verändert sich hingegen erst nach mehreren Generationen. In diesem Fall ist wiederum ein direktes Mass für den genetischen Austausch, wie zum Beispiel die Anzahl Nachkommen von eingewanderten Individuen, aussagekräftiger.

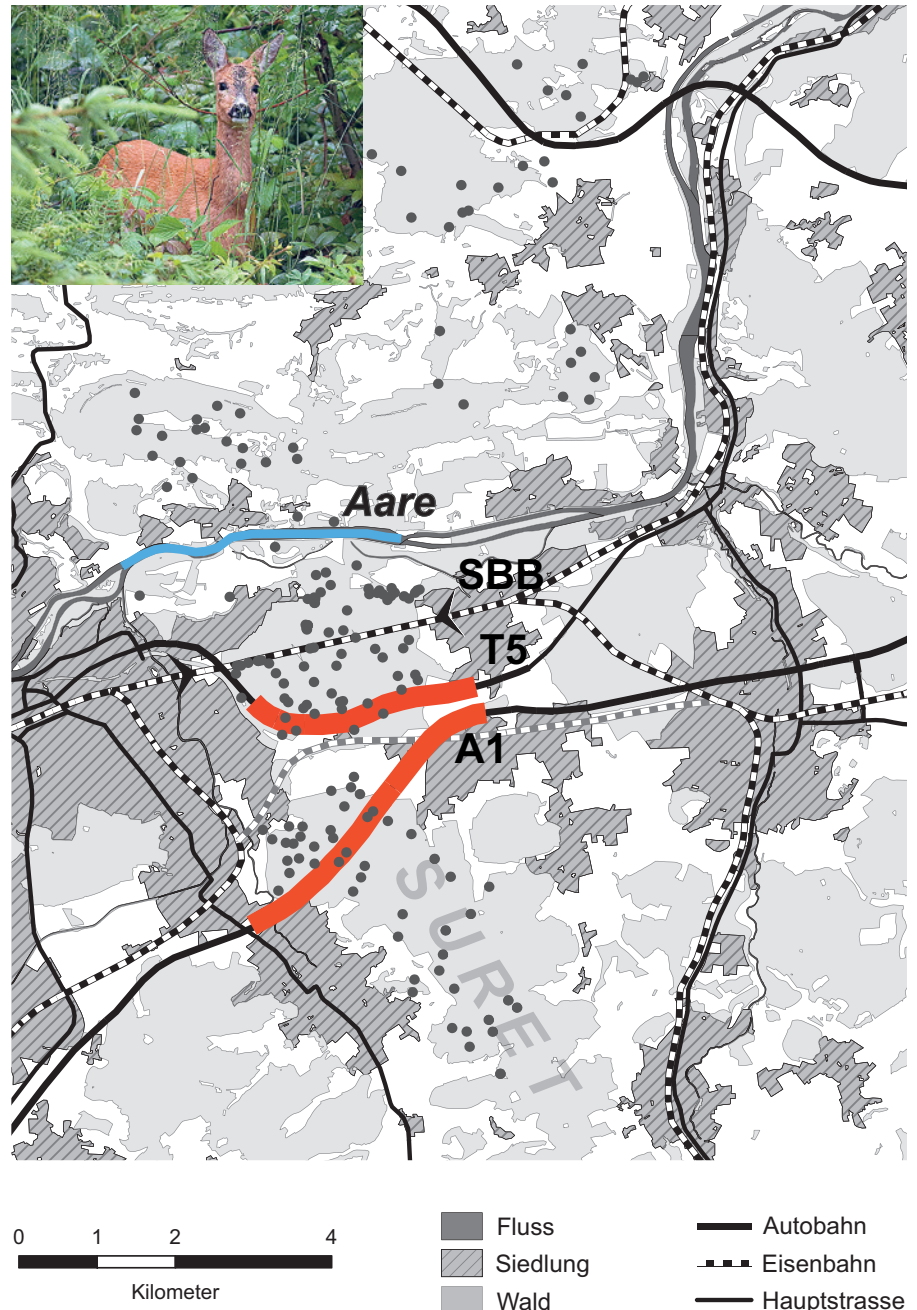


Abb. 3. Barrierewirkung (Stärke symbolisiert durch Dicke der farbigen Linien) von linearen Landschaftselementen, die den Wildtierkorridor Suret zwischen Rapperswil und Aarau durchqueren. Rehproben von Jagd und Fallwild (graue Punkte) zeigten erhöhte genetische Differenzierung zu benachbarten Rehvorkommen aufgrund der abge-zäunten Autobahnen A1 und T5 (dicke rote Linien) und geringe Einschränkung des Genflusses durch die Aare (dünne blaue Linie). Die Eisenbahnlinie (SBB) liess hingegen keine Barrierewirkung erkennen. Verändert nach HEPENSTRICK *et al.* (2012). Foto: Josef Senn.

#### 4 Die Kreuzkröte trotz der fragmentierten Landschaft

Die zunehmende Zersiedlung, der Ausbau von Verkehrsinfrastruktur, die intensivisierte Agrarwirtschaft und die Kanalisierung von Fließgewässern führten vielerorts dazu, dass temporäre Gewässer und Ruderalflächen, welche Amphibien Laichplätze oder Lebensraum bieten, verschwunden sind. Ebenso erschwert die derart veränderte Landschaft, dass die Tiere zwischen verschiedenen Laichplätzen wandern können, wodurch die Erhaltung dieser mehrheitlich geschützten Artengruppe erschwert wird. Es stellt sich auch hier die Frage, wie die Amphibien die stark fragmentierte Landschaft des Mittellandes nutzen und wie gut ihre Populationen vernetzt sind. Bei der Kreuzkröte wird zum Beispiel beobachtet, dass sie Kiesgruben als Ersatzlebensräume nutzt. Diese Lebensräume geraten jedoch zunehmend unter Druck, wenn der Kiesabbau intensiviert wird oder Kiesgruben aufgegeben und – nicht zuletzt als Landschafts- oder gar Naturschutzmassnahme – zugeschüttet werden. Neu angelegte Laichgewässer in Agrarflächen können hier Ersatzbiotope bieten. Allerdings ist unklar, wie lange und wo sich die Kreuzkröten in Agrarflächen

aufhalten, und ob sie sich dort erfolgreich fortpflanzen können. Eine Telemetriestudie bestätigte, dass sich Kreuzkröten im oberen Suhretal (Kanton Aargau) das ganze Jahr über im Landwirtschaftsgebiet aufhalten und dieses auch durchqueren (SCHWEIZER 2014, Abb. 3). Dass diese Bewegungen auch der genetischen Durchmischung der Populationen dienen, belegten FREI *et al.* (2016). Sie haben mit genetischen Markern untersucht, wie gut vernetzt die Vorkommen im Suhretal sind. Die Resultate zum historischen Genfluss zeigten, dass keines der elf untersuchten Kreuzkröten-Vorkommen genetisch isoliert war. Vielmehr waren die meisten Vorkommen genetisch durchmischt, was auf eine gute Vernetzung der Populationen hindeutet (Abb. 3). Aufgrund von Zuordnungstests erwiesen sich die zwei grossen Vorkommen im nördlichen und südlichen Bereich des untersuchten Gebiets als Quellen, aus denen Individuen in die dazwischenliegenden Lebensräume wandern. Es zeigte sich auch, dass weder Strassen noch die kanalisierte Suhre den Austausch zwischen den Populationen erkennbar einschränken. Kreuzkröten scheinen sich im Suhretal also weiträumig zu bewegen. Den Vorkommen muss jedoch Sorge getragen werden, denn es braucht wohl nur wenige

Verluste von möglichen Habitaten, damit dieses Netzwerk von Populationen nicht mehr durchlässig ist und als Folge davon die Kreuzkröte regional verschwinden könnte.

#### 5 Keine erkennbare Landschaftsbarriere für Auerhühner im Toggenburg

Und wie sieht es denn mit natürlichen – zum Beispiel topographischen – Hindernissen für den Genfluss aus? Ein erstaunliches Resultat zeigte die Untersuchung der fragmentierten Auerhühnervorkommen im Toggenburg zwischen Amden und Wildhaus (Kanton St. Gallen): Auch ein breites, besiedeltes und landwirtschaftlich intensiv genutztes Tal muss keine abschliessende

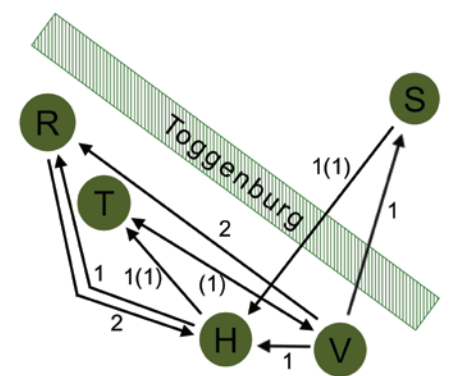
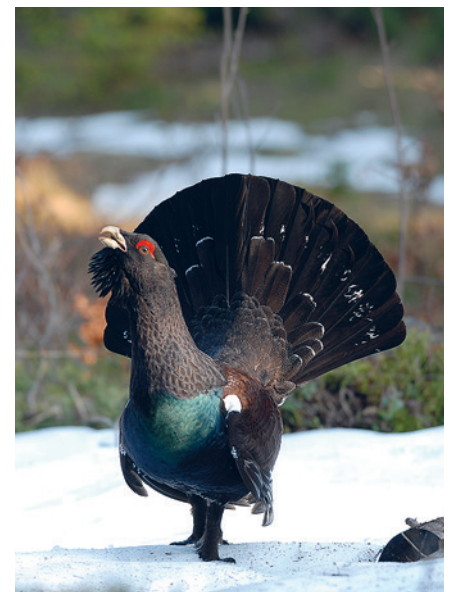
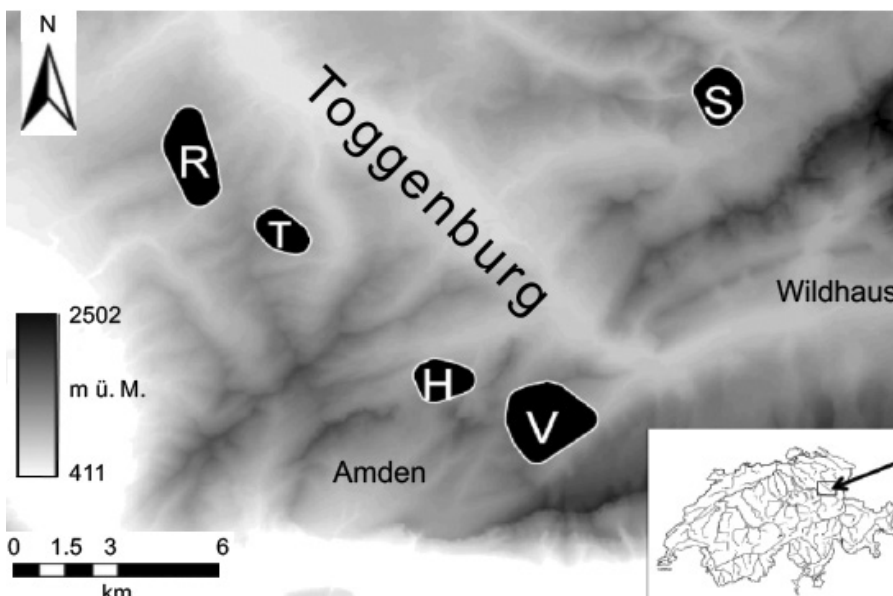


Abb. 4. Mithilfe eines genetischen Stammbaums abgeleitete Austauschhäufigkeit als direktes Mass für Genfluss zwischen fünf lokalen Vorkommen des Auerhuhns (*Tetrao urogallus*) im Toggenburg. Auch ein besiedeltes und intensiv genutztes Tal kann von den scheuen, grossen und nicht sehr flugtüchtigen Vögeln überwunden werden. Kreise symbolisieren die untersuchten Vorkommen, die Zahlen zu Pfeilen entsprechen der Anzahl gefundener Vögel, die zwischen Paaren von lokalen Vorkommen ausgetauscht wurden (in Klammer: unbekannte Richtung). Verändert nach KORMANN *et al.* (2012). Foto: Sébastien Sachot.

Landschaftsbarriere sein für diese scheuen Waldvögel, die wegen ihrer Grösse keine gewandten Flieger sind. KORMANN *et al.* (2012) verwendeten einen von genetischen Markern abgeleiteten Stammbaum als direktes Mass für den Genfluss im Untersuchungsgebiet. Die Autoren untersuchten die kleinen lokalen Vorkommen des Auerhuhns mithilfe von DNA aus frischem Kot. Danach wurden die Verwandtschaftsverhältnisse der Individuen berechnet, um so den aktuellen genetischen Austausch (dasselbe Individuum in verschiedenen lokalen Populationen gefunden) oder kürzlichen Genfluss (zumindest ein Elternteil und Nachkomme nicht aus derselben lokalen Population) zu bestimmen. Es zeigte sich, dass doch einige Vögel zwischen den Populationen wandern und sogar das Tal überqueren (Abb. 4). Die daraus resultierenden Nachkommen gelten als Nachweis funktionaler Vernetzung.

Allerdings sind die lokalen Vorkommen des Auerhuhns in der untersuchten Region sehr klein. Deshalb sind auch über kurze Zeit schon durch Zufall starke genetische Unterschiede möglich (genetischer Drift), so dass die genetische Differenzierung als indirektes Mass für Genfluss nur beschränkt aussagekräftig wäre. So fanden KORMANN *et al.* (2012) bereits nach fünf Jahren teils erhebliche genetische Unterschiede innerhalb derselben lokalen Vorkommen. Dies lässt sich kaum durch starke Zu- oder Abwanderung erklären. Vielmehr dürften diese Unterschiede durch zufällige genetische Drift entstehen. Es ist also Vorsicht geboten, wenn Genfluss ausschliesslich indirekt, aufgrund der genetischen Differenzierung abgeleitet wird.

## 6 Herausforderungen für landschaftsgenetische Vernetzungsanalysen

Diese Beispiele zeigen, dass die Landschaftsgenetik einen wichtigen Beitrag zu vielen Aspekten im Naturschutz leisten kann. Einerseits kann die Intensität und die Richtung individueller Bewegung in der Landschaft quantifiziert werden, andererseits erlaubt die Landschaftsgenetik, Barriere- und Korridorwirkungen von Landschafts-

elementen zu identifizieren. Solche Analysen ermöglichen, Naturschutzmassnahmen hinsichtlich ihrer Wirkung zu beurteilen und letztlich zu optimieren.

Dabei gibt es viele Herausforderungen. Während technische Fortschritte und sinkende Analysekosten erlauben, landschaftsgenetische Methoden im Naturschutz vermehrt anzuwenden, steigen die technischen Anforderungen, diese Daten auch richtig zu interpretieren und in Wert zu setzen. So sind zum Beispiel Daten aus der Fernerkundung (z.B. LiDAR) auf immer feineren räumlichen und zeitlichen Skalen für immer grössere Landschaften hochaufgelöst und flächendeckend verfügbar (ZELLWEGER und BOLLMANN 2017). Diese Daten können mit genetischen Kennzahlen verknüpft werden, um die Barriere- oder Korridorwirkung von Landschaftselementen abzuschätzen (MILANESI *et al.* 2017). Wie die Landschaft können verschiedene demographische Prozesse die genetische Struktur ebenfalls prägen. Die Populationsgrösse oder artspezifische Eigenschaften, die im Zusammenhang mit Ausbreitung und Bewegung stehen (z.B. maximale Ausbreitungsstanz), sowie Verhalten (besonders bei grösseren Säugetieren) können die genetische Struktur ebenso beeinflussen wie Korridore oder Barrieren in der Landschaft. Gleichzeitig gilt es, vermehrt auf die zeitlichen Verzögerungen zwischen Ursache (z.B. Landschaftsveränderung) und Wirkung (z.B. erhöhte Isolation von Populationen) zu achten. Veränderungen sind möglicherweise nicht unmittelbar in den Populationsgrössen oder der genetischen Struktur und Vielfalt abgebildet, sondern treten mit zeitlicher Verzögerung auf. Es ist deshalb wichtig, genetische Daten und Kennwerte im Zusammenhang mit der Wirkung von Landschaftselementen in einen zeitlich passenden Bezug zu setzen. Und nicht zuletzt spielt die anpassungsrelevante genetische Variation, die durch Selektion aufgrund von sich ändernden Umweltbedingungen auftritt, für die langfristige Überlebenswahrscheinlichkeit einer Population eine grosse Rolle (RELLSTAB *et al.* 2017, in diesem Band).

Abschliessend sei noch Folgendes vermerkt: Soll eine landschaftsgenetische Vernetzungsanalyse für die Praxis

wirklich relevant sein, ist es unabdingbar, dass Forschende von Beginn an mit Vertreterinnen und Vertretern aus der Praxis zusammenarbeiten (BOLLIGER *et al.* 2015). Nur offene Kommunikation von Projektbeginn an kann sicherstellen, dass ein solches transdisziplinäres Projekt für alle Beteiligten ein Erfolg wird und dem Artenschutz und der Erhaltung der biologischen Vielfalt – auch auf genetischer Ebene – dient.

### Dank

Einige der genannten Beispiele wurden durch die ETH/CCES-Projekte ENHANCE und GeneMig und durch Beiträge des Kantons Aargau mitfinanziert. Wir danken Hintermann & Weber AG (C. Bühler) und der Karch (B. Schmidt) für Ideen, Beratungen und Datengrundlagen.

## 6 Literatur

- BOLLIGER, J.; JUNGE, X.; WÜLSER, G.; POHL, C.; VAUPEL, A.; GUGERLI, F.; Teilnehmende der GeneMig Workshops, 2015: Herausforderungen und Chancen in der Zusammenarbeit Praxis–Wissenschaft – ein Erfahrungsbericht. N&L Inside 2015/2: 24–28.
- BOLLIGER, J.; KELLER, D.; HOLDEREGGER, R., 2011: When landscape variables do not explain migration rates: an example from an endangered dragonfly (*Leucorrhinia caudalis*). Europ. J. Entomol. 108: 327–330.
- BURKART, S.; GUGERLI, F.; SENN, J.; KUEHN, R.; BOLLIGER, J., 2016: Evaluating the functionality of expert-assessed wildlife corridors with genetic data from roe deer. Basic Appl. Ecol. 17: 52–60.
- FREI, M.; CSENCICS, D.; BRODBECK, S.; SCHWEIZER, E.; BÜHLER, C.; GUGERLI, F.; BOLLIGER, J., 2016: Combining landscape genetics, radio-tracking and long-term monitoring to derive management implications for Natterjack toads (*Epidalea calamita*) in agricultural landscapes. J. Nat. Conserv. 32: 22–34.
- GUGERLI, F.; VAUPEL, A.; ELLENBROEK, T.; NAGEL, D.; MULLER, R.; LUQMAN, H.; BRODBECK, S.; BOLLIGER, J., 2017: Amphibien und Autobahnen: eine Trennungsgeschichte? N&L Inside 2017/2: 26–30.
- GUGERLI, F.; BALKENHOL, N.; BOLLIGER, J., 2016: Genfluss und Landschaftszerschnei-

- dung. In: HOLDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G. (ed.) Naturschutzgenetik – Ein Handbuch für die Praxis. Bern, Haupt. 107–128.
- HEPENSTRICK, D.; THIEL, D.; HOLDEREGGER, R., GUGERLI, F., 2012: Genetic discontinuities in roe deer (*Capreolus capreolus*) coincide with fenced transportation infrastructure. *Basic Appl. Ecol.* 13: 631–638.
- HOLDEREGGER, R., 2017: Genetik im Naturschutz: Eine Übersicht. *WSL Ber.* 60: 7–13.
- LE LAY, G.; ANGELONE, S.; FLORY, C.; HOLDEREGGER, R.; BOLLIGER, J., 2015: Increasing pond density to maintain a patchy habitat network of the European tree frog (*Hyla arborea*). *J. Herpet.* 49: 217–221.
- KORMANN, U.; GUGERLI, F.; RAY, N.; EXCOFFIER, L.; BOLLMANN, K., 2012: Parsimony-based pedigree analysis and individual-based landscape genetics suggest topography to restrict dispersal and connectivity in the endangered capercaillie. *Biol. Conserv.* 152: 241–252.
- MILANESI, P.; HOLDEREGGER, R.; BOLLMANN, K.; GUGERLI, F.; ZELLWEGER, F., 2017: Three-dimensional habitat structure and landscape genetics: a step forward in estimating functional connectivity. *Ecology* 98: 393–402.
- PRUNIER, J.G.; KAUFMANN, B.; LÉNA, J.-P.; FENET, S.; POMPANON, F.; JOLY, P., 2014: A 40-year-old divided highway does not prevent gene flow in the alpine newt *Ichthyosaura alpestris*. *Conserv. Genet.* 15: 453–468.
- RELLSTAB, C.; FISCHER, M.C.; CSENCICS, D.; GUGERLI, F.; HOLDEREGGER, R., 2017: Bedeutung der lokalen Anpassung in der Naturschutzgenetik. *WSL Ber.* 60: 31–37.
- SCHWEIZER E. 2014: Raumnutzung der Kreuzkröte (*Bufo calamita*) im Ackerbaugesamt. Unveröffentl. BSc-Arbeit Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Wädenswil.
- VAN BUSKIRK, J., 2012: Permeability of the landscape matrix between amphibian breeding sites. *Ecol. Evol.* 2: 3160–3167.
- ZELLWEGER, F.; BOLLMANN, K. 2017: Der Schweizer Wald und seine Biodiversität: LiDAR ermöglicht neue Waldstrukturanalysen. *Schweiz. Z. Forstwes.* 168: 142–150.

## Abstract

### Isolated or connected? Effects of landscape properties on gene flow

The preservation or establishment of functional connectivity is a key goal of conservation management. Yet, spatially often rather confined habitat may not warrant dispersal and gene flow of individuals to allow for the intended long-term resilience and persistence of populations in human-dominated landscapes. Gene flow, as inferred from the relationships between individuals and populations, is a valuable measure to assess functional connectivity.

The power of gene flow to identify the effects of anthropogenic and natural landscape elements as barriers or corridors, so-called landscape genetics, is illustrated using various examples. Traffic infrastructure revealed surprisingly low effects on gene flow in amphibians. Large population sizes and possibly occasional successful highway crossing may counteract the barrier effects of highly frequented roads, expected to result in genetic differentiation as a consequence of random genetic drift. In turn, fragmentation effects were observed in roe deer due to fenced traffic infrastructure. The study of a potential barrier effect of natural landscape elements, such as a densely populated valley, unexpectedly identified movement of capercaillie between populations. Although the small local populations appeared fragmented, no lack of gene flow was observed.

These examples show that landscape genetics may contribute to important aspects of nature conservation to identify magnitude and direction of exchange between individuals or populations and to assess barrier or corridor effects of landscape elements. Hence, this approach may be applied in the evaluation of needs assessment and implementation success.

**Keywords:** conservation genetics, barcoding, connectivity, inbreeding, genetic monitoring, adaptability, conservation management





# Bedeutung der lokalen Anpassung in der Naturschutzgenetik

Christian Rellstab<sup>1</sup>, Martin C. Fischer<sup>2</sup>, Daniela Csencsics<sup>1</sup>, Felix Gugerli<sup>1</sup> und Rolf Holderegger<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Eidg. Forschungsanstalt WSL, Zürcherstrasse 111, CH-8903 Birmensdorf.

<sup>2</sup> ETH Zürich, Institut für Integrative Biologie, Universitätstrasse 16, CH-8092 Zürich.

christian.rellstab@wsl.ch, martin.fischer@env.ethz.ch, daniela.csencsics@wsl.ch, felix.gugerli@wsl.ch, rolf.holderegger@wsl.ch

**Wie gut sind Populationen, die durch Klimawandel und Habitatverluste gefährdet sind, an ihre heutigen und zukünftigen Umweltbedingungen angepasst? Welche Quellpopulationen eignen sich am ehesten für Wiederansiedlungen, damit sich gut angepasste Populationen im Zielhabitat entwickeln können? Bisher gaben bestenfalls ökologische Kriterien Hinweise, um solche Fragen zu klären. Inzwischen können neue genetische Labormethoden das Erbgut zu einem grossen Teil oder vollständig charakterisieren. Dank dieser Methoden ist es heute möglich, die anpassungsrelevante genetische Vielfalt abzuschätzen und zu untersuchen, welche Umweltfaktoren und Gene bei der lokalen Anpassung eine Rolle spielen. Damit lässt sich aussagen, welche Individuen oder Populationen am Untersuchungs- oder Zielort potenziell am besten angepasst sind.**

## 1 Naturschutz und lokale Anpassung

Menschlich verursachte Prozesse wie der globale Klimawandel oder die intensive Landnutzung wirken sich auf viele Arten negativ aus. In der Schweiz steht zum Beispiel ein Drittel der Farne und Blütenpflanzen auf der Roten

Liste (CORDILLOT und KLAUS 2011), bei anderen Organismengruppen ist die Situation nicht besser. Lebensraumspezialisten sind besonders gefährdet, da sie beim Verlust ihres Lebensraums kaum Ausweichmöglichkeiten haben. Ein Beispiel dafür ist der Kleine Rohrkolben (*Typha minima*), eine konkurrenzschwache Pflanzenart, die sandige bis

schlickige Uferbereiche von Altwasern in Flussauen besiedelt (Abb. 1). Solche Lebensräume sind heute sehr selten, und daher kommt auch der früher verbreitete Kleine Rohrkolben nur noch an wenigen Orten in der Schweiz vor (CSENCICS und HOLDEREGER 2014). In Deutschland sind sämtliche früheren Vorkommen erloschen. Arten wie der Kleine Rohrkolben, deren isolierte Populationen kaum eine natürliche Wiederbesiedlung ermöglichen, werden gelegentlich künstlich angesiedelt – entweder da, wo sie früher vorkamen, oder an neuen, geeignet erscheinenden Orten (CSENCICS und MÜLLER 2015). Dabei ist das Ziel, die Anzahl der Populationen und damit der Individuen zu erhöhen und so das langfristige Überleben der Art zu sichern. Bei Pflanzen verwendet man für Wiederansiedlungen Samen oder Jung-

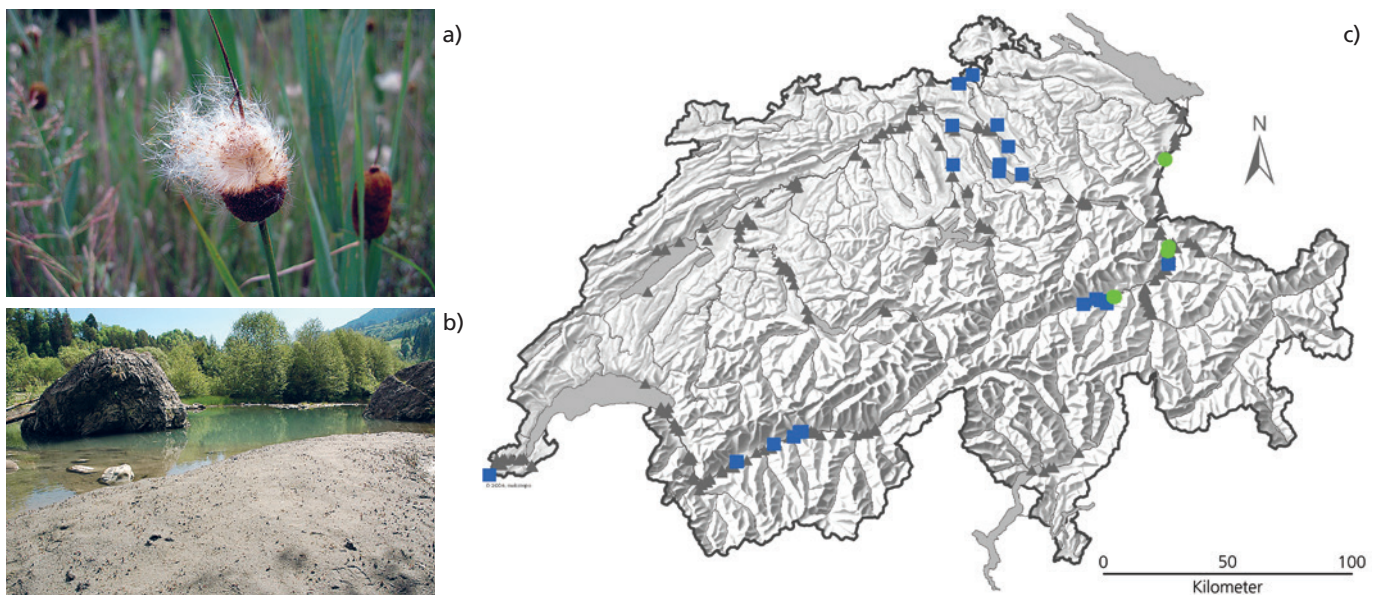


Abb. 1. Der Kleine Rohrkolben (*Typha minima*; a) benötigt zur Besiedlung sandige bis schlickige, bei Hochwasser neu geschaffene Rohböden in naturnahen Flussauen (b). Die Art ist in ihrem gesamten europäischen Verbreitungsgebiet gefährdet. In der Schweiz gibt es nur noch wenige natürliche Vorkommen (grüne Kreise; c), während sie früher an vielen grösseren Flüssen vorkam (graue Dreiecke). In verschiedenen Kantonen gibt es heute *Ex-situ*-Kulturen (Erhaltungskulturen) oder Wiederansiedlungen (blaue Quadrate; CSENCICS und HOLDEREGER 2014). Fotos: Daniela Csencsics.

pflanzen von natürlichen Populationen oder *Ex-situ*-Kulturen (Erhaltungskulturen). Doch welche Population(en) soll man als Spender (Quellpopulation) für Wiederansiedlungen verwenden?

Genetische Vielfalt ist wertvoll und schützenswert (z.B. PERTOLDI *et al.* 2007), weil sie es Arten erlaubt, sich an ihre Umwelt anzupassen: Die Arten sind dann anpassungsfähig (HOLDEREGGER 2017, in diesem Band). Daher erscheint es naheliegend, für Wiederansiedlungen Populationen mit grosser genetischer Vielfalt auszuwählen. Ist diese nicht bekannt, könnte man statt der genetischen Vielfalt die Populationsgrösse als Auswahlkriterium verwenden, da grosse Populationen häufig eine grössere genetische Vielfalt beherbergen als kleine Populationen (LEIMU *et al.* 2006). Eine andere Möglichkeit ist, eine geographisch möglichst nahe gelegene Population zu verwenden, weil nähere Populationen sich normalerweise genetisch ähnlicher sind als solche, die weit entfernt voneinander sind (HOCHKIRCH 2016).

Auswahlkriterien wie genetische Vielfalt, Populationsgrösse oder geographische Distanz vernachlässigen aber einen ganz wichtigen evolutionären Faktor: die Fitness. Die klassische Definition von Fitness ist die Anzahl fortpflanzungsfähiger Nachkommen. Sie kann jedoch auch durch andere Merkmale beschrieben werden, zum

Beispiel bei Pflanzen durch die Keimungsrate, das Überleben oder die Anzahl gebildeter Samen. Individuen, die unter bestimmten Umweltbedingungen eine höhere Fitness haben als andere, geben mehr von ihrem Erbgut (=Genom) an die nächste Generation weiter als solche mit geringerer Fitness. Durch diese natürliche Auslese (=Selektion) entstehen so über Generationen hinweg Populationen, die an die lokalen Umweltbedingungen angepasst sind. Individuen in diesen Populationen haben insgesamt eine höhere Fitness als Individuen, die aus einer anderen Population eingeführt werden (KAWECKI und EBERT 2004). Für das oben genannte Beispiel der Wiederansiedlung des Kleinen Rohrkolbens wäre es daher sinnvoll, die an den Ort der Wiederansiedlung am besten angepasste Quellpopulation zu verwenden. Allerdings muss man sich bewusst sein, dass es auch Populationen gibt, die nicht lokal angepasst sind. Dieser Fall kann insbesondere dann auftreten, wenn hoher Genfluss in einer Population viele nicht-angepasste Genvarianten einbringt (z.B. Quellen-Senken-Dynamik, BOLLIGER und GUGERLI 2017, in diesem Band), wenn die effektive Populationsgrösse (z.B. Anzahl fortpflanzungsfähiger Individuen) sehr klein ist oder wenn der Selektionsdruck nicht sehr stark ist.

Doch wie findet man heraus, welches die am besten angepasste Popu-

lation ist? Eine naheliegende Möglichkeit ist es, Populationen zu verwenden, die aus sehr ähnlichen Lebensräumen stammen. Denn wenn eine Population an ihre lokalen Verhältnisse angepasst ist, sollte dies auch für ähnliche Lebensräume der Fall sein. Eine andere Möglichkeit ist, die Fitness der Individuen von möglichen Quellpopulationen unter den Bedingungen zu messen, die am Zielort herrschen. Dafür sind Experimente geeignet, sei es im Versuchsgarten oder durch Verpflanzungsversuche. Für viele seltene und gefährdete Arten und die meisten Tierarten sind Experimente aber keine Option. Oft ist auch nicht klar, welche Merkmale für die Fitness gemessen werden sollen. Zudem sind solche Experimente äusserst aufwändig. So nimmt man zum Beispiel an, dass bei Bäumen während der Keimung und Etablierung der Jungbäume die natürliche Auslese am stärksten ist. Viele Bäume tragen aber erst nach Jahrzehnten Früchte, und diese Früchte repräsentieren am Schluss den Genpool, der an die nächste Generation weitergegeben wird. Bei so langen Generationszeiten sind Fitnessexperimente somit eher ungeeignet.

Genetische Labormethoden sind eine interessante Alternative zu den Experimenten. Die genetische Zusammensetzung jedes Individuums ist das Resultat von vielfältigen, über viele Generationen wirkenden Prozessen wie Mutati-

Tab. 1. Unterschiede zwischen neutraler und anpassungsrelevanter genetischer Vielfalt, mit zugrundeliegenden Prozessen, genetischen Methoden und möglichen Fragen. Für mehr Details, siehe auch WIDMER und HOLDEREGGER (2016) und HOLDEREGGER (in diesem Band).

	Neutrale genetische Vielfalt	Anpassungsrelevante genetische Vielfalt
<b>Definition</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Kein (direkter) Einfluss auf die Fitness</li> <li>– Im ganzen Erbgut zu finden</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Einfluss auf die Fitness</li> <li>– Nur im Bereich funktioneller Gene zu finden</li> </ul>
<b>Prozesse</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Mutationen</li> <li>– Ausbreitung</li> <li>– Zufällige Veränderung der Häufigkeit von Genvarianten (Drift)</li> <li>– Genfluss</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Natürliche Auslese (Selektion)</li> <li>– Lokale Anpassung</li> </ul>
<b>Genetische Methoden</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Mikrosatelliten</li> <li>– Bestimmung vieler Stellen der DNA (SNPs)</li> <li>– Sequenzierung des ganzen Erbguts</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Bestimmung vieler Stellen der DNA (SNPs)</li> <li>– Sequenzierung von Genen mit bekannten Funktionen</li> <li>– Sequenzierung des ganzen Erbguts</li> </ul>
<b>Typische Fragen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Wie gross ist die neutrale genetische Vielfalt?</li> <li>– Finden sich Hinweise auf Inzucht?</li> <li>– Wie sind Populationen untereinander vernetzt?</li> <li>– Wie gross ist die Populationsgrösse?</li> <li>– Wie hat sich die Populationsgrösse über die Zeit verändert?</li> <li>– Wie hoch ist der Anteil von Klonen in einer Population?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Wie gross ist die anpassungsrelevante genetische Vielfalt?</li> <li>– Welche Stellen im Erbgut sind an der lokalen Anpassung beteiligt?</li> <li>– Welche Umweltfaktoren sind für lokale Anpassung wichtig?</li> <li>– Welche Individuen/Populationen sind am besten angepasst?</li> </ul>

onen, zufällige Veränderung der Allel-Häufigkeiten (Drift), Genfluss oder natürliche Auslese (Tab. 1). Genvarianten (=Allele), die unter bestimmten Umweltbedingungen die Fitness erhöhen, werden unter diesen Umweltbedingungen über Generationen hinweg durch die natürliche Auslese häufiger als andere. Ohne die Fitness zu bestimmen oder aufwändige Verpflanzungsexperimente durchzuführen, kann man daher mit genetischen Labormethoden die Spuren finden, welche die natürliche Auslese im Erbgut hinterlassen hat, und so lokale Anpassung erfassen und messen. Diesen Spuren kann man mit verschiedenen Methoden auf den Grund gehen (Kap. 3). Der vorliegende Artikel befasst sich insbesondere mit dieser genetischen Basis der lokalen Anpassung, wie sie in Labors untersucht werden kann.

## 2 Anpassungsrelevante genetische Vielfalt und Genomik

Grundsätzlich muss man zwischen sogenannter neutraler und anpassungsrelevanter (=adaptiver) genetischer Vielfalt unterscheiden (Tab. 1). Die neutrale genetische Vielfalt wird beeinflusst durch Prozesse wie Ausbreitung, Genfluss zwischen Populationen oder zufällige Veränderung der Häufigkeit von

Genvarianten. Sie wirkt sich auf das ganze Erbgut aus, beeinflusst die Fitness eines Individuums aber nicht direkt. Ein bekanntes Beispiel dafür sind Blutgruppen bei Menschen. Die Blutgruppe ist zwar genetisch bestimmt, aber unterliegt (mit Ausnahmen) nicht der natürlichen Auslese, da sie normalerweise die Fitness des Menschen nicht beeinflusst. Trotzdem liefert die neutrale genetische Vielfalt wichtige Informationen, zum Beispiel für die Bestimmung von Verwandtschaften oder über den Genfluss zwischen Populationen (HOLDEREGGER 2017, in diesem Band). Die anpassungsrelevante genetische Variation hingegen hat einen direkten Einfluss auf die Fitness der Individuen. Sie ist geprägt durch die natürliche Auslese jener Individuen, die gut an ihren lokalen Lebensraum angepasst sind. Dieser Prozess wirkt nur auf einen Teil des Erbguts.

Naturschutzgenetische Studien basierten bis vor kurzem hauptsächlich auf neutraler genetischer Vielfalt, beschrieben durch eine beschränkte Anzahl Stellen im Erbgut, z.B. wenige Mikrosatelliten. Dieser Ansatz hat neben vielen Vorteilen – er ist insbesondere gut etabliert und lässt sich einfach anwenden – auch gewichtige Nachteile: Einerseits lassen sich dadurch populationsgenetische Merkmale wie neutrale genetische Vielfalt, Genfluss oder Inzucht nur ungenau beschreiben (z.B. FISCHER *et al.* 2017; VÄLI *et al.* 2008),

da eben nicht das ganze Erbgut, sondern nur wenige Ausschnitte davon untersucht werden. Das könnte zu falschen Schlussfolgerungen und falschen daraus abgeleiteten Massnahmen führen (Abb. 2). Andererseits sagt diese neutrale genetische Vielfalt eben nichts über anpassungsrelevante genetische Vielfalt aus: Anpassung erfolgt ja an funktionellen Genen, die nicht neutral sind. Diese anpassungsrelevanten Stellen im Erbgut kann man nur finden, wenn man grosse Teile oder das ganze Erbgut von mehreren Individuen und Populationen untersucht (=Genomik). Der vorliegende Artikel beschreibt zwar nicht hauptsächlich die Rolle der Genomik, sondern die der lokalen Anpassung im Naturschutz. Da aber die Untersuchung der lokalen Anpassung oft durch genomische Methoden erfolgt, sind die beiden Themen eng miteinander verbunden.

Durch die riesigen Fortschritte der genetischen Labormethoden im letzten Jahrzehnt sind genomische Analysen häufig geworden. Mit den modernen Methoden können Tausende bis Millionen von Stellen (sogenannte SNPs – single-nucleotide polymorphisms) im Erbgut charakterisiert werden. Daher wurde in letzter Zeit zunehmend gefordert, genomische Methoden auch in der Naturschutzgenetik anzuwenden, um sowohl neutrale wie auch anpassungsrelevante genetische Vielfalt so genau wie möglich zu beschreiben (AL-

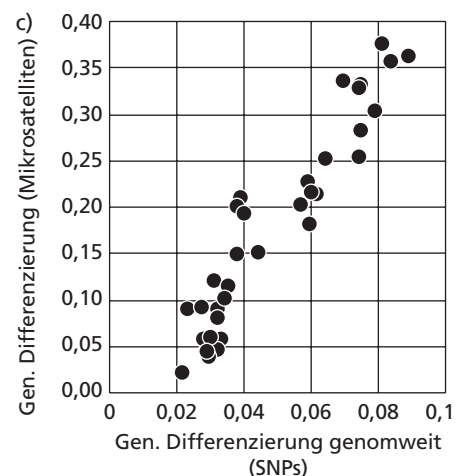
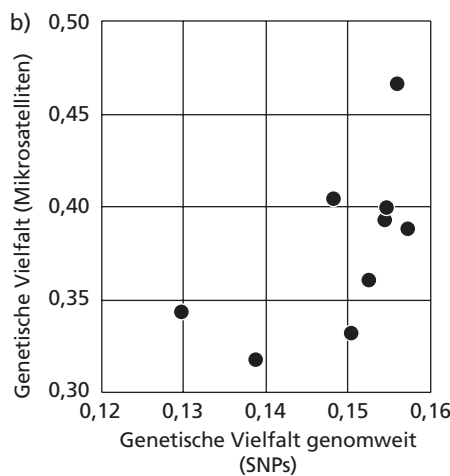


Abb. 2. Unabhängig davon, ob man neutrale oder anpassungsrelevante genetische Vielfalt untersucht, verschiedene genetische Untersuchungsmethoden werden unterschiedliche Resultate und Schlussfolgerungen nach sich ziehen. Bei der Hallerschen Schaumkresse (*Arabidopsis halleri*; a) entspricht die genetische Vielfalt (erwartete Heterozygotie,  $H_e$ ), die mit 19 Mikrosatelliten geschätzt wurde, nicht jener, die über das ganze Erbgut hinweg mit >2 Millionen SNPs bestimmt wurde (b). Die Werte der genetischen Verschiedenheit der Populationen (genetische Differenzierung,  $F_{ST}$ ) basierend auf Mikrosatelliten und SNPs passen hingegen gut zueinander, sind aber bei Mikrosatelliten fast viermal so hoch wie bei SNPs (c). Daten vereinfacht aus FISCHER *et al.* (2017). Foto: Martin C. Fischer.

LENDORF *et al.* 2010; McMAHON *et al.* 2014). Auf der anderen Seite gibt es auch Kritik an der Genomik im Naturschutz, weil es eine Kluft zwischen Wissenschaft und Praxis in Bezug auf Wissen, Technik, Computerprogramme und Finanzen gäbe (SHAFER *et al.* 2015). Tatsächlich sind zum Beispiel in einer genomischen Untersuchung durch die enorm grossen Mengen an Daten die benötigten computer-technischen Ressourcen hoch. Es gibt aber schon einige Fälle, in denen die Naturschutzgenetik Genomik verwendet hat (aufgelistet in GARNER *et al.* 2016), zum Beispiel beim Nachweis von genetischer Durchmischung von wilden atlantischen Lachsen mit Lachsen aus Fischzuchten (GLOVER *et al.* 2013).

Der Schritt zur Genomik bringt der Naturschutzgenetik somit verbesserte naturschutzgenetische Analysen durch eine höhere Auflösung und Erfassung von anpassungsrelevanter genetischer Vielfalt. Daher ist es wichtig, zukünftig bei naturschutzgenetischen Untersuchungen vermehrt auf genomische Ansätze zu setzen (vgl. auch BIEBACH und KELLER 2017, in diesem Band).

### 3 Wie kann man die lokale Anpassung genetisch untersuchen?

Um die anpassungsrelevante genetische Variation zu untersuchen, müssen zuerst die Stellen im Erbgut gefunden werden, die bei der Anpassung eine Rolle spielen. Dazu untersucht man nach Möglichkeit 20 oder mehr Individuen von mehreren Populationen. Nach relativ umfassenden genomischen Labor- und Computeranalysen erhält man eine Liste von Tausenden bis Millionen von Stellen (SNPs) im Erbgut, die Unterschiede in der DNA-Sequenz zwischen Individuen aufweisen. Der überwiegende Teil dieser SNPs ist neutral, aber einige spielen für die lokale Anpassung eine Rolle (FISCHER *et al.* 2013). Diese müssen nun mit statistischen Verfahren identifiziert werden.

Es gibt verschiedene statistische Ansätze, um anpassungsrelevante Stellen im Erbgut zu finden (zusammengefasst in RELLSTAB *et al.* 2016a; WIDMER und HOLDEREGGER 2016). Im Naturschutz

sind es vorwiegend zwei Methoden, die in Frage kommen: Bei Ausreisser-Tests («outlier tests»; zusammengefasst in HOHENLOHE *et al.* 2010) wird nach Stellen im Erbgut gesucht, die zwischen Populationen extrem verschieden sind (hohe genetische Differenzierung,  $F_{ST}$ ) im Vergleich zum Erbgut-weiten, neutralen Durchschnitt. Die Idee dahinter ist, dass Genvarianten, die unter gewissen Umweltbedingungen von Vorteil sind, in den dortigen Populationen häufig sind. Die anderen Genvarianten hingegen sind dort eher selten oder kommen gar nicht vor. Solche Stellen gelten als anpassungsrelevant und werden in einem nächsten Schritt mit den lokalen Umweltbedingungen und/oder der biologischen Funktion des betreffenden Gens in Bezug gesetzt. Bei der zweiten Methode, der Analyse von Umweltassoziationen (zusammengefasst in RELLSTAB *et al.* 2015), sucht man nach Stellen im Erbgut, an denen die Häufigkeiten von Genvarianten mit Umweltfaktoren zusammenhängen (Abb. 3a). Auch hier wird angenommen, dass gewisse Genvarianten bei bestimmten Standortbedingungen von Vorteil sind und daher dort häufiger vorkommen. Umweltassoziationen geben zusätzlich einen direkten Hinweis darauf, welcher Umweltfaktor für die Anpassung verantwortlich sein könnte. Idealerweise erfolgen danach wie bei den Ausreisser-Tests weitere Abklärungen, zum Beispiel die Überprüfung der funktionellen Rolle der als anpassungsrelevant identifizierten Gene mit Hilfe von Referenzdatenbanken.

Für Ausreisser-Tests und Umweltassoziationsanalysen gibt es mehrere wichtige Grundregeln. Erstens sollten die Untersuchungen einen so grossen Anteil des Erbguts wie möglich beinhalten. Nur dann kann man davon ausgehen, dass die wichtigen Anpassungsprozesse nicht verpasst werden. Ausserdem werden zahlreiche Merkmale, so auch die Fitness, von einer Vielzahl von Genen gesteuert. So wurde gezeigt, dass die Körpergrösse von Europäerinnen und Europäern mit über tausend Stellen im Erbgut zusammenhängt (z.B. TURCHIN *et al.* 2012). Zweitens ist es wichtig, dass man immer mehrere Populationen aufs Mal betrachtet, und es sollten sowohl die genetische Vielfalt als auch die Vielfalt an Lebensräumen, in denen die Art auftritt,

einigermassen abgedeckt sein. Drei bis fünf Populationen sind dabei das Minimum. Verpasst man es etwa, Populationen an sehr kalten oder sehr warmen Standorten in die Analyse miteinzubeziehen, wird man kaum die Stellen im Erbgut finden, die bei der Anpassung an die Temperatur eine wichtige Rolle spielen. Die Probenahme muss also mit grosser Sorgfalt geplant werden.

### 4 Wie kann man die Untersuchung der lokalen Anpassung in die Naturschutzgenetik integrieren?

Wenn anpassungsrelevante Stellen im Erbgut einmal bestimmt sind, lässt sich die anpassungsrelevante genetische Vielfalt von Populationen berechnen. So kann man zwischen Populationen vergleichen oder die Genvarianten identifizieren, die unter bestimmten Umweltbedingungen vorteilhaft sind. Für eine Wiederansiedlung – denken wir dabei wieder an den anfangs erwähnten Kleinen Rohrkolben – gibt es grundsätzlich zwei Möglichkeiten, wie man die Quellpopulation auswählen kann: Entweder man verwendet eine Population, die eine möglichst grosse anpassungsrelevante genetische Vielfalt (=Anpassungsfähigkeit, HOLDEREGGER in diesem Band) hat oder eine Population, die einen möglichst hohen Anteil der im Zielhabitat vorteilhaften Genvarianten aufweist (RELLSTAB *et al.* 2016b). Bei der ersten Variante ermöglicht man der neuen Population, möglichst breit abgestützt mit den heutigen und zukünftigen Umweltbedingungen zurechtzukommen. Möglicherweise bringt man aber unangepasste Genvarianten in die Population ein. Beim zweiten Ansatz geht man viel gezielter vor. Da aber die Fitnessrelevanz von Genvarianten oft noch nicht bewiesen ist, nimmt man ein gewisses Risiko in Kauf, dass man sich auf falsche Stellen im Erbgut stützt. Daher ist auch eine Kombination der oben genannten Ansätze attraktiv, also sowohl vielfältige wie auch angepasste Populationen auszuwählen. Zusätzlich könnten natürlich auch nicht-genetische Aspekte wie ähnliche ökologische Bedingungen und ähnliche äussere Merkmale berücksichtigt werden, um die Auswahl der

Quellpopulationen auf möglichst viele Pfeiler abzustützen.

Ein interessanter Ansatz, wie man Populationen für Wiederansiedlungen auswählen kann, kommt nicht von ungefähr aus dem Waldbereich. Die Kombination von langer Generationszeit und schnell voranschreitendem Klimawandel kann bei Waldbäumen zu einem hohen Grad von Fehlanpassung führen (AITKEN *et al.* 2008). Daher beschäftigt sich die Waldwirtschaft schon seit längerem mit der Idee, bei Pflanzungen standortfremdes, aber als angepasst eingeschätztes Saatgut zu verwenden. Die Auswahl solcher Quellbestände für Pflanzungen ist daher mit der Wahl einer Quellpopulation für die Wiederansiedlung einer gefährdeten Art zu vergleichen. Dieses Konzept der künstlichen Wanderung von Genen einer Art wird unter dem Begriff «assisted gene flow» zusammengefasst (AITKEN und BEMMELS 2016). Für solche Pflanzungen wird Saatgut aus Regionen verwendet, die heute das Klima haben, das zukünftig für den Zielstandort unter Klimawandel vorausgesagt wird. So könnte man z.B. Saatgut aus dem Tessin in der Nordschweiz ausbringen, damit die Jungpflanzen für die zukünftig höheren Temperaturen gewappnet sind. Hat man nun genomische Information zur Hand, trifft man die Auswahl solcher Quellpopulationen nicht nur basierend auf den Umweltbedingungen, sondern bezieht auch Kenntnisse über die anpassungsrelevante genetische Vielfalt ein. Man

kann also die Genvarianten, die am zukünftigen Standort einen Vorteil bringen, mittels Umweltassoziationen identifizieren (siehe oben) und dann Samen von Populationen verwenden, die diese Genvarianten enthalten.

Mit genomischer Information (aber auch mit fitnessrelevanten äusseren Merkmalen, siehe unten) lässt sich auch das Risiko der Fehlanpassung einer Population an ihre zukünftigen Umweltbedingungen unter Klimawandel berechnen (RELLSTAB *et al.* 2016b). Dabei misst man das Vorkommen und die Häufigkeit von anpassungsrelevanten Genvarianten in Populationen entlang eines Umweltgradienten und erstellt ein statistisches Modell, das deren Beziehung beschreibt. Anschliessend berechnet man, wie weit entfernt sich die Population vom zukünftigen Optimum befindet (Abb. 3b). Die genetische Distanz von der heutigen zur zukünftigen Situation stellt dann das Risiko der Fehlanpassung dar. Je kleiner die Distanz, desto kleiner die Fehlanpassung und desto grösser die bereits bestehende Anpassung an zukünftige Umweltbedingungen. Dieses Konzept beschreibt also das Risiko der Fehlanpassung am heutigen Standort in Bezug auf die zukünftig erwarteten Umweltbedingungen. Mit diesem Konzept lässt sich nicht nur das Risiko der Fehlanpassung einer Population an ihren zukünftigen Lebensraum abschätzen, sondern auch das Risiko der Fehlanpassung an einen anderen Lebensraum (GUGERLI *et al.* 2016;

ST. CLAIR und HOWE 2007). Hier wird es für den Naturschutz interessant. Wenn wir eine oder mehrere Populationen für eine Wiederansiedlung auswählen müssen, können wir mit diesem Konzept abschätzen, welche Population am zu besiedelnden Standort das kleinste Risiko von Fehlanpassung hat (Abb. 3c). Das Konzept des Risikos der Fehlanpassung wird also hier nicht im zeitlichen, sondern im räumlichen Sinne angewandt.

ST. CLAIR und HOWE (2007) berechneten das Risiko der Fehlanpassung des Nadelbaums Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*) an zukünftige klimatische Bedingungen anhand von verschiedenen äusseren, fitnessrelevanten Merkmalen – also nicht anhand von Stellen im Erbgut. Gewisse Populationen wiesen ein sehr grosses Risiko der Fehlanpassung unter dem Klimawandel auf und sollten daher mit Genotypen aus südlicheren und tieferen Lagen ergänzt werden. In ähnlicher Weise zeigten FRANK *et al.* (2017), dass die Fichte (*Picea abies*) und die Buche (*Fagus sylvatica*) in der Schweiz eher schlecht an die zukünftigen Bedingungen angepasst sind. Im Gegensatz dazu dürfte die Weisstanne (*Abies alba*) weniger Probleme haben. Mit genomischen Daten untersuchten Rellstab *et al.* (2016b) das Risiko der Fehlanpassung der drei häufigsten Eichenarten der Schweiz im Hinblick auf den Klimawandel. Die Stieleiche (*Quercus robur*) war zwar im Vergleich zur Traubeneiche (*Q. petraea*) und Flaumeiche (*Q. pubescens*) poten-

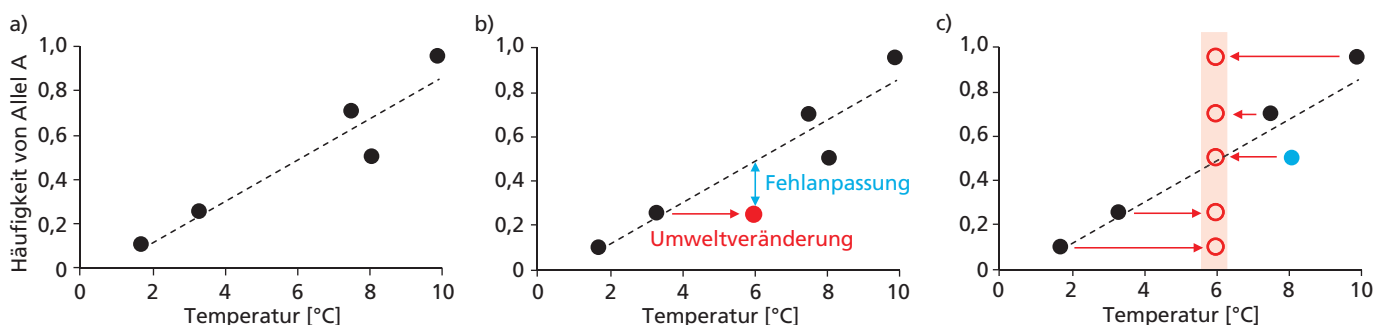


Abb. 3. a) Bei Umweltassoziationen werden Stellen im Erbgut gesucht, deren Genvarianten (Allel)-Häufigkeiten (hier die relative Häufigkeit der Genvariante A) in verschiedenen Populationen mit einem Umweltfaktor (hier Temperatur) zusammenhängen. b) Berechnung des Risikos der Fehlanpassung an zukünftige Umweltbedingungen nach RELLSTAB *et al.* (2016b). Dargestellt ist die relative Häufigkeit einer Genvariante (Allel A) in verschiedenen Populationen (schwarze Punkte) entlang eines Temperaturgradienten. Verändern sich in Zukunft die Temperaturverhältnisse in einer Population (roter Pfeil und Punkt), stellt die Länge des blauen Pfeils (Distanz zum berechneten Modell, gestrichelte Linie) die genetische Fehlanpassung dar. c) Dieses Konzept kann auch im räumlichen Sinn für eine Wiederansiedlung im Naturschutz verwendet werden. Der rote Bereich zeigt die Umweltbedingung am Zielort an, die schwarzen Punkte die möglichen Quellpopulationen, die in Betracht gezogen werden. Die Population (blau), die nach der Verschiebung entlang der X-Achse (Wiederansiedlung, rote Punkte) am nächsten bei der gestrichelten Linie liegt, hat das kleinste Risiko der Fehlanpassung am Zielort.

ziell am besten an die steigenden Temperaturen angepasst, aber am schlechtesten an die abnehmende Wasserverfügbarkeit. Dieses Resultat deckt sich mit den ökologischen Bedürfnissen der drei Eichenarten: Die Stieleiche ist vor allem in warmen (da tief gelegen) und feuchten Lagen im Mittelland zu finden und potenziell am besten an die steigenden Temperaturen und am schlechtesten an die zunehmende Bodentrockenheit angepasst. Trauben- und Flaumeiche findet man hingegen in trockeneren Lebensräumen und scheinen am besten für die zunehmende Trockenheit gewappnet zu sein.

## 5 Monitoring der anpassungsrelevanten genetischen Vielfalt

Die lokale Anpassung als einer der wichtigsten Prozesse der Evolution spielt also bei Umweltveränderungen – ob vom Menschen verursacht oder nicht – eine grosse Rolle. Naturschutzrelevante Arten wie der Kleine Rohrkolben bestehen oft aus kleinen und isolierten Populationen. Gerade bei ihnen ist es wichtig abzuschätzen, ob sich eine Art oder eine Population anpassen kann oder ob Eingriffe durch das Naturschutzmanagement nötig sind. Trotzdem hat die Naturschutzgenetik diesen wichtigen Aspekt bislang vernachlässigt und sich mehrheitlich auf Untersuchungen der neutralen genetischen Vielfalt konzentriert (GARNER *et al.* 2016; SHAFER *et al.* 2015). Dank neuen Labormethoden, gekoppelt mit sinkenden Kosten, verändert sich aber diese Situation. Genomische Analysen sind heute für viele Arten machbar. Es ist an der Zeit, dass diese Möglichkeiten auch in der Naturschutzpraxis genutzt werden.

Obwohl wir in diesem Artikel eine Wiederansiedlung als Beispiel genommen haben, lässt sich die Information über anpassungsrelevante genetische Vielfalt auch für andere Ansätze im Naturschutz verwenden. So kann man damit zum Beispiel die anpassungsrelevante Vielfalt von Populationen und Arten generell einschätzen oder zu schützende Populationen priorisieren oder bestimmen («conservation units»). Genomische Daten können ausserdem – wie oben gezeigt – helfen, die für den

Naturschutz relevanten Masse wie Inzucht, Populationsgrösse oder Anzahl Klone genauer zu bestimmen als mit den bisher verwendeten Methoden.

Ein Bereich, wo anpassungsrelevante genetische Vielfalt und damit genomische Daten besonders wichtig wären, ist das genetische Monitoring. Dort wird verfolgt, wie genetische Vielfalt von Arten und Populationen sich in der Zeit verändert (HOLDEREGGER 2017, in diesem Band). Ein wichtiger Schritt hierzu wäre es, die anpassungsrelevante genetische Vielfalt von ausgewählten, für den Naturschutz bedeutsamen Arten zu integrieren. Damit könnten auch die Forderungen der Biodiversitätsstrategie der Schweiz betreffend dem Monitoring der genetischen Vielfalt als der grundlegenden Komponente der Biodiversität erfüllt werden (Schweizerische Eidgenossenschaft 2012).

### Dank

Wir bedanken uns für die finanzielle Unterstützung der hier vorgestellten Forschungsarbeiten durch den Schweizerischen Nationalfonds (SNF), das Bundesamt für Umwelt (BAFU) und das von der WSL und dem BAFU unterstützte Forschungsprogramm Wald und Klimawandel. Das Verfassen des Artikels wurde durch die SNF-Projekte 31003A\_152664/1 (CR, FG) und CRSI33\_127155 (MCF), das Adaptation to a Changing Environment (ACE) Center der ETH Zürich (MCF) sowie das KTI-Projekt 19204.1 PFLSLS (DC, RH) ermöglicht.

## 6 Literatur

AITKEN, S.N.; BEMMELS, J.B., 2016: Time to get moving: assisted gene flow of forest trees. *Evol. Appl.* 9, 1: 271–290.

AITKEN, S.N.; YEAMAN, S.; HOLLIDAY, J.A.; WANG, T.L.; CURTIS-MCLANE, S., 2008: Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evol. Appl.* 1, 1: 95–111.

ALLENDORE, F.W.; HOHENLOHE, P.A.; LUIKART, G., 2010: Genomics and the future of conservation genetics. *Nat. Rev. Genet.*, 11, 10: 697–709.

BIEBACH, I.; KELLER, L., 2017: Inzucht und ihre Bedeutung für den Naturschutz.

WSL Ber. 60: 15–22.

BOLLIGER, J.; GUGERLI, F., 2017: Isoliert oder vernetzt? Auswirkungen der Landschaft auf den Genfluss. *WSL Ber.* 60: 23–29.

CORDILLOT, F.; KLAUS, G., 2011: Gefährdete Arten in der Schweiz: Synthese Rote Listen, Stand 2010. *Umweltzustand Nr. 1120*. Bundesamt für Umwelt, BAFU.

CSENCICS, D.; HOLDEREGGER, R., 2014: Kleiner Rohrkolben – Genetische Grundlagen für erfolgreiche Wiederansiedlungen. *N+L inside* 4, 14: 21–25.

CSENCICS, D.; MÜLLER, N., 2015: Die Bedeutung der genetischen Vielfalt bei Wiederansiedlungsprojekten – Untersuchungen am Zwerg-Rohrkolben (*Typha minima*) im Naturpark Tiroler Lech. *AN-liegen Nat.* 37, 2: 67–76.

FISCHER, M.C.; RELLSTAB, C.; TEDDER, A.; ZOLLER, S.; GUGERLI, F.; SHIMIZU, K.K.; HOLDEREGGER, R.; WIDMER, A., 2013: Population genomic footprints of selection and associations with climate in natural populations of *Arabidopsis halleri* from the Alps. *Mol. Ecol.*, 22, 22: 5594–5607.

FISCHER, M.C.; RELLSTAB, C.; LEUZINGER, M.; ROUMET, M.; GUGERLI, F.; SHIMIZU, K.K.; HOLDEREGGER, R.; WIDMER, A., 2017: Estimating genomic diversity and population differentiation – an empirical comparison of microsatellite and SNP variation in *Arabidopsis halleri*. *BMC Genomics* 18, 1: 69.

FRANK, A.; HOWE, G.T.; SPERISEN, C.; BRANG, P.; ST. CLAIR, J.B.; SCHMATZ, D.R.; HEIRI, C., 2017: Risk of genetic maladaptation due to climate change in three major European tree species. *Glob. Chang. Biol.* doi: 10.1111/gcb.13802.

GARNER, B.A.; HAND, B.K.; AMISH, S.J.; BERNATCHEZ, L.; FOSTER, J.T.; MILLER, K.M.; MORIN, P.A.; NARUM, S.R.; O'BRIEN, S.J.; ROFFLER, G.; TEMPLIN, W.D.; SUNNUCKS, P.; STRAIT, J.; WARHEIT, K.I.; SEAMONS, T.R.; WENBURG, J.; OLSEN, J.; LUIKART, G., 2016: Genomics in conservation: case studies and bridging the gap between data and application. *Trends Ecol. Evol.* 31, 2: 81–83.

GLOVER, K.A.; PERTOLDI, C.; BESNIER, F.; WENNEVIK, V.; KENT, M.; SKAALA, O., 2013: Atlantic salmon populations invaded by farmed escapees: quantifying genetic introgression with a Bayesian approach and SNPs. *BMC Genetics* 14: 19.

GUGERLI, F.; FRANK, A.; RELLSTAB, C.; PLU-ESS, A.R.; MOSER, B.; AREND, M.; SPERISEN, C.; WOHLGEMUTH, T.; HEIRI, C., 2016: Genetische Variation und lokale Anpassung bei Waldbaumarten im Zeichen des

- Klimawandels. In: PLUESS, A.R.; AUGUSTIN, S.; BRANG P. (Red.) Wald im Klimawandel. Grundlagen für Adaptationsstrategien. Bundesamt für Umwelt BAFU, Bern; Eidg. Forschungsanstalt WSL, Birmensdorf; Bern, Haupt. 93–113.
- HOCHKIRCH, A., 2016: Geografische Strukturen. In: HOLDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G. (Red.) Naturschutzgenetik: Ein Handbuch für die Praxis. Bern, Haupt. 89–106.
- HOHENLOHE, P.A.; PHILLIPS, P.C.; CRESKO, W.A., 2010: Using population genomics to detect selection in natural populations: key concepts and methodological considerations. *Int. J. Plant Sci.* 171, 9: 1059–1071.
- HOLDEREGGER, R., 2017: Genetik im Naturschutz: Eine Übersicht. *WSL Ber.* 60: 7–13.
- KAWECKI, T.J.; EBERT, D., 2004: Conceptual issues in local adaptation. *Ecol. Lett.* 7, 12: 1225–1241.
- LEIMU, R.; MUTIKAINEN, P.; KORICHEVA, J.; FISCHER, M., 2006: How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *J. Ecol.* 94, 5: 942–952.
- McMAHON, B.J.; TEELING, E.C.; HÖGLUND, J., 2014: How and why should we implement genomics into conservation? *Evol. Appl.* 7, 9: 999–1007.
- PERTOLDI, C.; BIJLSMA, R.; LOESCHKE, V., 2007: Conservation genetics in a globally changing environment: present problems, paradoxes and future challenges. *Biodivers. Conserv.* 16, 14: 4147–4163.
- RELLSTAB, C.; GUGERLI, F.; ECKERT, A.; HANCOCK, A.; HOLDEREGGER, R., 2015: A practical guide to environmental association analysis in landscape genomics. *Mol. Ecol.*, 24, 17: 4348–4370.
- RELLSTAB, C.; PLUESS, A.R.; GUGERLI, F., 2016a: Lokale Anpassung bei Waldbaumarten: genetische Prozesse und Bedeutung im Klimawandel. *Schweiz. Z. Forstwes.* 167, 6: 333–340.
- RELLSTAB, C.; ZOLLER, S.; WALTHERT, L.; BODÉNÈS, C.; LESUR, I.; PLUESS, A.; SPERISEN, C.; KREMER, A.; GUGERLI, F., 2016b: Signatures of local adaptation in candidate genes of oaks (*Quercus* spp.) with respect to present and future climatic conditions. *Mol. Ecol.* 25, 23: 5907–5924.
- Schweizerische Eidgenossenschaft, 2012: Strategie Biodiversität Schweiz. BAFU, Bern.
- SHAFER, A.B.A.; WOLF, J.B.W.; ALVES, P.C.; BERGSTRÖM, L.; BRUFORD, M.W.; BRÄNNSTRÖM, I.; COLLING, G.; DALÉN, L.; DE MEESTER, L.; EKBLÖM, R.; FAWCETT, K.D.; FIOR, S.; HAJIBABAEI, M.; HILL, J.A.; HOEZEL, A.R.; HÖGLUND, J.; JENSEN, E.L.; KRAUSE, J.; KRISTENSEN, T.N.; KRÜTZEN, M.; MCKAY, J.K.; NORMAN, A.J.; OGDEN, R.; ÖSTERLING, E.M.; OUBORG, N.J.; PICCOLO, J.; POPOVIC, D.; PRIMMER, C.R.; REED, F.A.; ROUMET, M.; SALMONA, J.; SCHENKAR, T.; SCHWARTZ, M.K.; SEGELBACHER, G.; SENN, H.; THAULOW, J.; VALTONEN, M.; VEALE, A.; VERGEER, P.; VIJAY, N.; VILÀ, C.; WEISSENSTEINER, M.; WENNERSTRÖM, L.; WHEAT, C.W.; ZIELINSKI, P., 2015: Genomics and the challenging translation into conservation practice. *Trends Ecol. Evol.* 30, 2: 78–87.
- ST. CLAIR, J.B.; HOWE, G.T., 2007: Genetic maladaptation of coastal Douglas-fir seedlings to future climates. *Glob. Chang. Biol.* 13, 7: 1441–1454.
- TURCHIN, M.C.; CHIANG, C.W.K.; PALMER, C.D.; SANKARARAMAN, S.; REICH, D.; HIRSCHHORN, J.N.; ANTHROPOMETRIC, G.I., 2012: Evidence of widespread selection on standing variation in Europe at height-associated SNPs. *Nat. Genet.* 44, 9: 1015–1019.
- VÄLI, U.; EINARSSON, A.; WAITS, L.; ELLEGREN, H., 2008: To what extent do microsatellite markers reflect genome-wide genetic diversity in natural populations? *Mol. Ecol.* 17, 17: 3808–3817.
- WIDMER, A.; HOLDEREGGER, R., 2016: Anpassung und Anpassungsfähigkeit. In: HOLDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G. (Red.) Naturschutzgenetik: Ein Handbuch für die Praxis. Bern, Haupt. 43–58.

## Abstract

### The relevance of local adaptation for conservation genetics

Natural selection results in populations that are adapted to their local environment. The field of conservation genetics has so far mainly looked at neutral genetic variation that is not directly linked to local adaptation. However, it would be reasonable to know which populations are best adapted when it comes to conservation measures like re-introductions or translocations. Modern genetic methods that can describe a large part of or even the whole genome (genomics) enable the estimation of adaptive genetic variation and the identification of environmental factors and genes that play a major role in local adaptation. As a result, one can determine which individuals and populations are potentially best adapted to the environment at the investigated locations. Here, we present possible applications for integrating genomic approaches in conservation strategies that should help mitigating potentially detrimental effects of management practice on small, vulnerable populations of rare species.

Keywords: adaptive genetic variation, conservation genomics, landscape genomics, local adaptation, natural selection, neutral genetic variation, next-generation sequencing, translocation.





# Der Boden – eine wertvolle Ressource für die genetische Vielfalt

Martin Hartmann und Christoph Sperisen

Eidg. Forschungsanstalt WSL, Zürcherstrasse 111, CH-8903 Birmensdorf  
martin.hartmann@wsl.ch, christoph.sperisen@wsl.ch

**Der Boden ist ein Schlüsselement der terrestrischen Ökosysteme. Er ist ein komplexes Netzwerk unzähliger Organismen, das wir noch immer kaum verstehen. Mikroorganismen in ihrer immensen Vielfalt – dazu gehören Bakterien, Archaeen und eukaryontische Kleinstlebewesen wie Pilze und Protisten – machen den grössten Teil dieser Biodiversität aus und bewerkstelligen praktisch alle wichtigen Stoff- und Energieflüsse. Diese Ressource gilt es zu erhalten, auch unter den starken menschenbedingten Einflüssen auf den Boden. Die Naturschutzgenetik untersucht die genetische Vielfalt innerhalb von Arten und Populationen sowie genetische und ökologische Prozesse. Damit möchte sie Massnahmen ableiten, um die genetische Vielfalt dauerhaft zu sichern. Da Mikroorganismen unscheinbar und schwierig zu beschreiben sind, wurden sie aus naturschutzgenetischer Sicht bisher kaum beachtet. Wir diskutieren, wie makroökologische Grundprinzipien der Naturschutzgenetik auch auf Mikroorganismen angewendet werden können. Damit lässt sich besser verstehen, wie ihre genetische Vielfalt entsteht und sich verändert – eine wichtige Voraussetzung, um diese funktionell äusserst wichtige genetische Ressource zu erhalten.**

## 1 Einleitung

Der Boden verbindet Grundgestein, Grundwasser und Atmosphäre. In dieser Rolle ist er ein Schlüsselement terrestrischer Ökosysteme und erfüllt vielfältige Ökosystemleistungen. Er ist eine zentrale Komponente für viele wichtige Stoff- und Energieflüsse, dient als Habitat und Substrat für unzählige Pflanzen, Tiere und Kleinstlebewesen und fungiert als Filter für Wasser. Ausserdem ist er ein wichtiger Kohlenstoffspeicher, wodurch er das globale Klima massgebend beeinflusst. Ohne Boden stände auch die Land- und Forstwirtschaft schlecht da: Rund 99 Prozent der globalen Nahrungsmittel werden auf terrestrischen Flächen gewonnen (JEFFERY *et al.* 2010). Der Boden ist aber auch Lagerstätte für Rohstoffe, Träger für Infrastrukturen und Archiv der Natur- und Kulturgeschichte.

Der Boden ist das Produkt unzähliger Zyklen von Ab-, Um- und Aufbau mineralischer und organischer Substanzen und ist damit eine sensible und endliche Ressource. Dies wird deutlich, wenn man bedenkt, dass es für den Aufbau einer 1 cm mächtigen Bodenschicht

etwa 100 Jahre braucht. Diese langsame Entstehung von Boden und seine zentrale Bedeutung für unseren Planeten verlangt nach einem schonenden Umgang mit dieser Ressource. Damit sich der Boden und seine Funktionen auch unter der intensiven anthropogenen Nutzung und den globalen klimatischen Veränderungen erhalten lassen, muss man ihn besser verstehen.

## 2 Der Boden als genetische Ressource

### 2.1 Das Bodenmikrobiom – Motor im Untergrund

Der Boden beherbergt eine immense Vielzahl von Lebewesen, wobei die meisten mikroskopisch klein sind und sich dadurch unserem blossen Auge entziehen. In der Tat stellen die Mikroorganismen – dazu gehören Bakterien, Archaeen und eukaryontische Kleinstlebewesen wie Pilze und Protisten – auf der Welt die diverseste Gruppe von Lebewesen dar. Die Gesamtheit der Mikroorganismen in einem jewei-

ligen Ökosystem wird oft als Mikrobiom bezeichnet. Da sie kaum sichtbar sind, finden Mikroorganismen jedoch oft nur wenig Beachtung. So können in nur einem Gramm Boden Milliarden Mikroorganismen leben – ähnlich viele wie es Menschen auf der Welt gibt. Das globale Mikrobiom umfasst über eine Quintillion ( $10^{30}$ ) Organismen bestehend aus etwa einer Billion ( $10^{12}$ ) verschiedener Arten (LOCEY und LENNON 2016). Diese Arten sind bei praktisch allen biogeochemischen Stoffkreisläufen der Erde beteiligt und spielen beim globalen Nährstoffzyklus, dem Abbau von Schadstoffen und der Entwicklung des Klimas eine wichtige Rolle (FALKOWSKI *et al.* 2008). Das Mikrobiom ist somit der biogeochemische Motor des Bodens (BARRIOS 2007) und beeinflusst die Widerstands- und Anpassungsfähigkeit des Bodens gegenüber Umweltveränderungen (LLADÓ *et al.* 2017).

### 2.2 Analytik des Mikrobioms im Zeitalter der Molekulargenetik

Die Analyse dieser mikroskopisch kleinen Lebewesen ist eine der grossen wissenschaftlichen Herausforderungen der letzten Jahrzehnte. Lange Zeit war die Technik nicht genug ausgereift, um diese komplexen Gemeinschaften adäquat zu untersuchen. Unter dem Mikroskop sind die Millionen Arten von Mikroorganismen kaum morphologisch zu unterscheiden. Auch traditionelle Ansätze, einzelne Arten auf speziellen Nährmedien zu vermehren und physiologisch zu untersuchen, sind oftmals von mässigem Erfolg gekrönt. Nur wenige Prozente der Mikroorganismen lassen sich überhaupt kultivieren, weil wir deren Nährstoffansprüche und allenfalls essenzielle biologische Interaktionen zwischen den Organismen noch nicht kennen oder

sie sich gar nicht aus dem natürlichen Substrat lösen lassen. So sind heute von den geschätzten  $10^{12}$  bakteriellen Arten (LOCEY und LENNON 2016) gerade mal rund 16000 Arten (also etwa 0,000001 %) gültig beschrieben (www.bacterio.net). Von den geschätzten 2 bis 4 Millionen Arten von Pilzen sind es etwa 3 bis 8 Prozent (HAWKSWORTH und LÜCKING 2017). Ein ähnliches Verhältnis zwischen der total geschätzten und der tatsächlich beschriebenen Diversität gilt wohl auch für andere grössere Gruppen von Mikroorganismen wie die Protisten.

Dank neuer Verfahren, die das Erbgut entschlüsseln – sogenannten «Next-Generation Sequencing» (NGS) Methoden –, hat sich diese Situation grundlegend geändert. So ist es heute möglich, das Erbgut (Desoxyribonukleinsäure, DNS) von Mikroorganismen und die in diesem Erbgut kodierten funktionalen Elemente (Gene) direkt aus Umweltproben zu extrahieren und die Diversität, das metabolische Potenzial und die Aktivität dieser Lebensgemeinschaften zu beschreiben (MYROLD *et al.* 2014). Mit dem sogenannten Metabarcoding-Verfahren lassen sich spezifische Gene – zum Beispiel ribosomale Gene, die von allen zellulären Organismen für die Proteinsynthese benötigt werden – von Millionen von Arten innert Tagen entschlüsseln. Dies ermöglicht nie dagewesene Einblicke in die Vielfalt und Evolution der Mikroorganismen (HUG *et al.* 2016), hat bahnbrechende Erkenntnisse in der Medizin geliefert (PFLUGHOEFT und VERSALOVIC 2012) und wird uns auch helfen, den Boden als wohl komplexeste genetische Ressource der Erde besser zu verstehen.

### 2.3 Das Mikrobiom als Indikator für Umweltveränderungen

Mit den neuen NGS-Technologien lässt sich auch bestens untersuchen, wie die Umwelt das Mikrobiom beeinflusst. Ist die ursprüngliche mikrobielle Diversität eines Ökosystems bekannt, ermöglicht ein Monitoring des Mikrobioms in Zeit und Raum zu messen, wie sich eine veränderte Umwelt auf den Boden oder andere Systeme auswirkt. Ausserdem lässt sich so untersuchen, wie diese Veränderungen mit Ökosystem-Prozessen verknüpft sind. Globale

Veränderungen wie Klimaerwärmung, Umweltverschmutzung oder intensive Bewirtschaftung beeinflussen die terrestrischen und aquatischen Ökosysteme und damit auch das Mikrobiom stark. Nachhaltige Veränderungen sind die Folge, von Verlust der genetischen Vielfalt bis zur Beeinträchtigung essenzieller Ökosystem-Funktionen. Da das Mikrobiom die Stoff- und Energieflüsse in einem Ökosystem (z.B. Anreicherung von Stickstoff oder Abbau von organischem Material) stark prägt, ist es naheliegend, dass Zusammensetzung und Funktion des Mikrobioms sensitive Indikatoren (Zeiger) für Umweltveränderungen sind. Das Mikrobiom lässt sich daher als Frühwarnsystem nutzen: Es erfasst einerseits Ökosystem-Veränderungen, bevor sich langanhaltende oder gar irreversible Konsequenzen manifestieren. Andererseits lässt sich damit nachfolgend auch die natürliche und anthropogene Regeneration der Ökosystemfunktionen evaluieren.

## 3 Mikrobielle Naturschutzgenetik

### 3.1 Definitionen und Potenzial

Die Naturschutzgenetik ist eine Subdisziplin der Populationsgenetik. Ausgehend von genetischen Daten lassen sich damit in erster Linie Massnahmen ableiten, um die Populationen und ihre genetische Vielfalt dauerhaft zu sichern. Ein zentrales Element der Naturschutzgenetik ist die Landschaftsgenetik. Sie untersucht, wie geografische Elemente (z.B. räumliche und zeitliche Isolation, landschaftsspezifische Barrieren wie Berge und Flüsse) und Umweltveränderungen (z.B. durch Klimawandel oder Landnutzung) genetische Prozesse und damit die genetische Vielfalt von Arten und Populationen beeinflussen (HOLDEREGGER und WAGNER 2006). Im Vordergrund stehen dabei Prozesse wie Genfluss, Gendrift, demografische Schwankungen und evolutionäre Anpassung, wobei sich diese Prozesse unterschiedlich auf die genetische Vielfalt auswirken. Traditionellerweise hat sich dieses Forschungsgebiet bisher vor allem auf Makroorganismen konzentriert, während Mikro-

organismen kaum Beachtung fanden. Da der mikrobielle Stoffwechsel aber die Diversität von Makroorganismen massgeblich mitbestimmt, ist es essenziell, das Mikrobiom in die Überlegungen der Landschaftsgenetik miteinzubeziehen (DUDANIEC und TESSON 2016).

### 3.2 Landschaftsgenetische Grundsätze und ihre Gültigkeit in der mikrobiellen Ökologie

Eine landschaftsgenetische Grundfrage ist, ob Mikroorganismen – analog zu Makroorganismen – räumliche Muster zeigen und somit nicht-zufällig verteilt sind. Viele wirtassozierte Mikroorganismen (z.B. Symbionten) weisen Muster von genetischer, morphologischer und funktionaler Differenzierung auf, die mit der räumlichen Verteilung ihrer Wirte im Zusammenhang stehen (HEDLUND und STALEY 2004; PAPKE und WARD 2004). Ob dieser Grundsatz auch auf freilebende Mikroorganismen zutrifft – wohl die Mehrheit der Mikroorganismen im Boden – ist umstritten. So schlagen gewisse Studien vor, dass geografische Barrieren die Ausbreitung und somit den Genfluss von freilebenden Mikroorganismen kaum begrenzen (FENCHEL und FINLAY 2004; FINLAY 2002). Immer mehr Studien zeigen jedoch, dass auch freilebende Mikroorganismen in Häufigkeit, Verteilung und Vielfalt über verschiedene räumliche Skalen variieren (MARTINY *et al.* 2006). Da sich mit den neuen molekulargenetischen Methoden sowohl die taxonomische und phylogenetische Auflösung wie auch der Durchsatz (Anzahl Proben) und die analytische Tiefe (Anzahl analysierter Organismen pro Probe) massiv steigern liess (HANSON *et al.* 2012; TEDERSOO *et al.* 2014), werden diese biogeografischen Muster immer deutlicher. Dabei stellt sich die Frage, inwieweit diese Variation auf 1) den historischen Genfluss oder 2) die aktuellen Umweltbedingungen zurückzuführen ist.

Baas-Becking erstellte einen weit bekannten Lehrsatz, wie Mikroorganismen räumlich verteilt sind: «*everything is everywhere, but the environment selects*» (BAAS-BECKING 1934). Dies bedeutet, dass alle mikrobiellen Arten global verteilt sind und nur die Umwelt bestimmt, welche Arten wo vorkom-

men. Dies würde heissen, dass die aktuellen Umweltbedingungen entscheidend sind für das Entstehen von biogeografischen Mustern. Der historische Genfluss und somit die geografischen Barrieren würden – im Gegensatz zu makroökologischen Erkenntnissen – die genetische Variation jedoch kaum beeinflussen (O'MALLEY 2008). Im Zuge der technologischen Entwicklungen in der Umweltgenetik wird dieser Lehrsatz aber immer mehr in Frage gestellt. Es wird zunehmend klar, dass auch bei Mikroorganismen beide Faktoren eine gewisse Rolle spielen (DUDANIEC und TESSON 2016) und oft zwei sich überlagernde Ebenen bilden (Abb. 1A). Betrachten wir also zunächst den historischen Genfluss als eine erste Ebene. Der Genfluss bezeichnet in der Evolutionsbiologie den Austausch von genetischem Material innerhalb und zwischen Populationen. Charakteristisch für Mikroorganismen ist sowohl eine extrem kurze Generationszeit und damit auch eine schnelle Artenbildung, als auch der weit verbreitete Mechanismus des asexuellen Austauschs von Genmaterial zwischen Arten durch horizontalen Gentransfer. Genfluss ist deshalb wohl auch für Unterschiede zwischen mikrobiellen Gemeinschaften (und nicht nur Populationen) von grosser Bedeutung.

Ein fundamentales Theorem der Populationsgenetik ist der sogenannte «isolation-by-distance»-Effekt (WRIGHT 1943), auch «distance-decay»-Beziehung genannt (SOININEN *et al.* 2007). Dieser Effekt charakterisiert den historischen Genfluss, indem er den positiven Zusammenhang zwischen dem Grad der genetischen Divergenz und der geografischen Distanz zwischen Populationen beschreibt. Mit anderen Worten, je weiter Populationen räumlich voneinander entfernt sind, desto grösser sind die genetischen Unterschiede, da der Genfluss mit zunehmender Distanz immer geringer wird (HOLDEREGGER und SEGELBACHER 2016). Wie erwähnt, können Landschaftselemente als Barrieren wirken und die genetische Divergenz zusätzlich beeinflussen (BOLLIGER und GUGERLI in diesem Band). Das gleiche Konzept lässt sich anstatt in der räumlichen Dimension auch in einer zeitlichen Dimension verstehen, sodass der Genfluss zwischen Gemeinschaften oder Population mit zunehmender zeitlicher Distanz abnimmt (sogenannte «time-decay»-Beziehung; SHADE *et al.* 2013).

Umweltfaktoren wie etwa Landnutzung oder Klimawandel bilden eine zweite Ebene, welche die genetische Vielfalt beeinflusst (Abb. 1A). Vie-

le Studien haben gezeigt, dass gewisse Umweltparameter wie der pH-Wert des Bodens die Zusammensetzung von mikrobiellen Gemeinschaften stark prägen (LAUBER *et al.* 2009). Der kombinierte Effekt dieser zwei Ebenen auf die genetische Vielfalt des Mikrobioms ist schlussendlich abhängig von der relativen Grösse der jeweiligen Komponente. So wurde gezeigt, dass mit steigender geografischer Distanz der Einfluss der lokalen Umweltbedingungen abnimmt und umgekehrt (MARTINY *et al.* 2006). Auch ein spezifischer Stressor, zum Beispiel eine starke mechanische Belastung des Bodens, kann die Zusammensetzung des Mikrobioms langanhaltend oder gar permanent stören. Bei einem starken Stressor kann die Ebene der aktuellen Umweltbedingungen so stark dominieren, dass die lokale Zusammensetzung an unterschiedlichen Standorten in die gleiche Richtung konvergiert und somit die lokale genetische Vielfalt potenziell verloren geht (Abb. 1B). Nur wenn wir beide Ebenen und deren Zusammenspiel erfassen, verstehen wir das Bodenmikrobiom als genetische Ressource besser und können es im naturschutzgenetischen Sinne auch besser bewahren. Im Folgenden präsentieren wir eine Fallstudie, in der beide Ebenen eine tragende Rolle spielen.

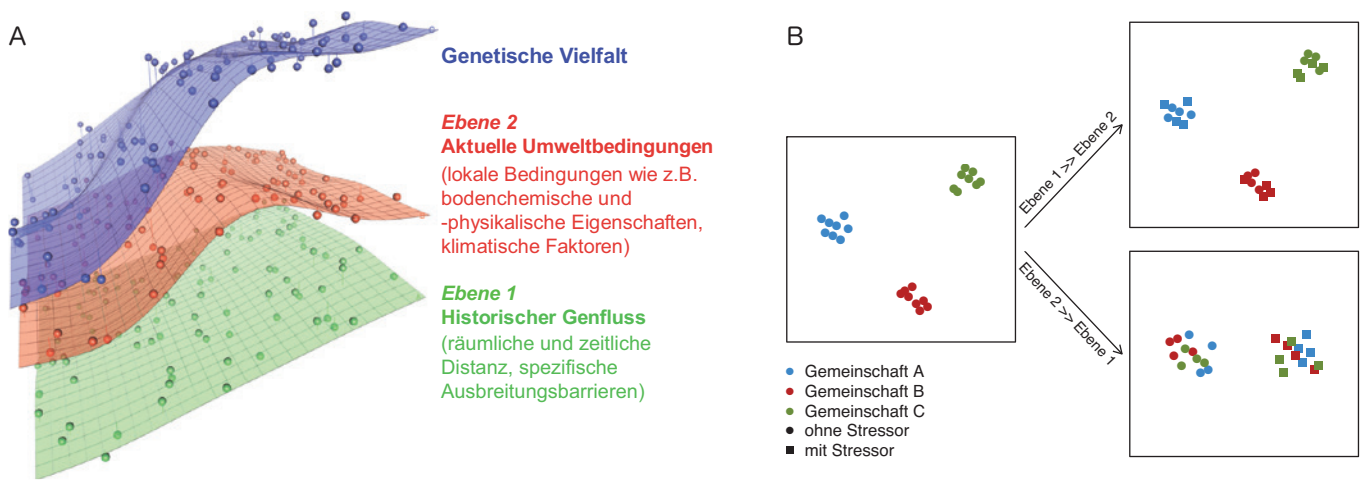


Abb. 1. A) Der historische Genfluss und die aktuellen Umweltbedingungen bilden zwei sich überlagernde Ebenen, welche die genetische Vielfalt von Populationen und Gemeinschaften beeinflussen. Die abstrakten Punkte repräsentieren den relativen Einfluss von den gemessenen Parametern in Ebene 1 und 2 auf die finalen Komponenten der genetischen Vielfalt. B) Abhängig davon, welche Ebene einen stärkeren Einfluss hat, wird die Vielfalt entweder vom historischen Genfluss oder von den aktuellen Umweltbedingungen dominiert. Wenn die aktuellen Umweltbedingungen einen sehr grossen Einfluss ausüben (Stichwort Stressor), kann die genetische Vielfalt an den verschiedenen Standorten konvergieren und somit die lokale genetische Vielfalt verloren gehen. Die verschiedenen Farben repräsentieren Gemeinschaften an drei geografisch verschiedenen Standorten, die verschiedenen Symbole verschiedene Umweltbedingungen (ohne und mit Stressor). Je näher die Punkte beieinanderliegen, desto ähnlicher ist die genetische Vielfalt der mikrobiellen Gemeinschaft.

### 3.3 Fallstudie: Das Bodenmikrobiom im Wald unter dem Druck der gesteigerten Holzernte

Waldökosysteme sind wesentliche Bestandteile der Biosphäre und regulieren grundlegende Nährstoff- und Energieflüsse mit direkter Rückkopplung auf das Klima (CANADELL und RAUPACH 2008). Intakte Wälder verringern die Zunahme von Treibhausgasen in der Atmosphäre und gehören zu den grössten globalen Kohlenstoffsinken (BONAN 2008; FAHEY *et al.* 2010). Wälder sind aber auch wirtschaftlich sehr wichtig und werden weltweit vermehrt und intensiver genutzt, um nachwachsende Roh- und Treibstoffe zu produzieren (KIRSCHBAUM 2003). Die vermehrte Entnahme von organischer Substanz (Biomasse) durch die Holzernte und die damit verbundene mechanische Belastung der Böden sind potenzielle Risikofaktoren für die Biodiversität im Boden. Zum einen kann die gesteigerte Entnahme von Rohstoffen – zum Beispiel durch grossflächige Vollbaumernte – dazu führen, dass wichtige Nährstoffe im Boden abnehmen und das Ökosystem somit langfristig unterversorgt ist. Zum anderen ist aber auch die mechanische Belastung der Böden durch die schweren Erntemaschinen ein zunehmendes Problem.

Dabei steigt das Risiko von Bodenschäden, insbesondere durch Verdichtung, wodurch der Boden schlechter mit Sauerstoff und Wasser versorgt wird.

Um zu beurteilen, wie Ernteabfuhr und Bodenverdichtung die Bodenprozesse und Standortproduktivität über die wichtigsten nordamerikanischen Boden- und Waldtypen hinweg beeinflussen, rief das Landwirtschaftsministerium der Vereinigten Staaten 1989 das **Langzeit-Bodenproduktivitäts-Netzwerk (eng. Long-Term Soil Productivity, LTSP)** ins Leben. Aufgrund der Forschungsergebnisse lassen sich letztlich nachhaltige Bewirtschaftungsmethoden identifizieren (POWERS 2006). Heute gehören mehr als 100 Standorte zum weltweit grössten koordinierten Forschungsnetzwerk. An jedem Standort werden jeweils drei Intensitätsstufen des Erntegrades und der Bodenverdichtung in einem vollständig faktoriellen Design untersucht. Der umliegende Wald dient als nicht-bewirtschafteter Referenzstandort (Abb. 2).

Auf sechs LTSP-Flächen im kanadischen British-Kolumbien (Abb. 2) haben wir den Einfluss der verschiedenen Bewirtschaftungsformen auf das Bodenmikrobiom (Bakterien und Pilze) mittels NGS von ribosomalen Markern untersucht (HARTMANN *et al.*

2012). Die sechs Standorte wurden so ausgewählt, dass Standortstruktur und Bodeneigenschaften möglichst uniform waren. Zudem wurde auf allen sechs Flächen die gleiche Baumart (Küstenkiefer, *Pinus contorta*) gepflanzt, um auch den Einfluss der Vegetation auf den Boden möglichst konstant zu halten. Bei jedem Standort wurden ausserdem die lokalen bodenchemischen Bedingungen in Kombination mit den verschiedenen Bewirtschaftungsformen gemessen. Die unterschiedliche geografische Distanz der Versuchsflächen mit möglichst einheitlichen Standorteigenschaften macht diesen Datensatz zu einem idealen Instrument, um den Einfluss der landschaftsgenetischen Komponenten auf die genetische Vielfalt der mikrobiellen Gemeinschaften zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden 10 bis 15 Jahren nach der Ernte an jedem der sechs Standorte von allen neun Behandlungen (3 Erntestufen  $\times$  3 Verdichtungsstufen) und dem nicht-bewirtschafteten Referenzstandort Bodenproben entnommen – sowohl des organischen wie auch des mineralischen Oberbodens. Das Ziel war zu verstehen, 1) inwiefern die geografische Komponente (Ebene 1) und die aktuellen Bodeneigenschaften (Ebene 2) die genetische Vielfalt des Bodenmikrobioms beeinflussen, und 2) ob die massiven Eingriffe ins Ökosystem mit den verschiedenen Bewirtschaftungsformen zu einem Verlust der lokalen genetischen Vielfalt führen, sodass die bewirtschafteten Flächen an allen Standorten eine ähnliche mikrobielle Zusammensetzung aufweisen.

Mit den vier Faktoren Standort ( $n=6$ ), Bodenhorizont ( $n=2$ ), Erntegrad ( $n=3$ ) und Bodenverdichtung ( $n=3$ ) konnte 31 Prozent der Variabilität in der Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft erklärt werden. Der Faktor Standort machte mit 18 Prozent ( $p<0,001$ ) den grössten Teil dieser Variabilität aus, gefolgt von den Faktoren Bodenhorizont (11 %,  $p<0,001$ ), Erntegrad (2 %,  $p<0,001$ ) und Bodenverdichtung (1 %,  $p<0,05$ ). Eine Hauptkoordinaten-Analyse (PCO; GOWER 2005) bestätigte, dass Standort und Bodenhorizont die massgebenden Faktoren waren, welche die genetische Vielfalt beeinflussten (Abb. 3). Diese Unterschiede wurden auf den ersten zwei Hauptkoordinaten sicht-

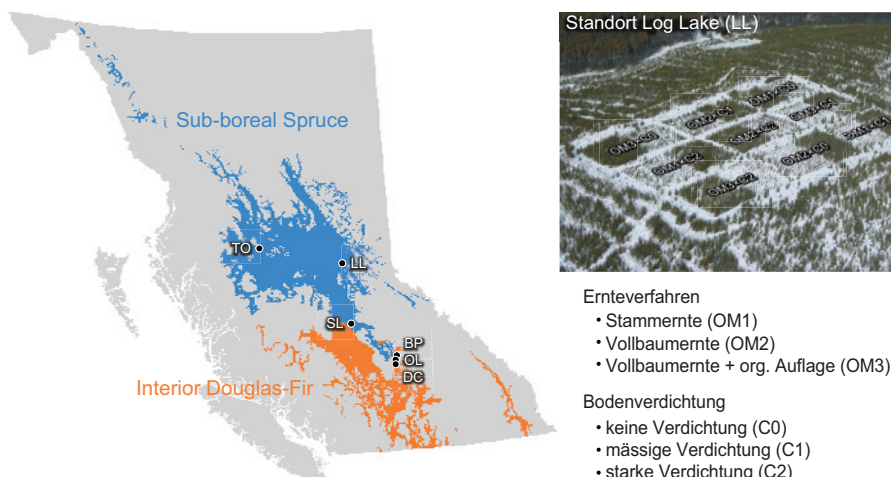


Abb. 2. Die Long-Term Soil Productivity (LTSP)-Standorte in British-Kolumbien, Kanada. Drei Standorte (To, Topley; LL, Log Lake; SL, Skulow Lake) befinden sich in der biogeoklimatischen Zone *Sub-boreal Spruce* (in blau), drei andere Standorte (BP, Black Pines; OL, O'Connor Lake; DC, Dairy Creek) in der Zone *Interior Douglas-Fir* (in orange). An jedem Standort wird der Einfluss von drei Intensitätsstufen des Erntegrades (Stammernte OM1, Vollbaumernte OM2 und Vollbaumernte mit Entfernung der organischen Auflage OM3) und der Bodenverdichtung (keine Verdichtung C0, mässige Verdichtung C1 und starke Verdichtung C2) in einem vollständig faktoriellen Design untersucht. Der umliegende Wald dient als nicht-bewirtschafteter Referenzstandort.

bar. Ein statistisches Filtern der Effekte aufgrund der *a-priori*-Gruppen mittels einer sogenannten kanonischen Analyse der Hauptkoordinaten (CAP; ANDERSON und WILLIS 2003) wurde eingesetzt, um 1) den relativen Einfluss von Standort und Bewirtschaftungsformen zu quantifizieren (Abb. 4) und 2) die relativen Unterschiede innerhalb der untersuchten Faktoren zu evaluieren (Abb. 5). Diese Analysen zeigten klar, dass die geografische Lage die mikrobielle Vielfalt stärker beeinflusste als die Bewirtschaftungsmassnahmen (Abb. 4). Die relativen Unterschiede in der mikrobiellen Vielfalt zwischen den Standorten widerspiegeln die geografische Lage der Standorte, obwohl alle Standorte ganz deutlich voneinander getrennt werden konnten (Abb. 5). Weiter auseinanderliegende Standorte (TO, LL, SL) zeigten grössere Unterschiede in der Zusammensetzung

des Bodenmikrobioms als nahe gelegene Standorte (BP, OL, DC). Dieses Resultat legt nahe, dass der «*isolation-by-distance*»-Effekt einen starken Einfluss hatte, auch wenn die sechs Standorte in Bezug auf ihre Umweltbedingungen nicht genau gleich waren (was bei einem Feldversuch nahezu unmöglich ist). Wie weiter oben erwähnt war auch der Bodenhorizont ein massgebender Faktor für die mikrobielle Vielfalt (Abb. 3). Die unterschiedlichen Bodenhorizonte spiegeln wohl sowohl die geografische Distanz wie auch die aktuellen Umweltbedingungen wider. Zum einen ist die Quelle für die organische Auflage (Vegetation) eine grundlegend andere als die für den mineralischen Boden (verwittertes Gestein), was eine gewisse geografische Isolierungskomponente widerspiegelt (wenn auch auf einer kleineren, jedoch für Mikroorganismen

relevanten Skala). Zum anderen haben die beiden Bodenhorizonte aber auch substantiell unterschiedliche physikalische und chemische Eigenschaften, die dazu beitragen, dass sich unterschiedliche mikrobielle Gemeinschaften etablieren.

Auch die Bewirtschaftungsformen hatten einen signifikanten, jedoch verhältnismässig kleinen Einfluss auf die gesamte genetische Vielfalt des Bodenmikrobioms (Abb. 5). Dies ist doch ein erstaunliches Resultat, da die intensiven Bewirtschaftungsformen massiv in den Boden eingreifen, zum Beispiel die Vollbaumernte inklusive Entfernung der organischen Auflage (OM3) kombiniert mit einer schweren Bodenverdichtung (C2). Man hätte davon ausgehen können, dass über alle sechs Standorte hinweg die gleichen Mikroorganismen sich an diese doch sehr harschen und limitierten Bedingungen

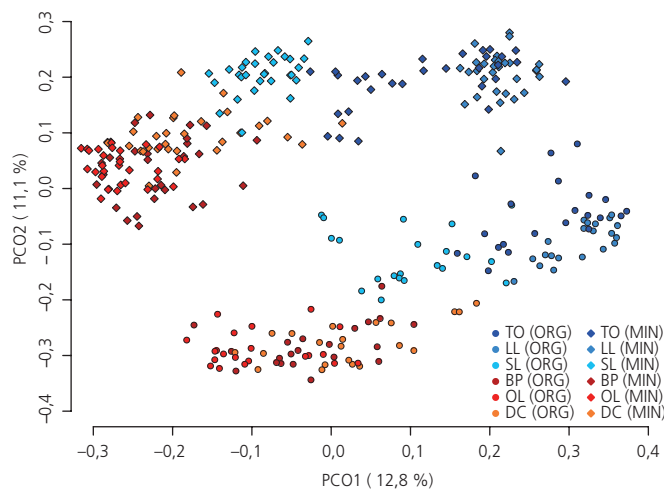


Abb. 3. Unterschiede in der genetischen Vielfalt des Bodenmikrobioms gemessen durch NGS von phylogenetischen Markern für Bakterien und Pilze. Die Abbildung zeigt eine Hauptkoordinaten-Ordination (PCO) von allen analysierten Bodenproben, mit welcher ein möglichst grosser Teil der Variabilität im Datensatz auf einen niederdimensionalen Raum projiziert wird. Die ersten zwei Hauptkoordinaten (PCO1 und PCO2), welche den grössten Teil der Gesamtvarianz erklären (12,8% und 11,1%), sind dargestellt. Jeder Datenpunkt in der Ordination entspricht der mikrobiellen Gemeinschaftsstruktur einer Bodenprobe, und je näher sich zwei Datenpunkte sind, desto ähnlicher sind diese zwei Proben in Bezug auf die mikrobielle Zusammensetzung. Die ersten zwei Hauptkoordinaten zeigen, dass die Faktoren Standort und Bodenhorizont einen übergeordneten Einfluss auf die mikrobielle Zusammensetzung ausüben. Die Abkürzungen der Standorte sind in Abbildung 2 gegeben. Die zwei verschiedenen Bodenhorizonte bestehen aus der organischen Auflage (ORG) und den obersten 20 cm des mineralischen Bodens (MIN).

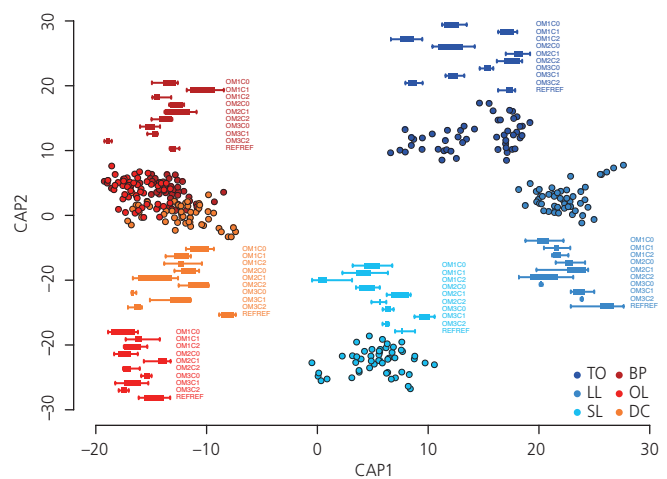
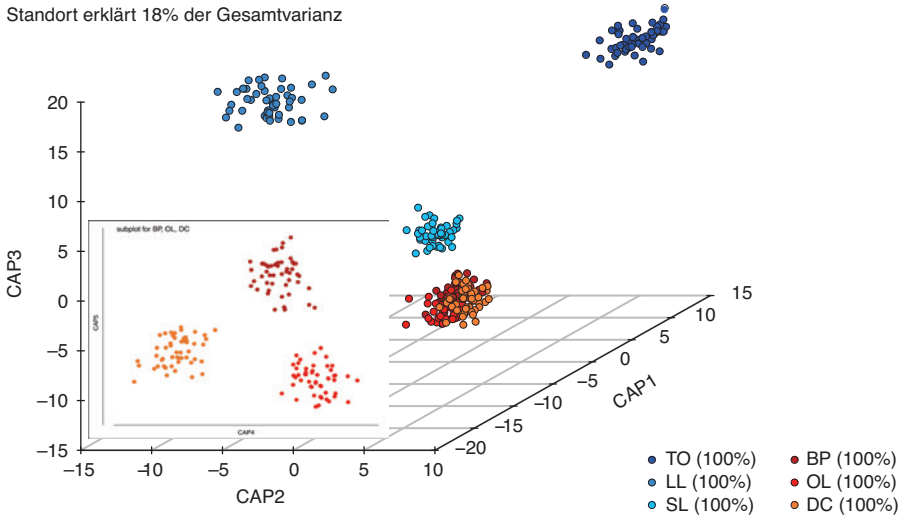
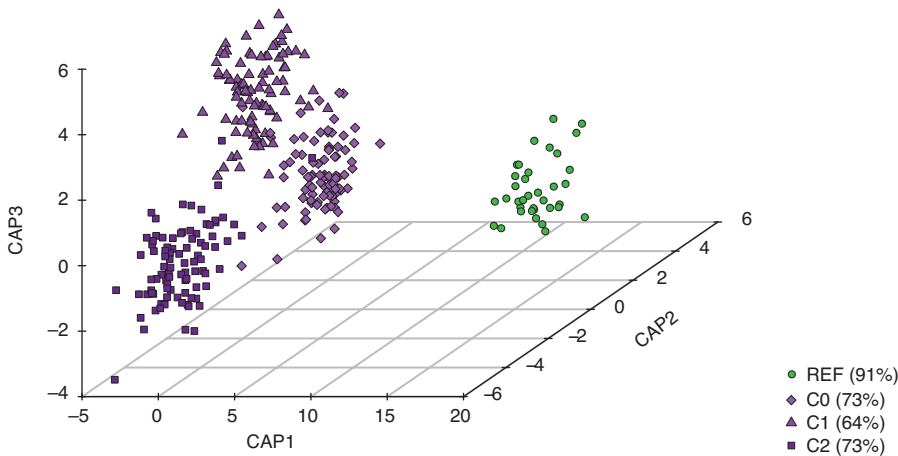


Abb. 4. Unterschiede in der genetischen Vielfalt des Bodenmikrobioms gemessen durch NGS von phylogenetischen Markern für Bakterien und Pilze. Die Abbildung zeigt eine kanonische Analyse der Hauptkoordinaten aus Abbildung 3. Diese Analyse ist eine statistische Filterungsmethode, um den relativen Einfluss der Faktoren Standort und Bewirtschaftung (Erntegrad und Bodenverdichtung) zu untersuchen. Analog zur Hauptkoordinatenanalyse entspricht ein Datenpunkt in der Ordination einer mikrobiellen Gemeinschaftsstruktur einer Bodenprobe, und je näher sich zwei Datenpunkte sind, desto ähnlicher sind diese zwei Proben in Bezug auf die mikrobielle Zusammensetzung. Die ersten zwei kanonischen Hauptkoordinaten (CAP1 und CAP2) zeigen, dass der Faktor Standort einen grösseren Einfluss auf die mikrobielle Zusammensetzung hat als die verschiedenen Bewirtschaftungsmassnahmen, da die Gemeinschaften primär aufgrund der geografischen Lage und nicht aufgrund der Bewirtschaftung strukturiert sind. Die Unterschiede, verursacht durch die Bewirtschaftungsmassnahmen, sind innerhalb jeder Standort-Gruppe sichtbar und sind durch die Boxplots (Kastengrafiken) visualisiert. Die Abkürzungen der Standorte und Bewirtschaftungsmassnahmen sind in Abbildung 2 gegeben.

Standort erklärt 18% der Gesamtvarianz



Bodenverdichtung erklärt 1% der Gesamtvarianz



Erntestufe erklärt 2% der Gesamtvarianz

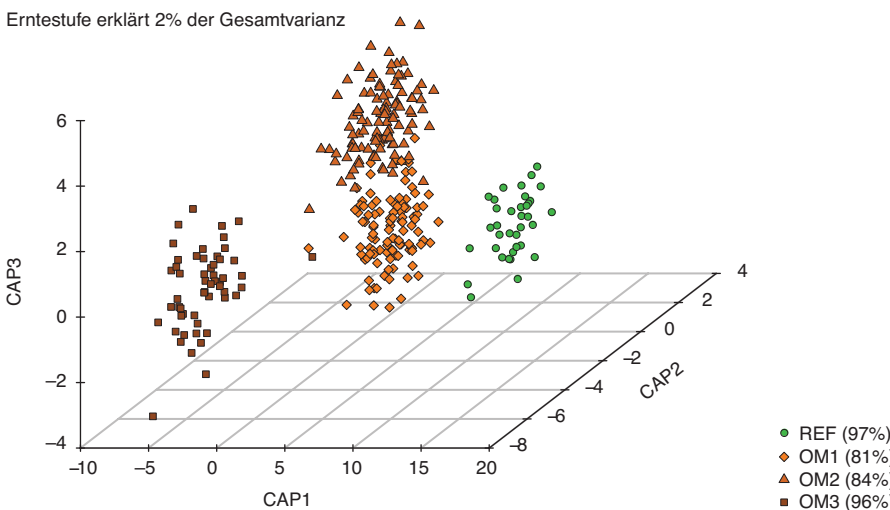


Abb. 5. Kanonische Analyse der Hauptkoordinaten analog zu Abbildung 4, aber jeweils nur mit einem Faktor gefiltert (Standort, Erntegrad oder Bodenverdichtung). Die ersten drei kanonischen Hauptkoordinaten (CAP1, CAP2 und CAP3) zeigen die relativen Unterschiede in der mikrobiellen Zusammensetzung aufgrund der verschiedenen Stufen innerhalb eines Faktors. Sowohl die sechs verschiedenen Standorte wie auch die verschiedenen Erntegrade und Verdichtungsstufen weisen unterschiedliche mikrobielle Gemeinschaften auf. Die Prozentangabe bei jeder Gruppe zeigt, wie gut das statistische Modell die jeweilige Gruppe von den anderen Gruppen separieren kann (also wie stark der Unterschied zwischen den Gruppen ist), mit 100 Prozent gleich einer maximalen Separation. Die Abkürzungen der Standorte und Bewirtschaftungsmassnahmen sind in Abbildung 2 gegeben.

anpassen würden – mit einem entsprechenden potenziellen Verlust der genetischen Vielfalt zwischen den Standorten. Dies war aber nicht der Fall, und die standorttypische Zusammensetzung blieb trotz der intensiven Veränderungen der Umweltbedingungen erhalten. Auch hier liessen sich jedoch die verschiedenen Intensitätsstufen mittels entsprechendem statistischen Filtern relativ deutlich unterscheiden (Abb. 5). Vor allem mikrobielle Gruppen, die in Symbiose mit Pflanzen leben, oder solche, die im Abbau von organischem Material eine wichtige Rolle übernehmen, waren von den intensiven Bewirtschaftungsformen stark betroffen (HARTMANN *et al.* 2012). Da diese Mikroorganismen essenziell sind für die Versorgung der Pflanzen mit Nährstoffen, stellt sich natürlich die Frage, ob intensiv genutzte Wälder langfristig genügend Nährstoffe haben. Mehr Details über die Effekte der Bewirtschaftungsformen auf einzelne mikrobielle Arten können in der originalen Publikation nachgelesen werden (HARTMANN *et al.* 2012).

Um den relativen Einfluss der räumlichen Distanz und der lokalen Bodeneigenschaften auf die genetische Vielfalt des Mikrobioms zu untersuchen, wurde ein partieller Mantel-Test (SMOUSE *et al.* 1986) durchgeführt. Dieser Test berechnet die Korrelation zwischen zwei Distanzmatrizen unter Berücksichtigung und Korrektur des Einflusses einer dritten Distanzmatrix. Damit können wir untersuchen, wie die Geografie die mikrobielle Zusammensetzung beeinflusst, währendem wir den Einfluss der lokalen Umweltbedingungen kontrollieren und umgekehrt. Sowohl die räumlichen Koordinaten ( $r=0,52$ ;  $p<0,001$ ) wie auch die Bodeneigenschaften zum Zeitpunkt der Beprobung ( $r=0,63$ ;  $p<0,001$ ) korrelierten mit der Gemeinschaftsstruktur. Der relativ starke Einfluss der Bodenparameter war jedoch zum grössten Teil auf den Unterschied dieser Parameter zwischen den Bodenhorizonten zurückzuführen. Wenn man die Bodenhorizonte separat analysierte, beeinflusste die räumliche Distanz die genetische Vielfalt stärker als die Bodeneigenschaften, sowohl im organischen ( $r=0,52$ ;  $p<0,001$  versus  $r=0,38$ ;  $p<0,001$ ) wie auch im mineralischen ( $r=0,63$ ;  $p<0,001$  versus  $0,38$ ;  $p<0,001$ ) Boden. Daraus lässt sich schliessen, dass

primär die geografische Distanz für die Unterschiede in der mikrobiellen Zusammensetzung über die sechs Waldstandorte verantwortlich ist und nur in zweiter Linie die aktuellen Bodeneigenschaften. Hier muss man jedoch anfügen, dass höchstwahrscheinlich nicht alle potenziell relevanten Umweltbedingungen gemessen wurden und diese Aussage nur auf den gemessenen Parametern basiert (Bodenwassergehalt, pH, Kohlenstoff, Stickstoff, mineralischer Stickstoff, Calcium, Kalium, Magnesium, Phosphor, Schwefel, Aluminium, Natrium und Kationenaustauschkapazität). Bodenparameter wie Kohlenstoffgehalt, pH und Bodenfeuchte schienen Bodenparameter mit substantiellem Einfluss zu sein.

### 3.4 Herausforderungen und Limitierungen

Aus den oben ausgeführten Erkenntnissen können wir schliessen, dass Mikroorganismen analog zu Makroorganismen a) räumliche Verteilungsmuster zeigen und b) nicht nur aktuelle Umweltbedingungen diese Muster generieren, sondern auch der historische Genfluss. Trotz dieser landschaftsgenetischen Übereinstimmung zwischen Makro- und Mikroorganismen gibt es doch fundamentale Unterschiede, die es zu berücksichtigen gilt (PROSSER *et al.* 2007). Faktoren wie 1) Art der Ausbreitung, 2) variable Lebenszyklen und 3) hohe Reproduktionsraten kombiniert mit grossen Populationen bringen zusätzliche Herausforderungen mit sich (DUDANIEC und TESSON 2016). So unterscheiden sich Mikroorganismen, die unterschiedliche Wege der Ausbreitung (aktiv, passiv, wirtsassoziiert), unterschiedliche Entwicklungsstadien (sexuell, asexuell) oder unterschiedliche Überdauerungsphasen (z.B. Sporenbildung) aufweisen, sowohl hinsichtlich ihrer Ausbreitungswege und -geschwindigkeiten wie auch ihrer Anpassungsmechanismen gegenüber Umweltveränderungen. Viele Mikroorganismen wechseln diese Zustände auch im Verlaufe ihres Lebenszyklus, sodass Genfluss und Anpassung schwierig zu modellieren sind. Das heisst auch, dass Modelle je nach mikrobieller Art unterschiedlich ausfallen dürften. Die genetischen Verteilungsmuster von gewissen Arten werden massgebend durch den histori-

schen Genfluss bestimmt, während andere Arten wohl nur bedingt den landschaftsgenetischen Prinzipien folgen. Oder um auf die ursprüngliche Theorie von Baas-Becking zurückzukommen, könnten wir wohl sagen: «*Some things are everywhere and some things are not; sometimes the environment selects and sometimes it doesn't*» (VAN DER GAST 2013; VAN DER GAST 2015).

Eine weitere erschwerende Komponente ist, dass die räumlichen (Millimeter zu Kilometer) und zeitlichen (Minuten zu Jahre) Komponenten bei Mikroorganismen fundamental anders sind als bei Makroorganismen. Besonders schwierig ist es zudem, mikrobielle Arten überhaupt adäquat zu definieren, da die extrem kurze Generationszeit sowie das Fehlen reproduktiver Isolierung durch den asexuellen Austausch von Genmaterial (Stichwort horizontaler Gentransfer) die Artengrenzen vermischen. Ein grosser Vorteil der Naturschutzgenetik ist jedoch gerade, dass solche Artgrenzen nicht unbedingt definiert werden müssen, um die genetische Vielfalt zu messen. Wer die Ansätze und Theorien der Naturschutzgenetik auf mikrobielle Gemeinschaften übertragen möchte, muss zuerst besser verstehen, welche Umweltfaktoren für die Verbreitung und Strukturierung von Mikroorganismen relevant sind. In diesem Sinne ist die oben diskutierte Fallstudie wichtig, um zu lernen, wie das Bodenmikrobiom und die darin enthaltenen genetischen Ressourcen auf Umweltveränderungen reagieren, und wie sich die genetische Vielfalt in Zeit und Raum verhält.

## 4 Schlussfolgerungen

### 4.1 Bedeutung für die Wissenschaft

Mikroorganismen zeigen analog zu Makroorganismen geografische Verteilungsmuster. Diese Muster werden sowohl durch geografische Elemente (räumliche Distanz, spezifische Landschaftsmerkmale) wie auch durch dynamische Umweltbedingungen (klimatische Faktoren, Landnutzung) gebildet. Beide Ebenen sind notwendig, um zu verstehen, wie genetische Vielfalt entsteht und wie lokale, regionale

und globale Veränderungen sie beeinflussen. Die mikrobielle Landschaftsgenetik ist jedoch mit spezifischen Herausforderungen konfrontiert, die sich fundamental von den makroökologischen Grundprinzipien unterscheiden. Bei Mikroorganismen ist es schwierig, Arten genetisch zu definieren, da der asexuelle Austausch von Genmaterial die Artengrenzen verzerrt und viele Arten weder aufgrund äusserlicher Merkmale noch genetisch beschrieben wurden. Die relativ schnelle Artenbildung erschwert zudem aufgrund der oft extrem kurzen Generationszeit die Analyse in Raum und Zeit. Immense technische Fortschritte in den letzten Jahren machten landschaftsgenetische Analysen bei Mikroorganismen überhaupt erst möglich. Trotzdem braucht es eine noch bessere analytische Auflösung, um den Genfluss auf der Ebene von Populationen zu untersuchen (Stichwort Populationsgenetik). Neuste genomische Technologien wie etwa die Einzel-Zell-Genomik werden uns da einen grossen Schritt weiterbringen. Mit dieser Technologie werden einzelne mikrobielle Zellen direkt von der Matrix – zum Beispiel Boden – isoliert und anschliessend das gesamte Genom (Erbgut) sequenziert. Mit diesem Ansatz lassen sich kleinste genetische Verschiebungen innerhalb von Arten und somit zwischen Populationen untersuchen, um evolutive Anpassungsmechanismen besser nachzuvollziehen. Dies wird ein weiterer Schritt sein auf dem Weg, Genfluss und Anpassungsprozesse innerhalb von Mikroorganismen zu verstehen.

Genetische Ressourcen im Boden zu erhalten ist nicht nur weltweit, sondern auch national ein Thema. Faktoren wie Bewirtschaftung und Klimawandel führen auch in der Schweiz zu Umweltveränderungen, die sich direkt auf das Bodenmikrobiom auswirken können. So zeigten wir mit genetischen Methoden, dass land- und forstwirtschaftliche Einflüsse wie etwa mechanische Bodenbelastung oder verschiedene Düngungs- und Pflanzenschutzmassnahmen das Bodenmikrobiom in der Schweiz verändern (HARTMANN *et al.* 2014; HARTMANN *et al.* 2015). Klimaassoziierte Faktoren wie Trockenheit oder steigende Temperaturen zogen Konsequenzen für das Bodenmikrobiom in Wald und Gebirge nach

sich (FREY *et al.* 2016; HARTMANN *et al.* 2017). All diese Fallstudien wurden jedoch nur an einzelnen oder wenigen Orten durchgeführt, sodass die räumliche Variation dieser Veränderungen nicht erfasst werden konnte. In Zukunft wird es wichtig sein, entlang möglichst grosser geografischer Gradienten zu untersuchen, wie eine veränderte Umwelt das Bodenmikrobiom beeinflusst. Daraus liessen sich generell gültige Schlussfolgerungen ziehen.

## 4.2 Bedeutung für die Praxis

Weltweit sind Bestrebungen im Gange, den Rückgang der globalen Artenvielfalt zu bremsen. Auch in der Schweiz gibt es Richtlinien, die helfen sollen, die Artenvielfalt zu schützen. Das **Bundesgesetz über den Natur- und Heimatschutz** führt im Artikel 1d auf, dass «*die einheimische Tier- und Pflanzenwelt sowie ihre biologische Vielfalt und ihren natürlichen Lebensraum zu schützen*» sind. Der immense Wert der Biodiversität wurde erkannt, sodass der Schweizerische Bundesrat am 25. April 2012 die **Strategie Biodiversität Schweiz** verabschiedete. Ausgerechnet die diverseste aller Gruppen, die Mikroorganismen, hat in dieser Strategie aber wenig bis gar keine Beachtung gefunden. In Anbetracht der Schlüsselrolle von Mikroorganismen für alle biogeochemischen Prozesse auf der Erde und somit für das Funktionieren unserer Ökosysteme muss diese Komponente zwingend mitberücksichtigt werden. Wer das globale Mikrobiom als genetische Ressource schützen und nutzen möchte, muss besser verstehen, wie genetische Vielfalt bei Mikroorganismen generiert und beeinflusst wird. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass geografische Faktoren nicht nur für Makroorganismen, sondern auch für Mikroorganismen wichtig sind. Dies hat zur Folge, dass – analog zu Makroorganismen – Refugien, vernetzte Landschaften und ein Minimieren von Stressoren wichtig sind, um die genetische Vielfalt und ihre Weiterentwicklung aufrecht zu erhalten.

Der Boden ist eine komplexe genetische Ressource. Die **Verordnung über Belastungen des Bodens (VBBo)** des Schweizerischen Bundesrats führt aus, dass ein intakter Boden eine stand-

orttypische, biologisch aktive Lebensgemeinschaft aufweisen muss. Mit den neuesten molekulargenetischen Methoden können wir nun diese standorttypische genetische Ressource beschreiben und langfristig beobachten. In verschiedenen Beobachtungsprogrammen (Stichwort Monitoring) wie zum Beispiel dem **Nationalen Bodenbeobachtungsnetzwerk (NABO)** oder dem **Biodiversitäts-Monitoring Schweiz (BDM)** lassen sich die räumlichen und zeitlichen Veränderungen der Biodiversität untersuchen, auch im Zusammenhang mit dem globalen und lokalen Wandel der Umwelt. In diesen Programmen sollte auch die mikrobielle Biodiversität berücksichtigt werden. Es ist an der Zeit, das Mikrobiom als wohl diverser und vielleicht funktional grundlegender Bestandteil der Biodiversität in die Betrachtungen der Naturschutzgenetik miteinzubeziehen.

## 5 Literatur

- ANDERSON, M.J.; WILLIS, T.J., 2003: Canonical analysis of principal coordinates: A useful method of constrained ordination for ecology. *Ecology* 84: 511–525.
- BAAS-BECKING, L.G.M., 1934: Geobiologie of inleiding tot de milieukunde. WP Van Stockum & Zoon NV: Den Haag, The Netherlands.
- BARRIOS, E., 2007: Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecol. Econ.* 64: 269–285.
- BOLLIGER, J.; GUGERLI, F., 2017: Isoliert oder vernetzt? Auswirkungen der Landschaft auf den Genfluss. *WSL Ber.* 60: 23–29.
- BONAN, G.B., 2008: Forests and climate change: forcings, feedbacks, and the climate benefits of forests. *Science* 320: 1444–1449.
- CANADELL, J.G.; RAUPACH, M.R., 2008: Managing forests for climate change mitigation. *Science* 320: 1456–1457.
- DUDANIEC, R.Y.; TESSON, S.V.M., 2016: Applying landscape genetics to the microbial world. *Mol Ecol* 25: 3266–3275.
- FAHEY, T.J.; WOODBURY, P.B.; BATTLES, J.J.; GOODALE, C.L.; HAMBURG, S.P.; OLLINGER, S.V.; WOODALL, C.W., 2010: Forest carbon storage: ecology, management, and policy. *Front Ecol. Environ.* 8: 245–252.
- FALKOWSKI, P.G.; FENCHEL, T.; DELONG, E.F., 2008: The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science* 320: 1034–1039.
- FENCHEL, T.; FINLAY, B.J., 2004: The ubiquity of small species: patterns of local and global diversity. *Bioscience* 54: 777–784.
- FINLAY, B.J., 2002: Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296: 1061–1063.
- FREY, B.; RIME, T.; PHILLIPS, M.; STIERLI, B.; HAJDAS, I.; WIDMER, F.; HARTMANN, M., 2016: Microbial diversity in European alpine permafrost and active layers. *FEMS Microbiol. Ecol.* 92: 1–17.
- GOWER, J.C., 2005: Principal Coordinates Analysis. *Encyclopedia of Biostatistics*. John Wiley & Sons, Ltd.
- HANSON, C.A.; FUHRMAN, J.A.; HORNER-DEVINE, M.C.; MARTINY, J.B.H., 2012: Beyond biogeographic patterns: processes shaping the microbial landscape. *Nat. Rev. Micro.* 10: 497–506.
- HARTMANN, M.; HOWES, C.G.; VANINSBERGHE, D.; YU, H.; BACHAR, D.; CHRISTEN, R.; NILSSON, R.H.; HALLAM, S.J.; MOHN, W.W., 2012: Significant and persistent impact of timber harvesting on soil microbial communities in Northern coniferous forests. *ISME J.* 6: 2199–2218.
- HARTMANN, M.; NIKLAUS, P.A.; ZIMMERMANN, S.; SCHMUTZ, S.; KREMER, J.; ABARENKOV, K.; LÜSCHER, P.; WIDMERN, F.; FREY, B., 2014: Resistance and resilience of the forest soil microbiome to logging-associated compaction. *ISME J.* 8: 226–244.
- HARTMANN, M.; FREY, B.; MAYER, J.; MADER, P.; WIDMER, F., 2015: Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *ISME J.* 9: 1177–1194.
- HARTMANN, M.; BRUNNER, I.; HAGEDORN, F.; BARDGETT, R.D.; STIERLI, B.; HERZOG, C.; CHEN, X.; ZINGG, A.; GRAF-PANNATIER, E.; RIGLING, A.; FREY, B., 2017: A decade of irrigation transforms the soil microbiome of a semi-arid pine forest. *Mol. Ecol.* 26: 1190–1206.
- HAWKSWORTH, D.L.; LÜCKING, R., 2017: Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology Spectrum* 5: FUNK-0052-2016.
- HEDLUND, B.P.; STALEY, J.T., 2004: Microbial endemism and biogeography. In: BULL, A.T. (ed) *Microbial Diversity and Bioprospecting*. ASM: Washington DC.
- HOLDEREGGER, R.; WAGNER, H.H., 2006: A brief guide to Landscape Genetics. *Landsc. Ecol.* 21: 793–796.
- HOLDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G., 2016: *Naturschutzgenetik*. Bern, Haupt, Switzerland.



- HUG, L.A.; BAKER, B.J.; ANANTHARAMAN, K.; BROWN, C.T.; PROBST, A.J.; CASTELLE, C.J.; BUTTERFIELD, C.N.; HERNSDORF, A.W.; AMANO, Y.; ISE, K.; SUZUKI, Y.; DUDEK, N.; RELMAN, D.A.; FINSTAD, K.M.; AMUNDSON, R.; THOMAS, B.C.; BANFIELD, 2016: A new view of the tree of life. *Nature Microbiology*: 16048.
- JEFFERY, S.; GARDI, C.; JONES, A.; MONTANARELLA, L.; MARMO, L.; MIKO, L.; RITZ, K.; Jeffery, S.; Gardi, C.; Jones, A.; Montanarella, L.; Marmo, L.; Miko, L.; Ritz, K.; Peres, G.; Römbke, J.; van der Putten, W., 2010: European Atlas of Soil Biodiversity. European Commission, Publications Office of the European Union: Luxembourg.
- KIRSCHBAUM, M.U.F., 2003: To sink or burn? A discussion of the potential contributions of forests to greenhouse gas balances through storing carbon or providing biofuels. *Biomass Bioenergy* 24: 297–310.
- LAUBER, C.; HAMADY, M.; KNIGHT, R.; FIERER, N., 2009: Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 5111–5120.
- LLADÓ, S.; LÓPEZ-MONDÉJAR, R.; BALDRIAN, P., 2017: Forest soil bacteria: Diversity, involvement in ecosystem processes, and response to global change. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 81.
- LOCEY, K.J.; LENNON, J.T., 2016: Scaling laws predict global microbial diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 113: 5970–5975.
- MARTINY, J.B.H.; BOHANNAN, B.J.M.; BROWN, J.H.; COLWELL, R.K.; FUHRMAN, J.A.; GREEN, J.L.; HORNER-DEVINE, M.C.; KANE, M.; KRUMINS, J.A.; KUSKE, C.R.; MORIN, P.J.; NAEEM, S.; OVREÅS, L.; REYSENBACH, A.L.; SMITH, V.H.; STALEY, J.T., 2006: Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nat. Rev. Microbiol.* 4: 102–112.
- MYROLD, D.D.; ZEGLIN, L.H.; JANSSON, J.K., 2014: The potential of metagenomic approaches for understanding soil microbial processes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 78: 3–10.
- O'MALLEY, M.A.; 2008: "Everything is everywhere: but the environment selects": ubiquitous distribution and ecological determinism in microbial biogeography. *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences* 39: 314–325.
- PAPKE, R.T.; WARD, D.M., 2004: The importance of physical isolation to microbial diversification. *FEMS Microbiol. Ecol.* 48: 293–303.
- PFLUGHOEFT, K.J.; VERSALOVIC, J., 2012: Human microbiome in health and disease. *Annu. Rev. Phytopathol. Mech.* 7: 99–122.
- POWERS, R.F., 2006: Long-Term Soil Productivity: genesis of the concept and principles behind the program. *Can. J. For. Res.* 36: 519–528.
- PROSSER, J.I.; BOHANNAN, B.J.M.; CURTIS, T.P.; ELLIS, R.J.; FIRESTONE, M.K.; FRECKLETON, R.P.; GREEN, J.L.; KILLHAM, K.; LENNON, J.J.; OSBORN, A.M.; SOLANIO, M.; VAN DER GAST, C.J.; YOUNG, J.P.W., 2007: The role of ecological theory in microbial ecology. *Nat. Rev. Microbiol.* 5: 384–392.
- SHADE, A.; CAPORASO, J.G.; HANDELSMAN, J.; KNIGHT, R.; FIERER, N., 2013: A meta-analysis of changes in bacterial and archaeal communities with time. *ISME J.* 7: 1493–1506.
- SMOUSE, P.E.; LONG, J.C.; SOKAL, R.R., 1986: Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Syst. Zool.* 35: 627–632.
- SOININEN, J.; McDONALD, R.; HILLEBRAND, H., 2007: The distance decay of similarity in ecological communities. *Ecography* 30: 3–12.
- TEDERSOO, L.; BAHRAM, M.; PÖLME, S.; KÖLJALG, U.; YOROU, N.S.; WIJESUNDERA, R.; RUIZ, L.V. *et al.*, 2014: Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346: 1256–688.
- VAN DER GAST, C.J.; 2013: Microbial biogeography and what Baas Becking should have said. *Microbiol. Today* 40: 109–111.
- VAN DER GAST, C.J., 2015: Microbial biogeography: the end of the ubiquitous dispersal hypothesis? *Environ. Microbiol.* 17: 544–546.
- WRIGHT, S., 1943: Isolation by distance. *Genetics* 28: 114–138.

## Abstract

### Soil – a valuable resource for genetic diversity

Soils are essential for the functioning of all terrestrial ecosystems. They are complex and dynamic biological systems harbouring a vast diversity of organisms from all domains of life. Microorganisms in their immense variety – including bacteria, archaea and eukaryotic microorganisms such as fungi and protists – make up most of this biodiversity and regulate virtually every biogeochemical cycle on Earth. In a time of global change and massive anthropogenic influences on the soil system, it becomes increasingly important to protect this resource. Conservation genetics aims at understanding origin and dynamics of biodiversity and the associated processes in order to preserve and protect this resource. Because of their inconspicuousness and the methodological limitations to study them in the environment, microorganisms have long been neglected to be included in the theories of conservation genetics. Here, we discuss how macro-ecological principles of conservation genetics can be applied to soil microorganisms in order to understand their community composition in the context of environmental change.

**Keywords:** soil microorganisms, microbiome, genetic resources, conservation genetics, landscape genetics, global change, forest ecosystems, disturbances



# Werkzeugkasten für genetische Methoden in der Biodiversitätsförderung

Robert Meier<sup>1</sup> und André Stapfer<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ARNAL, Büro für Natur und Landschaft AG, Kasernenstrasse 37, CH-9100 Herisau

<sup>2</sup> HSR Hochschule für Technik Rapperswil, Oberseestrasse 10, CH-8640 Rapperswil  
andre.stapfer@hsr.ch, robert.meier@arnal.ch

**In Zusammenarbeit mit dem Bund und verschiedenen Kantonen entwickelt ein Team von Forschenden und Partnern aus der Wirtschaft ein «Werkzeugset Naturschutzgenetik» zuhanden der Naturschutzpraxis. Dieses soll zukünftig bei der Förderung der Populationen und Vernetzung der Lebensräume dazu beitragen, die Biodiversitätsförderung in der Schweiz wirksamer zu machen. Hauptbestandteil des angestrebten Werkzeugkastens sind bezüglich Aufwand und Ertrag erprobte, transparente Workflows für das Sammeln von Proben im Feld und für die Analyse und Auswertung im Labor. Das gezielte Ausrichten auf eine Optimierung der Kosten und auf für den Naturschutz relevante Fragestellungen soll dazu beitragen, das Potenzial der genetischen Methoden für den Alltag im Naturschutz besser nutzbar zu machen und die Naturschutzgenetik in der Praxis zu etablieren. Der Artikel beschreibt den aktuellen Zwischenstand des bis Herbst 2018 laufenden Projekts.**

## 1 Genetik, eine Chance für die Biodiversitätsförderung

Gemäss einer Studie der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL, von Pro Natura und dem Forum Biodiversität (ISMAIL *et al.* 2009) investieren Bund und Kantone jährlich rund 73 Mio. CHF in die Erhaltung und die Aufwertung der Biotop von nationaler Bedeutung. Zusammen mit den Aufwendungen für kantonale und lokale Lebensräume und für Artenschutzmassnahmen sowie den Biodiversitätsbeiträgen der Direktzahlungen des Bundesamtes für Landwirtschaft (BLW 2016) betragen die jährlich in der Schweiz getätigten Investitionen zur Erhaltung und Förderung der Biodiversität zurzeit über CHF 500 Mio. Auf den ersten Blick ist dies eine beachtliche Summe, sie entspricht aber lediglich zwischen 0,25 und 0,3 Prozent der jährlichen Staatsausgaben.

Die Aufgabe, die Mittel möglichst wirksam und am richtigen Ort einzusetzen, gilt für alle Tätigkeiten des Staates, stellt aber beim Naturschutz angesichts der beschränkten Mittel und des gleichzeitig grossen Handlungsbedarfs eine besonders grosse Herausforderung dar. Instrumente wie Inventare, Rote Listen oder Erfolgskontrollen unterstützen dabei das Setzen von Prioritäten

und helfen, die Massnahmen wirksamer zu machen. Hinzu kommt, dass im Rahmen der Einführung der wirkungsorientierten Verwaltung in den letzten Jahren Wirkungs- und Zielkontrollen sowie die damit verbundene Berichterstattung auch im Naturschutz zur Pflicht geworden sind. Diese Vorgaben bedingen einerseits aussagekräftige und gleichzeitig kostengünstige Methoden zur Erfassung der an einem Ort vorkommenden Tier- und Pflanzenarten. Andererseits müssen auch Prozesse beurteilt werden. Insbesondere bei der Vernetzung von Biotopen ist über die Wirkung der getroffenen Massnahmen immer noch wenig bekannt. Die zu beantwortenden Fragen sind mit konventionellen Datenerhebungen oft nur aufwändig oder gar nicht zu beantworten. Auch das 2016 vom Bundesamt für Umwelt publizierte «Forschungskonzept Umwelt für die Jahre 2017–2020» (BAFU 2016) sieht deshalb als prioritäres Thema beim Bereich Biodiversität die «Optimierung der Monitoringmethoden für Arten und Lebensräume [und] Erfolgskontrollen von Massnahmen zur Förderung der Biodiversität» vor. Der Bedarf an standardisierten Methoden, die qualifizierte und zahlbare Resultate liefern, ist also gross, und genetische Methoden haben hier ein nach wie vor nicht ausgeschöpftes Potenzial. Die in den letzten Jahren zunehmend

angewandten genetischen Methoden zum Artnachweis mittels DNA-Barcoding sowie zur Erforschung des Wanderverhaltens von Arten mittels Mikrosatelliten haben gezeigt, dass die Anwendung der Genetik die Naturschutzpraxis in den Bereichen Artbestimmung und Vernetzung wesentlich unterstützen kann (HOLDEREGGER und SEGELBACHER 2016). Neue Entwicklungen wie z.B. das Next Generation Sequencing erlauben es, sehr grosse Datenmengen für vergleichbar geringe Kosten zu analysieren, sodass beispielsweise über DNA-Barcoding nicht nur einzelne Arten, sondern ganze Artengemeinschaften untersucht werden können. Der Aktionsplan zur Biodiversitätsstrategie des Bundesrates (Stand 2013) weist deshalb auf das Potenzial genetischer Methoden für die Biodiversitätsförderung hin und möchte den Zugang der Biodiversitätsforschung und der Naturschutzpraxis zu diesen neuen Technologien fördern (CORDILLOT 2017, in diesem Band).

## 2 Ein Werkzeugkasten für die Praxis – Routine als Ziel

Die in der Schweiz existierenden genetischen Labors haben sich in den letzten Jahren mit wenigen Ausnahmen mit anderen, für die Biodiversitätsförderung oder den Naturschutz nicht relevanten Fragestellungen beschäftigt. Eigene Erfahrungen – die Autoren dieses Artikels sind seit über zwei Jahrzehnten in der Naturschutzpraxis tätig – zeigen, dass sich die Anwendung genetischer Methoden in der Naturschutzpraxis auch heute noch fast ausschliesslich auf Einzelfälle beschränkt. Bei diesen handelt es sich zumeist um in Zusammenarbeit mit Forschungsinstitutionen durchgeführten und von diesen publizierten Untersuchungen. Im Rahmen des vom Bundesamt für Umwelt

und der WSL lancierten Projektes «Wirkungskontrolle Biotopschutz Schweiz» werden testweise genetische Methoden für Untersuchungen in den Amphibienlaichgebieten von nationaler Bedeutung eingesetzt (BÜHLER und DUBEY 2017, in diesem Band). Dies in Zusammenarbeit mit der Koordinationsstelle für Amphibien- und Reptilienschutz KARCH. Deshalb waren sich auch die Teilnehmenden des «1<sup>st</sup> Annual Meeting in Conservation Genetics» vom Januar 2015 an der WSL einig, dass der Stand der Forschung zwar soweit fortgeschritten sei, dass sich die Anwendung genetischer Methoden für verschiedenste Bereiche der Biodiversitätsförderung anbiete. Es fehle jedoch der letzte entscheidende Schritt: Die konkrete Implementierung der neuen Methoden in einfachen und leicht zugänglichen Arbeitshilfen für die Naturschutzpraxis.

Das vorliegende Projekt soll einen Beitrag leisten, diese Lücke zu schließen. Ziel des Projekts ist die Entwicklung eines Sets von Hilfsmitteln – eines

«Werkzeugkastens» – bestehend aus erprobten, praxistauglichen, auf genetischen Methoden basierenden Arbeitsabläufen («workflows»), damit Naturschutzbehörden und Ökobüros dieses grosse Potenzial bei ihrer Arbeit verstärkt nutzen (siehe auch: [www.arnal.ch/leistungen/naturschutzgenetik.htm](http://www.arnal.ch/leistungen/naturschutzgenetik.htm)). Der Werkzeugkasten soll dem Anwender möglichst transparent aufzeigen, für welche Fragestellungen sich zu welchem Preis welche genetischen Methoden eignen und welche Antworten zu erwarten sind.

Projekt- und Produktrahmen sind vorerst aber bewusst eng gehalten. Das Produkt beschränkt sich auf das Lösen ausgewählter, für die Effizienz der täglichen Naturschutzarbeit besonders wichtiger und häufig wiederkehrender Fragestellungen, für die die Anwendung genetischer Methoden einen Mehrwert bringt. Ein Set von solchen, sich im Naturschutzalltag häufig stellenden Fragen und die für die Untersuchungen ausgewählten Indikatorarten bildet die obers-

te «Schublade» des Werkzeugkastens. Das Projekt, auf den raschen Erfolg der erarbeiteten Produkte bei potenziellen Anwendern (Bund, Kantone, Ökobüros) ausgerichtet, soll letzteren das Potenzial der neuen Methoden aufzeigen und dazu beitragen, die Naturschutzgenetik in der Praxis zu implementieren. Die Projektinitianten sind überzeugt mit ihrem Projekt eine verstärkte Anwendung der neuen Methoden auslösen und dadurch einen Beitrag an die effiziente Förderung der Biodiversität in der Schweiz leisten zu können. Im Detail hat das Projekt folgende zwei Teilprodukte im Fokus:

#### **Workflow «Verbund»**

- Evaluation eines erweiterbaren Sets an Indikatorarten zu vorgängig formulierten, für die Praxis besonders relevanten und häufig wiederkehrenden Fragestellungen im Bereich der Vernetzung.
- Evaluierung von geeigneten genetischen Analysemethoden (inkl. Entwicklung und Festlegung von Mikrosatelliten-Markern) zu ausgewählten Indikatorarten.
- Entwicklung eines möglichst kostengünstigen und praxistauglichen Workflows, der alle Teilarbeiten von der Probenahme im Feld über die Arbeiten im Labor und der statistischen Auswertung bis zur Interpretation der Resultate und die benutzerfreundlichen Darstellung der Ergebnisse umfasst.

#### **Workflow «Arterkennung in Gewässern»**

- Evaluation eines erweiterbaren Sets an Indikatorarten zu vorgängig formulierten, für die Praxis besonders relevanten und häufig wiederkehrenden Fragestellungen im Bereich der Förderung der Artenvielfalt in Gewässern. Das Projekt legt – gestützt auf eine Bedürfnisabklärung bei den Kantonen – den Schwerpunkt auf Amphibien in Stillgewässern.
- Evaluierung von geeigneten genetischen Analysemethoden (inkl. Festlegung des Sammelprotokolls für Umwelt-DNA, eDNA, und Entwicklung der Barcoding-Marker) zur genetischen Erkennung der ausgewählten Zielarten.
- Entwicklung eines möglichst kostengünstigen und praxistauglichen



Abb. 1. Die Abbildung visualisiert das mit dem vorgestellten Projekt angestrebte Produkt. Der zu entwickelnde und erweiterbare «Werkzeugkasten Naturschutzgenetik» soll der Praxis dank genetischen Methoden aussagekräftige Antworten auf für die Biodiversitätsförderung relevante Fragestellungen liefern, dies dank transparenten und bezüglich Aufwand und Aussagekraft optimierten Workflows zu einem relativ kostengünstigen Preis.

Workflows, der alle Teilarbeiten von der Probenahme im Feld über die Arbeiten im Labor und der statistischen Auswertung bis zur Interpretation und benutzerfreundlichen Darstellung der Ergebnisse umfasst. Bei den genetischen Analysemethoden steht das sich rasant entwickelnde Next Generation Sequencing im Vordergrund.

Das Projekt ist gemäss den Vorgaben der Kommission für Technologie und Innovation des Bundes KTI (ab 2018: Innosuisse) organisiert, die den Aufbau des Werkzeugkastens Naturschutzgenetik finanziell unterstützt. Die Entwicklung der Workflows «Verbund» (Mikrosatelliten) und «Arterkennung in Gewässern» (eDNA) erfolgt in enger Zusammenarbeit von Forschungs- und Wirtschaftspartnern.

Mit finanzieller Unterstützung des Bundesamtes für Umwelt BAFU ermöglichen über 10 kantonale Naturschutzfachstellen mittels Aufträgen das Testen der Projektentwicklungsschritte in konkreten Aufgabenstellungen. Basierend auf den gewonnenen Erfahrungen werden die angestrebten standardisierten Abläufe bei der Beprobung im Feld, der genetischen Analyse im Labor sowie der Auswertung und Interpretation laufend optimiert.

### 3 Die einzelnen Werkzeuge

#### 3.1 Workflow «Verbund» – Fragenkatalog, Arten- und Lebensraumset

Die Fragmentierung und Isolation von Lebensräumen gilt neben dem Lebensraumverlust und den invasiven Neobiota als eine der Hauptursachen für den Rückgang der Biodiversität. Aus diesem Grund ist der Biotop-Verbund eine wichtige Naturschutzstrategie in der Schweiz. Zahlreiche Konzepte, Programme und Einzelprojekte in den Kantonen haben das Verbinden der zumeist kleinräumigen Schutzgebiete mittels Anlegen von linearen Elementen und flächigen Trittsteinen zum Ziel. Auch verschiedene Bundesämter beschäftigen sich mit dieser Thematik: Das Bundesamt für Landwirtschaft fördert mit Vernetzungsprojekten den Bio-

Tab. 1. Die Workflows des Werkzeugkastens «Verbund» werden anhand der fünf für die vertiefte Bearbeitung ausgewählten Arten entwickelt.

Art	Leitartfunktion für:	Verbreitung
<i>Melittis melissophyllum</i> Immenblatt	Lichte, wärmeliebende Wälder: z.B. Orchideen-Buchenwald, Flaumeichenwald, Pfeifengras-Föhrenwald	Jurabogen, Mittelland nahe Jura, Tessin
<i>Stethophyma grossum</i> Sumpfschrecke	Feuchtgebiete: z.B. Flachmoore, Seggenrieder, Feuchtwiesen	Ganze Schweiz (Tessin nur spärlich)
<i>Metrioptera bicolor</i> (= <i>Bicolorana bicolor</i> ) Zweifarbige Beisschrecke	Trockenwarme, langgrasige Wiese: vorwiegend Halbtrocken- und Trockenrasen	Jurabogen von Genf bis Schaffhausen, Bündner Rheintal und Tessin. Im Mittelland sind die Vorkommen verstreut
<i>Zebrina detrita</i> Zebraschnecke, Weisse Turmschnecke	Offene Bodenstellen in warmen Lagen: z.B. an trockenen Böschungen, in Magerwiesen und in Grubenhabitaten	Warme Tallagen zwischen Schaffhausen und Genf, Unterengadin und Wallis
<i>Bombina variegata variegata</i> Gelbbauchunke	Warme, flache, temporär wasserführende Kleingewässer: z.B. in Auen, feuchten Wäldern, Abbaurealen und Deponien mit Feuchtstellen	Auf der ganzen Alpennordseite bis gegen 700 m ü. M.



Abb. 2. Die Abbildung zeigt die Arbeitsteilung der am Projekt beteiligten Partner. HSR: Hochschule für Technik Rapperswil/Institut Landschaft und Freiraum; WSL: Eidgenössische Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft; Uni ZH: Universität Zürich, Institut für Evolutionsbiologie und Umweltwissenschaften; ARNAL AG: ARNAL, Büro für Natur und Landschaft AG, Herisau; Microsynth AG: Microsynth AG und ecogenics GmbH, Balgach.

topverbund, das Bundesamt für Strassen ist in die Sanierung der Wildtierkorridore involviert, und vom Bundesamt für Umwelt wurden Projekte wie das Nationale Ökologische Netzwerk REN,

das Pilotprojekt Ökologische Infrastruktur in den Parks oder die Längsvernetzung der Gewässer initiiert beziehungsweise finanziell unterstützt. In der Strategie «Biodiversität Schweiz»

des Bundesrates von 2012 ist der Aufbau einer «Ökologischen Infrastruktur» – also eines schweizweiten Biotopverbundsystems – ein zentrales Element. Die im Jahr 2007 vom Forum Biodiversität Akademie der Naturwissenschaften Schweiz SCNAT durchgeführte Tagung «Biologische Vernetzung zwischen Theorie und Praxis» hat klar vor Augen geführt, dass es an Erkenntnissen zur Zerschneidung/Fragmentierung von Lebensräumen und zum Erfolg von umgesetzten Vernetzungsprojekten mangelt. Eine wichtige Ursache dafür ist, dass auch heute noch viele Fragen bei der Vernetzung offen sind. Vernetzung als gewichtige Strategie in der aktuellen und zukünftigen Schweizer Naturschutzpolitik und der durch wissenschaftliche Untersuchungen belegten grossen Mehrwert, den genetische Methoden bei der Evaluation von Vernetzungsmassnahmen erbringen können, waren ausschlaggebend, dass sich ein Teilprojekt des Werkzeugkastens auf die Vernetzungs-Thematik fokussiert. Folgende weitere Überlegungen grenzten dabei das Vorgehen weiter ein:

1) das Teilprojekt «Verbund» ist auf **wichtige, sich häufig stellende Fragen** in der Umsetzung von Vernetzungsmassnahmen ausgerichtet, für deren Beantwortung sich genetische Methoden besonders gut eignen. Einige Beispiele solcher Fragen sind:

#### Findet zwischen zwei Kerngebieten genetischer Austausch statt?

- Sind die benachbarten Kerngebiete X, Y und Z miteinander vernetzt oder ist die Anlage von zusätzlichen Vernetzungselementen notwendig?
- Wie gut sind artenreiche Trockenstandorte im Untersuchungsgebiet vernetzt?

#### Funktionieren umgesetzte Massnahmen zur Vernetzung?

- Trägt das neu aufgewertete Gebiet zur Vernetzung der beiden Kerngebiete A und B bei?
- Führen als geeignet betrachtete Vernetzungselemente zwischen den Kerngebieten tatsächlich zur Vernetzung und welche Empfehlungen lassen sich für die Umsetzung weiterer Massnahmen ableiten?
- Von welchem bisher isolierten Kerngebiet aus hat die Kreuzkröte den

Weg zum neuen Trittsteingewässer gefunden? Welche Empfehlungen für eine Optimierung der Vernetzung, bzw. den Aufbau einer starken Metapopulation bieten sich an?

#### Findet zwischen zwei Populationen ein genetischer Austausch statt?

- Ist die Population der Art X im Gebiet Y isoliert oder in Verbindung mit der benachbarten Population?
- Welche im Gebiet X bekannten Sumpfschreckenvorkommen sind miteinander vernetzt, beziehungsweise welche Populationen können als Teil welcher Metapopulation angesprochen werden? Wo bietet sich in diesem Gebiet die Schaffung

weiterer Vernetzungselemente an? 2) als **Indikatoren** dienen verbreitete, mittelhäufige Arten mit Leitartfunktion für Lebensräume, die im Biotopenschutz und bei der Biotopvernetzung in der Schweiz eine wichtige Rolle spielen.

Aus der aufgrund der vorgängig dargestellten Auswahlkriterien entstandenen Leitartenliste wurden stellvertretend und abgestimmt auf die vorhandenen Projektressource, fünf Indikatorarten für das Entwickeln der Workflows im Feld und im Labor ausgewählt. Zusätzliche Vorgaben für die Auswahl dieser fünf Arten waren:

- mindestens je eine Tier- und Pflanzenart

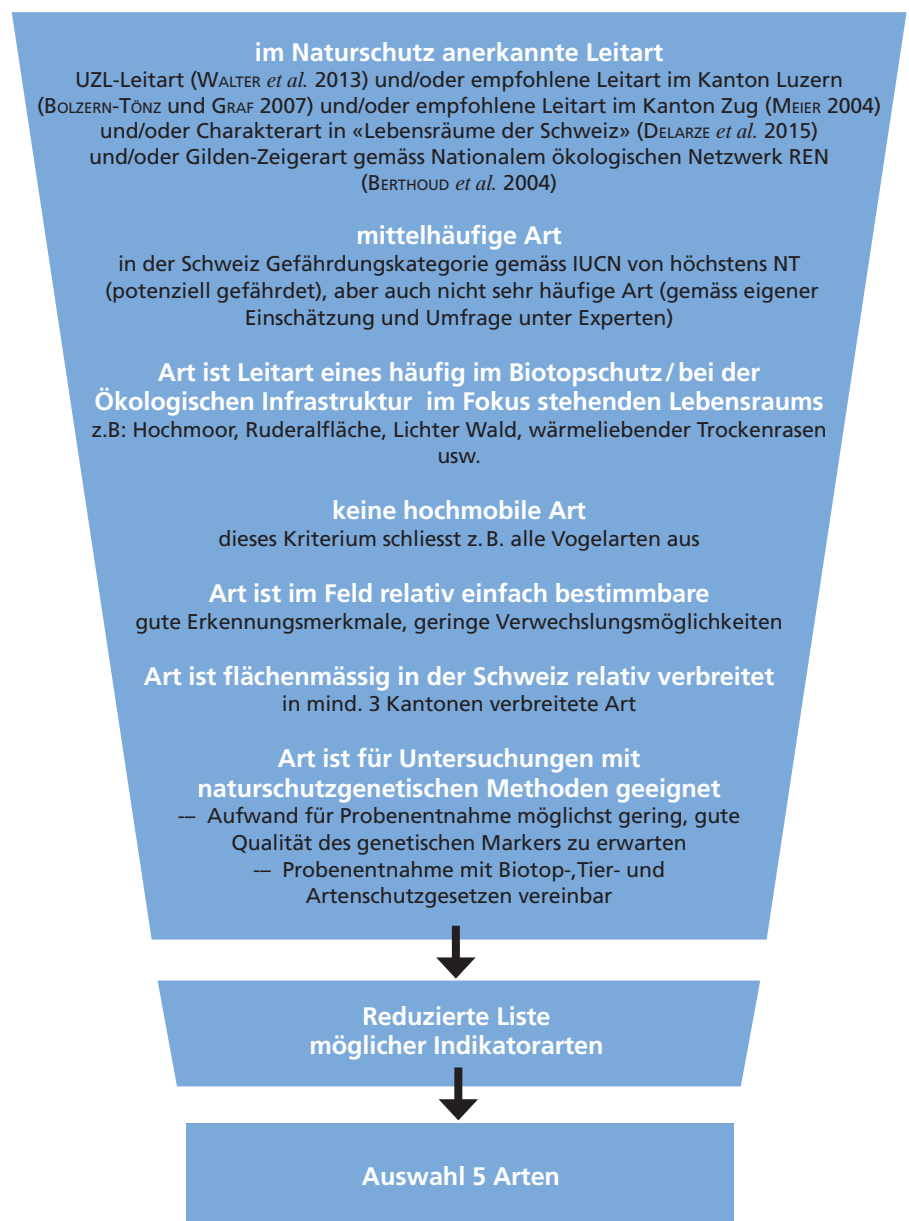


Abb. 3. Kriterien für die Auswahl der Indikatorarten für den Workflow «Verbund».

- Art, die sich für die Beantwortung der konkreten Fragestellungen der am Projekt beteiligten Kantone eignet
- Vertreter von möglichst unterschiedlichen Artengruppen und Leitarten von unterschiedlichen naturschutzrelevanten Lebensräumen

Ziel ist, dass das anhand dieser fünf Arten entwickelte Vorgehen – Probenahme im Feld, Entwicklung der genetischen Methode (Mikrosatelliten Marker), statistische Analyse und Interpretation – möglichst ohne Anpassungen auch für die anderen Arten der Indikatorenliste zum Workflow «Verbund» oder auch für ganz andere Arten verwendet werden kann. Da in den Kantonen im Artenschutz immer auch besonders seltene Arten im Fokus stehen, wurde stellvertretend die Bearbeitung einer Fragestellung zur endemischen Nidwaldner Haarschnecke (*Trochulus biconicus*) in das Projekt aufgenommen. Für solche sehr seltene Arten ist es schwierig, allgemein gültige Workflows zu definieren.

### 3.2 Workflow «Arterkennung in Gewässern» – Fragenkatalog, Arten- und Lebensraumset

Das Projekt beschränkt sich bei diesem Workflow auf die Arterkennung der sich in der Schweiz regelmässig in Stillgewässern fortpflanzenden Amphibien. Folglich wurden in einem ersten Schritt für alle Amphibienarten der Schweiz mit Ausnahme des Alpensalamanders die genetischen Marker festgelegt (siehe detaillierte Informationen in SCHMIDT und GRÜNIG 2017, in diesem Band).

Amphibien haben in der Schweiz sowohl im Biotop- als auch im Artenschutz einen besonders hohen Stellenwert. Zudem liegen zu einzelnen Vertretern dieser Artengruppe schon Erfahrungen mit der Anwendung naturschutzgenetischer Methoden vor und es ergeben sich Synergien mit dem in den Amphibienlaichgebieten von nationaler Bedeutung laufenden Projekt «Wirkungskontrolle Biotopschutz Schweiz» (siehe oben).

In der Startphase des Projekts wurden auch die Bearbeitung der Libellen sowie die Entwicklung eines Nach-

weises für Fischvorkommen und von Amphibien-Krankheitserregern diskutiert, jedoch aufgrund der eingeschränkten Projektressourcen zurückgestellt.

1) Beispiele von **Fragestellungen** für den Workflow «Arterkennung in Gewässern».

- Kommen im Gewässer Amphibien vor und wenn ja, welche Arten?
- Leben im Gewässer noch Arten, etwa seltene Molche, die mit klassischen Feldbegehungen nicht erfasst wurden?
- Welche Vertreter des Wasserfroschkomplexes sind im Gewässer feststellbar?
- Wurde das für die Kreuzkrötenförderung neu erstellte Trittsteingewässer von der Kreuzkröte angenommen?

### 3.3 Methoden für die Felderhebungen

#### eDNA-Probenahme in Stillgewässern

Die Felderhebungen respektive Probenahmen für die eDNA-Analysen unterstehen besonderen Rahmenbedingungen. So gilt es, mit geeigneten Massnahmen die Kontamination des Probematerials (insbesondere auch durch humane DNA) zu vermeiden. Daher werden alle Probenahme-Materialien, wenn immer möglich, nur einmal verwendet (u.a. PET-Flaschen), für die Arbeiten Handschu-

he getragen und das speziell entwickelte Probenahme-Werkzeug zwischen jeder Probenahme trocken gereinigt.

Weiter gilt es bei der eDNA-Probenahme zu beachten, dass die DNA nach einer gewissen Zeit abgebaut wird (etwa zwei Wochen). Generell ist dem DNA-Abbau Rechnung zu tragen, indem die Proben einerseits in einem geeigneten Medium (Puffer) und bei tiefen Temperaturen gelagert werden. So werden nach der Probenahme die Röhrchen (Tubes) in einer Isolierbox mit Kühlelementen aufbewahrt und innerhalb von zwei Tagen ins Labor gebracht. Eine längere Lagerung bis zu mehreren Tagen vor dem Transport ins Labor ist in einem Tiefkühler (-20°C) möglich.

Für die Probenahme in Stillgewässern wurde zwischen Gewässerkomplexen beziehungsweise grösseren Gewässern (Weiher, Teich) und kleineren Gewässern (Tümpel) differenziert. So können bei kleinen Gewässern Einzelproben genommen werden, während bei grösseren Gewässern «gepoolte» Probenahmen erfolgen.

#### Einzelproben

Bei Kleinstgewässern werden die Wasserproben direkt entnommen. Dazu wird zunächst ein offenes Probenahme-Röhrchen (50 ml) in der Klemme des Probenahmewerkzeugs fixiert. Das Röhrchen wird nun an der ausgewählten Probenahme-Stelle in etwa 1 m



Abb. 4. Die Probenahme von eDNA im Feld benötigt spezielles Feldmaterial beziehungsweise Chemikalien. Dabei wird der Verwendung von «Einwegmaterialien» besondere Bedeutung beigemessen.

Entfernung zum Ufer und einer Tiefe von etwa 10 cm vollständig mit Wasser gefüllt. Danach wird der Inhalt des Röhrchens bis auf 15 ml ausgeleert, um dann mit der Pufferlösung wieder auf 50 ml aufgefüllt zu werden. Zum Schluss wird die Probe mit den entsprechenden Kenndaten beschriftet (z.B. Datum, Objekt, Nummer Probenahme-Ort usw.).

**Gepoolte Proben**

Bei grösseren Gewässern oder Gewässerkomplexen werden an drei bis rund sechs Stellen Wasserproben entnommen. Die Anzahl der Probenahmestellen wird vor Ort (bzw. vorgängig im Luftbild) abgeschätzt. Folgende Grössenangaben dienen als Richtwerte:

- <50 m<sup>2</sup> = 2 Probenahmestellen
- 50–500 m<sup>2</sup> = 3–4 Probenahmestellen
- >500 m<sup>2</sup> = >5 Probenahmestellen

Für die Probenahmen wird ein offenes Röhrchen (50 ml) in der Klemme des Probenahmewerkzeugs fixiert. Das Röhrchen wird bei den Probenahmestellen in etwa 1 m Entfernung zum Ufer und einer Tiefe von etwa 10 cm mit Teichwasser vollständig gefüllt. Diese 50 ml werden danach in eine PET-Flasche (z.B. 0,75l) abgefüllt. Dieses Vorgehen wird an jeder Probenahmestelle durchgeführt (max. 300 ml bei 6 Probenahmestellen).

Sind alle Wasserproben an den Probenahmestellen entnommen, wird die PET-Flasche mit der gepoolten Probe

verschlossen und geschüttelt. Danach werden in ein Probenahme-Röhrchen (50 ml) 15 ml der Wasserproben abgefüllt und mit Puffer aufgefüllt. Zum Schluss wird die Probe mit den entsprechenden Kenndaten beschriftet (siehe oben). Die PET-Flasche wird nur einmal verwendet.

**DNA-Probenahme für den Workflow «Verbund»**

Für die Fragestellungen des Workflows «Verbund» wird vorgängig das Beprobungsdesign festgelegt. Dabei gilt es, die Populationen beziehungsweise Teilpopulationen abzuschätzen, um festzulegen, in welchen Gebieten jeweils die Probenahme zu erfolgen hat (abhängig von der geographischen Verbreitung der Indikatorart und der Fragestellung). In der Regel werden pro Standort zwischen 10 und 20 Individuen beprobt. Welches DNA-enthaltende Material gesammelt wird, ist organismen- oder sogar artspezifisch.

**Fallbeispiel «Gelbbauchunke»**

Pro Gebiet werden zwischen 12 und 14 Individuen beprobt. Die Gelbbauchunken werden eingefangen und von jedem Individuum werden zwei Schleimhautabstriche entnommen. Die Beprobung erfolgt so, dass mit einem Plektrum (Plättchen, das bei Zupfinstrumenten zum Einsatz kommt; wird hier nur einmal verwendet) das Maul der Tiere geöffnet und danach ein zuvor steril versiegeltes Wattestäbchen an Wange und Zunge der Tiere befeuchtet wird. Die Wattestäbchen werden für die Laboranalyse in ein leeres Probenahme-Röhrchen gesteckt, welches mit den nötigen Kenndaten versehen ist.

**Fallbeispiel «Immenblatt»**

Pro Gebiet werden 20 Individuen beprobt. Eine Probenahme umfasst – abhängig von der Blattgrösse – 2 bis 4 junge, gesunde Blätter pro Pflanze. Die Blätter werden für das Labor in einem Couvert mit den Kenndaten bereitgestellt und im Tiefkühler gelagert.

**Fallbeispiel «Sumpfschrecke»**

Pro Gebiet werden 20 Individuen beprobt. Für die Probenahme muss den Tieren ein Bein abgetrennt werden. Das Bein wird für das Labor in einem Probengefäss mit reinem Alkohol bereitge-

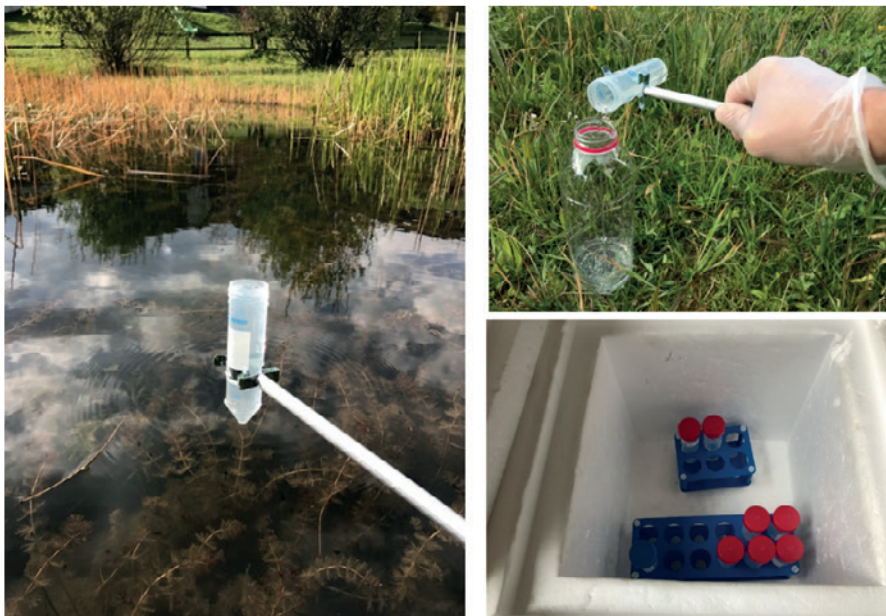


Abb. 5. Beprobung eines Gewässers.

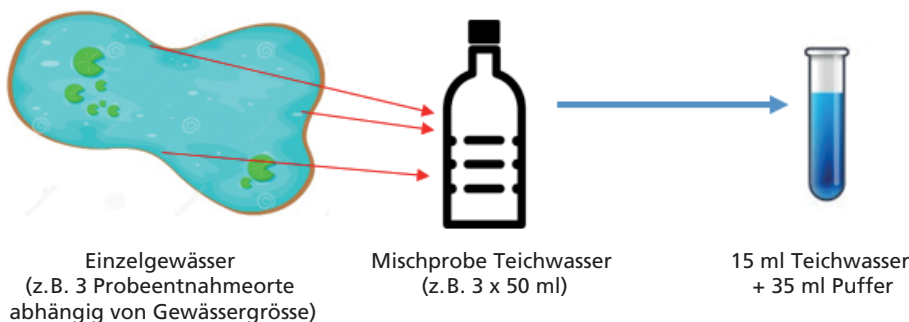


Abb. 6. Gepoolte Probenahme (Mischprobe) bei grösseren Gewässern und Gewässerkomplexen.





Abb. 7. Laichgewässer, Gelbbauchunke und Entnahme einer Schleimhautprobe.

stellt, mit den Kenndaten versehen und kühl gelagert. Untersuchungen zeigen, dass die Tiere durch die Entnahme von Beinen nicht wesentlich beeinträchtigt werden (MARSCHALEK *et al.* 2013).

#### Fallbeispiel «Nidwaldner Haarschnecke»

Bei dieser seltenen, endemischen Art kann das Ziel, möglichst nicht destruktive Sammelmethode anzuwenden, nicht erreicht werden: Aus den leeren Schneckenhäuschen lässt sich keine DNA genügender Qualität gewinnen, und Schleimabstriche sind wegen der Kleinheit der Schnecke nicht möglich. Pro Gebiet werden deshalb höchstens 10 Individuen beprobt. Für die DNA-Probenahme müssen die Schnecken getötet werden. Die Tiere werden für das Labor in Röhrchen mit den Kenndaten in reinem Alkohol bereitgestellt, kühl gelagert und anschliessend tiefgekühlt.

#### 3.4 Workflows im Labor und statistische Auswertungen

Betreffend der DNA-Extraktion werden herkömmliche Methoden verwendet. Das methodische Vorgehen für die eDNA-Analyse mittels DNA-Barcoding bei Amphibien stellen SCHMIDT und GRÜNIG (2017) in diesem Band genauer vor. Die im Projektteil «Verbund» verwendeten Mikrosatelliten-Labormethoden entsprechen ebenfalls gängigen Standards (HOLDEREGGER und SEGELBACHER 2016).

Beim Workflow «Amphibienbestimmung in Stillgewässern mittels eDNA»

werden die im Labor erhaltenen Barcoding-DNA-Sequenzen mit einer Referenzdatenbank verglichen, in der die betreffenden DNA-Sequenzen sämtlicher in der Schweiz vorkommender Amphibienarten enthalten sind. Durch diesen Vergleich kann bestimmt werden, welche Amphibienarten in einem Gewässer vorkommen.

Betreffend dem Workflow «Verbund» sind die genauen Labormethoden für die Mikrosatelliten-Analyse, aber insbesondere die statistischen Auswertungen für den Routinebetrieb zurzeit noch in Bearbeitung.

#### 4 Erste Erkenntnisse und Resultate

Im Vergleich zum Workflow «Verbund» ist der Bearbeitungsstand beim Workflow «Arterkennung in Gewässern» bereits deutlich fortgeschrittener. Zur Zeit liegen erste Ergebnisse und Erkenntnisse zur eDNA-Analyse vor. So liess sich bei mehreren mit der eDNA-Methode beprobten Gewässern ein Mehrwert an Information gegenüber herkömmlichen Feldmethoden erzielen, indem unter anderem versteckt lebende Arten wie der Kammolch mit eDNA in manchen Gewässern nachgewiesen werden konnten. Arten wie der Kammolch können bei herkömmlichen Amphibien-Datenerhebungen (Sichtbeobachtung, akustische Erhebung) leicht übersehen werden. Auch Arten, welche vor der eDNA-Probenahme ein Gewässer verlassen hatten, liessen sich ein bis zwei

Wochen später noch mit eDNA nachweisen, da DNA während diesem Zeitraum im Gewässer erhalten bleibt (SCHMIDT und URSENBACHER 2015). Ein weiterer Vorteil von eDNA-Erhebungen besteht darin, dass sich schwierig zu unterscheidende Arten (z.B. die Weibchen von Faden- und Teichmolch) oder Arten im Larvenstadium sicher bestimmen lassen. Auch vereinfacht diese Nachweismethode die Feldarbeit, da sie nicht in der Nacht durchgeführt werden muss. Dies bedeutet aber keineswegs, dass die Beprobungen ohne Fachkenntnisse über Amphibien und deren Lebensräumen durchgeführt werden können. Dieses Wissen ist zum Beispiel wichtig, um die Probenahmestellen sinnvoll auszuwählen. Werden Nachweise nur gestützt auf eDNA-Erhebungen gemacht, ist darauf zu achten, dass sowohl der Anzahl Zeitpunkte für Probenahmen (z.B. März und Mai) als auch der Anzahl Probenahmestellen pro Gewässer (z.B. viele, um den Kammolch sicher nachzuweisen, wenn dieser vorkommt) Beachtung geschenkt werden. Zentral ist auch die Vermeidung von Kontamination im Feld und im Labor, welche zu falschen Resultaten führen kann (siehe oben).

Im Vergleich zu konventionellen Felderhebungen ist davon auszugehen, dass die Kosten für einen Artnachweis mittels eDNA oft tiefer sind und ein ähnlich zuverlässiges Resultat liefern. Zu diesem Ergebnis kommt auch die Studie von SCHMIDT und URSENBACHER (2015).

Als Fazit kann gelten, dass die eDNA-Methode sich gut zum Nach-

Tab. 2. Nachweise von Amphibien 2016 bei einem Weiher (hellgrün = Art mit beiden Methoden festgestellt; gelb = Artnachweis nur mit traditioneller Feldbegehung; rot = Artnachweis nur mit eDNA).

Art	Felderhebung 2016	Resultate eDNA (Probeaufnahmen)		Bemerkungen	
		Reads/Sequenzen	Summe Reads/Sequenzen		
<i>Rana temporaria</i>	Grasfrosch	X	28+244+199	471	
<i>Bufo bufo</i>	Erdkröte	X			
<i>Hyla arborea</i>	Laubfrosch	X	26390+3119+1985	31494	
<i>Pelophlyas</i> sp.	Wasserfrosch-Komplex	X	129+76+9	214	<i>P. bergeri</i>
	Seefrosch	X	30+0+0	30	<i>P. kurtmuelleri ridibundus</i> complex
<i>Ichthyosaura alpestris</i>	Bergmolch	X	463+303+111	877	
<i>Triturus cristatus</i>	Kammolch		66+109+146	321	
<i>Lissotriton helveticus</i>	Fadenmolch	X	49+7+0	56	

weis von Amphibienarten eignet, insbesondere bei versteckt lebenden oder schwierig zu bestimmenden Arten. Es macht allerdings oft Sinn, die eDNA-Methode mit traditionellen Felderhebungen zu kombinieren.

## 5 Literatur

- BAFU, 2016: Forschungskonzept Umwelt für die Jahre 2017–2020. BAFU, Bern. 70 S.
- BERTHOUD, G.; LEBEAU, R.P.; RIGHETTI, A., 2004: Nationales ökologisches Netzwerk REN. BUWAL, Bern. 131 S.
- BLW, 2016: Agrarbericht 2016. BLW, Bern. 460 S.
- BOLZERN-TÖNZ, H.; GRAF, R., 2007: Leitarten für die Lebensräume der 12 Landschaften des Kantons Luzern. Umwelt und Energie Kanton Luzern, Luzern. 15 S.
- CORDILLOT, F., 2017: Bedeutung der Naturschutzgenetik für den Bund. WSL Ber. 60: 63–69.
- DELARZE, R.; GONSETH, Y.; EGGENBERG, S.; VUST, M., 2015: Lebensräume der Schweiz. Ott, Thun. 456 S.
- ISMAIL, S.; SCHWAB, F.; TESTER, U.; KIENAST, F.; MARTINOLI, D.; SEIDL, I., 2009: Kosten eines gesetzeskonformen Schutzes der Biotope von nationaler Bedeutung. WSL; Pro Natura; Forum Biodiversität SCNAT, Birmensdorf, Basel, Bern. 122 S.
- HOLDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G. (Hrsg.), 2016: Naturschutzgenetik. Ein Handbuch für die Praxis. Haupt, Bern. 247 S.
- MARSHALEK, D.A.; JESU, J.A.; BERRES M.E., 2013: Impact of non-lethal genetic sampling on the survival, longevity and behaviour of the Hermes copper (*Lycaena her-*

*mes*) butterfly. Insect Conserv. Div. 6: 658–662.

- MEIER, P., 2004: Rahmenplan LEK, Ziel- und Leitarten im Kanton Zug. Amt für Raumplanung, Baudirektion des Kantons Zug, Zug. 51 S.
- SCHMIDT, B.; GRÜNIG, C., 2017: Einsatz von eDNA zum Amphibien-Monitoring. WSL Ber. 60: 57–62.
- SCHMIDT, B.R.; URSENBACHER, S., 2015: Umwelt-DNA als neue Methode zum Art-

nachweis in Gewässern. Zeitschr. Feldherpetologie 22: 1–10.

- WALTER, T.; EGGENBERG, S.; GONSETH, Y.; FIFAZ, F.; HEDINGER, CH.; HOFER, G.; KLIEBER-KÜHNE, A.; RICHNER, N.; SCHNEIDER, K.; SZERENCSEITS, E.; WOLF, S., 2013: Operationalisierung der Umweltziele Landwirtschaft. Bereich Ziel- und Leitarten, Lebensräume (OPAL). ART Schriftenreihe 18: 1–136.

### Abstract

#### A toolbox for genetic methods in nature conservation practice

In cooperation with the federal government and various Swiss cantons, a team of researchers and partners from the economy develop a “Toolkit Conservation Genetics”. Addressee is the community of conservation practitioners. The toolkit intends to make future efforts to conserve biodiversity more efficient and effective. The main components of the toolbox are transparent and tested workflows for collecting samples in the field and for the analysis and evaluation in the laboratory. Focusing on optimizing costs and on issues relevant to nature conservation should help to achieve the intended goal: To make the potential of genetic methods available and usable for everyday life in nature conservation and to establish conservation genetics in practice. The article describes the current status of the project, which will run until autumn 2018.

Keywords: conservation, ecological infrastructure, eDNA, microsatellites, conservation genetics, , monitoring

# Einsatz von eDNA im Amphibien-Monitoring

Benedikt R. Schmidt<sup>1,2</sup> und Christoph R. Grünig<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Koordinationsstelle für Amphibien- und Reptilienschutz in der Schweiz (Info Fauna Karch), Passage Maximilien-de-Meuron 6, CH-2000 Neuchâtel

<sup>2</sup> Institut für Evolutionsbiologie und Umweltwissenschaften, Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

<sup>3</sup> Microsynth AG, Schützenstrasse 15, CH-9436 Balgach

<sup>4</sup> Ecogenics GmbH, Schützenstrasse 15, CH-9436 Balgach

benedikt.schmidt@unine.ch, christoph.gruenig@microsynth.ch

**Monitoring ist ein unverzichtbarer Teil des Naturschutzes, denn Monitoring informiert über den Zustand der Biodiversität und liefert so die notwendigen Grundlagen für die Evaluation der praktischen Naturschutzarbeit und für die zu ergreifenden Schutzmassnahmen. Während klassische Monitorings mittels Nachweis von Arten oder Artengruppen direkt im Feld durchgeführt werden, sind kürzlich Methoden entwickelt worden, welche Umwelt-DNA (eDNA) für den Artnachweis verwenden. Im vorliegenden Artikel geben wir einen Überblick über eDNA-Methoden und deren Eignung für Monitorings, mit speziellem Fokus auf den Nachweis von Amphibien in Gewässern.**

## 1 Einleitung

Monitoring ist ein unverzichtbarer Teil des Naturschutzes, denn Monitoring informiert über den Zustand der Biodiversität und liefert so die notwendigen Grundlagen für die Evaluation der praktischen Naturschutzarbeit und für die zu ergreifenden Schutzmassnahmen (Yoccoz *et al.* 2001; Weber *et al.* 2004). Grundsätzlich können in einem Monitoringprogramm verschiedene Elemente der Biodiversität (Gene, Arten, Ökosysteme) untersucht werden, wie dies beispielsweise im Biodiversitätsmonitoring Schweiz der Fall ist, aber oft wird nur die Präsenz/Absenz, manchmal auch die Häufigkeit (Abundanz) von Arten in Untersuchungsflächen erfasst. Präsenz/Absenz-Daten reichen für die Zielsetzung vieler Monitoringprogramme aus und sind meist vergleichsweise einfach und kostengünstig zu erheben.

Feldbiologen haben für den Nachweis von Arten eine Vielzahl von Methoden entwickelt, die auf die jeweilige taxonomische Gruppe ausgerichtet sind. Manche Tiergruppen, wie etwa Vögel, können einfach über Sichtbeobachtungen oder Gesang erfasst werden. Manchmal, wie etwa bei Schmetterlingen, sind Sichtbeobachtungen möglich, aber der Fang der Individuen ist notwendig für eine sichere Artbestimmung. Im Falle der Amphibien kann

ein Teil der Arten über Sichtbeobachtungen oder über das Quaken nachgewiesen werden, aber für manche weniger gut nachweisbare Arten (z.B. Molche) ist der Fang mit dem Kescher oder das Stellen von Fallen notwendig. Je nach Aktivität, Phänologie und Lebensweise der Arten erfolgt der Nachweis tagsüber oder es ist Nacharbeit notwendig. Trotz bewährten Methoden ist bekannt, dass nie alle Arten, die an einem Ort vorkommen, entdeckt werden (KÉRY und SCHMIDT 2008). Daher wird versucht, Methoden zu entwickeln, welche die Nachweisbarkeit von Arten verbessern, beziehungsweise bei ressourcenintensiven Erhebungen eine Vereinfachung zu erzielen.

Artnachweis über Umwelt-DNA (eDNA) ist eine relativ neue Methode, die viele Vorteile hat (THOMSEN *et al.* 2012; SCHMIDT und URSENBACHER 2015). Bei eDNA sammelt man beispielsweise eine Wasserprobe in einem Gewässer und untersucht diese dann auf das Vorhandensein von DNA der gesuchten Art (MEIER und STAPFER 2017, in diesem Band). Zudem sind, wie später gezeigt wird, auch eDNA-basierte Methoden vorhanden, welche nicht nur eine, sondern gleichzeitig viele Arten nachweisen können, was aus Monitoring-Perspektive besonders interessant ist. Manche Autoren vertreten die Ansicht, dass eDNA die Erfassung der Biodiversität revolutionieren könne (DEINER

*et al.* 2016). Ein Beispiel aus den USA zeigt das grosse Potenzial des Artnachweises durch eDNA. In Gewässern um Chicago wird intensiv nach invasiven Fischarten gesucht, damit diese nicht in die Grossen Seen gelangen. Zwei der unerwünschten Arten sind der Silberne Tolstolob (*Hypophthalmichthys molitrix*) und der verwandte Gelfleckte Tolstolob (*Hypophthalmichthys nobilis* bzw. *Aristichthys nobilis*). Mit eDNA konnten die Arten nachgewiesen werden, aber es waren anschliessend 93 Personentage Elektrofischerei notwendig, um ein einziges Exemplar dieser grossen Fische zu fangen. Dieses Beispiel zeigt, dass eDNA herkömmlichen Methoden, je nach Kontext, für den Artnachweis überlegen sein kann.

Amphibien standen schon früh im Fokus von Studien zur Anwendbarkeit von eDNA, denn bereits eine der ersten Arbeiten wies den invasiven Amerikanischen Ochsenfrosch (*Lithobates catesbeianus*) mit Hilfe von eDNA nach (FICETOLA *et al.* 2008). Die Publikation von THOMSEN *et al.* (2012) weckte das Interesse an eDNA bei vielen Ökologen; auch diese Arbeit verwendete Amphibien als Modellorganismen (Kammolch [*Triturus cristatus*] und Knoblauchkröte [*Pelobates fuscus*]). Hier beschreiben wir die Anwendung von eDNA als Nachweismethode für Amphibien in stehenden und fliessenden kleinen Gewässern.

## 2 Was ist Umwelt-DNA (eDNA)?

Umwelt-DNA oder eDNA (environmental DNA) bezeichnet Erbsubstanz von Organismen, welche in Umweltproben gefunden wird und nicht mehr direkt einem Individuum zugeordnet

werden kann (BOHMANN *et al.* 2014; SCHMIDT und URSENBACHER 2015; BALDIGO *et al.* 2017). Diese eDNA kann einerseits in freien DNA-Molekülen in der Umwelt vorliegen oder aber immer noch Bestandteil von Zellen sein, welche Lebewesen ausscheiden oder von ihrer Oberfläche verlieren. So ist zum Beispiel bekannt, dass der Mensch rund 40000 verhornte Hautzellen pro Minute verliert. Ebenso werden Zellen von Individuen bei Körperausscheidungen (z.B. Urin, Kot, Drüsenausscheidungen) in die Umwelt abgegeben. Die Ausscheiderate von eDNA dürfte damit einerseits von der Art (Grösse und weitere artspezifische Charakteristika) als auch von der Anzahl Individuen einer Art in einem Gewässer abhängen. Allerdings fehlen dazu noch verlässliche Daten für Amphibien, und unseres Wissens wurden noch keine spezifischen Untersuchungen bei Amphibien durchgeführt, welche die Ausscheiderate von eDNA zwischen Amphibienarten untersucht haben.

Die ausgeschiedene eDNA verbreitet sich danach passiv durch Strömungen in den Gewässern. Dabei ist die eDNA biotischen und abiotischen Umwelteinflüssen ausgesetzt, was zum Abbau der eDNA führt. Dadurch werden die ursprünglich langen DNA-Moleküle zunehmend in kleine Bruchstücke zerteilt oder auch ganz abgebaut. Wie schnell dieser Prozess stattfindet, hängt wesentlich davon ab, wie gut die DNA gegenüber Umwelteinflüssen geschützt ist. So wurde gezeigt, dass Fisch-eDNA in Gewässern während rund 14 Tagen nachweisbar ist, während in Sedimentproben noch nach 132 Tagen nach Entnahme der Fische die entsprechende eDNA nachgewiesen werden konnte (TURNER *et al.* 2015).

Bei der Entnahme von Wasserproben aus einem Gewässer kann die vorhandene eDNA direkt aus dem Wasser gewonnen werden. Dabei werden aus praktischen Gründen relativ kleine Mengen entnommen (einige ml). Mit diesem Verfahren wird neben der freien DNA im Wasser auch DNA isoliert, welche noch in Zellen eingeschlossen ist und als Schwebepartikel im Wasser vorkommt. Als weitere Methode wird oftmals ein Filtrations-schritt verwendet, und die DNA wird aus dem Niederschlag auf dem Filter gewonnen. Bei dieser Methode kön-

nen grössere Mengen Wasser verarbeitet werden. Allerdings geht die freie eDNA verloren, da diese nicht auf dem Filter zurückbleibt. Zudem ist eine Filtration von Wasserproben bei vielen Schwebepartikeln (z.B. Phytoplankton) schwierig, da die feinporigen Filter schnell verstopfen. In beiden Fällen wird die DNA von allen im Gewässer vorkommenden Arten in der Probe gewonnen, also auch DNA von Bakterien, Pilzen, Insekten, Algen, (Wasser-) Vögeln, Fischen und Säugetieren inklusive dem Menschen. Bei einem Monitoringprojekt für Amphibien in Gewässern wird daher nur eine sehr kleine Menge der vorhandenen DNA von Amphibien stammen und damit den Nachweis erschweren.

### 3 Nachweis-Methoden bei eDNA Proben

Da eDNA (normalerweise) in sehr kleinen Mengen und in kurzen DNA-Stückchen vorliegt, erfolgt der Nachweis mittels der Vervielfältigung (Amplifikation) einer kurzen Region auf der DNA (ca. 70–150 Basenpaare), dies analog zur molekularen Diagnostik von Krankheitserregern in der Medizin oder Anwendungen in der Forensik. Je nach wissenschaftlicher Fragestellung können dazu verschiedene Techniken eingesetzt oder kombiniert werden. Dabei sind sowohl methoden-technische Überlegungen wie auch solche zu Kosten entscheidend bei der Methodewahl.

Mithilfe der Polymerasen-Ketten-Reaktion (PCR/quantitative PCR) genannten Methode kann man ausgewählte Regionen der DNA vervielfältigen. Dadurch kann man vereinfacht gesagt eine «vorhanden/nicht vorhanden»-Aussage betreffend dem Vorkommen von Arten machen. Der methodische Ansatz (Assay) kann spezifisch für eine Gattung, Art oder Unterart entwickelt werden. Dabei ist entscheidend, dass der Ansatz validiert ist und unter anderem die Nachweisgrenze oder nicht gewünschte Vervielfältigung von nahe verwandten Arten oder Artengruppen überprüft wird, da diese die Aussagekraft der Ergebnisse beeinträchtigen würden (MACDONALD und SARRE 2017). PCR/qPCR ist insbeson-

dere dann die Methode der Wahl, wenn spezifisch eine oder wenige Arten in eDNA-Proben nachgewiesen werden sollen, da nach der methodischen Entwicklung des Ansatzes die Kosten für die eigentlichen Analysen verhältnismässig gering sind. Ein Beispiel dafür ist der Nachweis des Erregers der Chytridiomykose (der Chytridpilz *Batrachochytrium dendrobatidis*) von Amphibien in Wasserproben (SCHMIDT *et al.* 2013) oder aber der Nachweis nur des Kammmolchs (THOMSEN *et al.* 2012).

Sobald jedoch über die eDNA Aussagen über ganze Artengruppen oder deren Zusammensetzung gemacht werden sollen, so werden kurze Regionen der DNA mittels PCR vervielfältigt und anschliessend mithilfe von Next-Generation Sequencing (NGS) sequenziert (Abb. 1A). Dabei wird der zu vervielfältigende Abschnitt auf der DNA so gewählt, dass seine Enden für die Artengruppe einheitlich sind und dazwischen eine möglichst grosse Vielfalt vorhanden ist, sodass man die einzelnen Arten in der Artengruppe unterscheiden kann. Diese vielfältige Region kann dann als Barcode für die einzelnen Arten dienen (Barcoding; MACDONALD und SARRE 2017; Abb. 1B). Dabei muss aber beachtet werden, dass die einheitlichen Enden nicht zu stark einheitlich sind, da ansonsten alles vervielfältigt wird, also zum Beispiel auch menschliche DNA, welche praktisch in jeder eDNA-Probe in grossen Mengen vorliegt und den Nachweis von Arten beeinträchtigen kann. Zudem sollte der untersuchte Abschnitt möglichst kurz sein (wenn möglich auch in mehreren Kopien pro Zelle vorliegen), damit die Sensitivität der Analyse erhöht wird. Aus diesem Grund liegen viele der gebräuchlichsten Barcoding-Regionen auf der DNA der Mitochondrien (mtDNA), der Ribosomen (rDNA) oder, im Falle der Pflanzen, der Chloroplasten (LITTLE 2014; MEUSINIER *et al.* 2008; BELLEMAIN *et al.* 2010).

Nach der Vervielfältigung des Barcoding-DNA-Abschnitts, werden bei dieser Methode Tausende von einzelnen DNA-Stücken sequenziert. Diese stammen von verschiedenen Arten. Bei den anschliessenden (bioinformatischen) Analysen wird den einzelnen Sequenzen, welche von einer Wasserprobe stammen, durch einen Vergleich

mit einer Referenzdatenbank mit entsprechenden und überprüften DNA-Sequenzen der Artgruppe die Art zugewiesen. Die Referenzdatenbank und die darin abgebildeten Arten (und Artnamen!) sind also enorm wichtig für die Qualität der Analyse. Wenn in der Referenzdatenbank eine falsche Art-Sequenz vorhanden ist, zum Beispiel durch eine falsche Bestimmung, so führt auch die Analyse zu falschen Zuordnungen (Kap. 4).

Ein weiterer Vorteil der eDNA ist, dass, sobald die eDNA-Isolation erfolgt ist, mehrere Analysen durchgeführt werden können, da meist genügend gewonnene DNA vorhanden ist. Damit können je nach Fragestellung mehrere Artengruppen analysiert werden oder ein Einzelarten-Nachweis kann mit einem Multi-Arten-Nachweis kombiniert werden. Dies wäre zum Beispiel dann der Fall, wenn die Amphibien-Gemeinschaft in den Proben ermittelt würde und parallel dazu die Probe auf das Vorkommen des pathogenen Chytridpilzes *Batrachochytrium dendrobatidis* getestet wird oder aber weitere

Artengruppen wie zum Beispiel die Libellen untersucht würden.

#### 4 Herausforderungen bei der Analyse von eDNA-Proben

eDNA hat ihre Stärken, aber auch Schwächen, wie dies mit allen Methoden zum Artnachweis der Fall ist (KÉRY und SCHMIDT 2008). Auch mit eDNA weist man die Zielart oder die Zielarten nicht immer nach, obwohl diese vorkommt (sogennante «falsch-negative»-Befunde; SCHMIDT *et al.* 2013; BOHMANN *et al.* 2014). Die Nachweiswahrscheinlichkeit ist dabei wesentlich von drei Faktoren beeinflusst (bei sonst gleichbleibender Beprobungsstrategie): (i) der Anzahl Individuen im Gewässer und deren räumlichen Verteilung im Gewässer, (ii) der eDNA-Ausscheiderate der Art und (iii) allfälligen Inhibitoren, das sind chemische Substanzen, welche die Vervielfältigung der DNA in der PCR erschweren (z.B. Huminsäuren in Mooreseen).

Während man versucht, durch eine adäquate Beprobungsstrategie im Feld die Punkte (i) und (ii) zu berücksichtigen, wird bei den Laboranalysen bei jeder Probe eine Inhibitionskontrolle durchgeführt, damit man falsch-negative Resultate, welche nur auf PCR-Inhibition beruhen, erkennt (Punkt iii). Die Nachweiswahrscheinlichkeit mittels eDNA ist in der Regel hoch (um 90%), aber nur mit hohem Aufwand nahe bei 100 Prozent (BIGGS *et al.* 2015; VALENTINI *et al.* 2016). Hoher Aufwand bedeutete in einer Studie von BIGGS *et al.* (2015) zum Nachweis von Amphibien zwanzig Wasserproben pro Weiher. Diese Proben wurden gemischt und davon sechs Proben genommen. Anschliessend wurde jede Probe mit 12 qPCRReaktionen analysiert. Alles in allem also ein sehr grosser Aufwand. Der Zusammenhang zwischen Anzahl Individuen und falsch negativen Resultaten konnte durch FICETOLA *et al.* (2008) aufgezeigt werden, da grosse Populationen mit vielen Individuen des Amerikanischen Ochsenfrosches besser nachweisbar waren als kleine Popu-



Abb. 1. Ablauf einer eDNA-Analyse zu einem Artengruppen-Nachweis mittels Next-GenerationSequencing. (A) Nach der Probenahme von eDNA in einem Gewässer wird die gesamte eDNA in der Wasserprobe gewonnen (Extraktion), die Barcoding-Region mittels PCR vervielfältigt (Amplifikation) und dann mittels Next-Generation Sequencing sequenziert. Im Anschluss werden die Daten bioinformatisch ausgewertet und den DNA-Sequenzen die jeweiligen Artnamen (z.B. Amphibienarten) zugewiesen. (B) Aufbau einer Barcoding-Region mit den für die Zielgruppen einheitlichen Enden (hier v.a. rot) und dem sehr vielfältigen Bereich, welcher als Barcode dient (hier v.a. blau und schwarz).

lationen. Daraus ergibt sich, dass mehrere Proben oder eine Mischprobe pro Gewässer auf jeden Fall für einen sicheren Artnachweis notwendig sind beziehungsweise ist.

Ein weiteres Problem, welches bei Kartierungen und Monitoring-Programmen vorkommt, sind falsch-positive Befunde, das heisst der Nachweis einer Art an einem Ort, an dem sie gar nicht vorkommt. Bei den herkömmlichen Methoden kann das passieren, wenn man eine Art falsch bestimmt oder verwechselt bzw. wenn die Feldprotokolle fehlerhaft sind. Falsche Positive wurden auch bei eDNA-Anwendungen diskutiert und nachgewiesen (LAHOZ-MONTFORT *et al.* 2016). Auch wenn die Fehleraten in der Regel klein sind (FICETOLA *et al.* 2015), so können sie doch die aus den Daten abgeleiteten Vorkommen einer Art verzerren. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn eine Art selten ist (LAHOZ-MONTFORT *et al.* 2016). Bei eDNA-Analysen können verschiedene Faktoren zu falsch positiven Resultaten führen, welche nur zum Teil beeinflusst werden können. Es sind das (i) Eintrag von eDNA in ein Gewässer, beispielsweise Fisch-DNA durch Wasservogel, oder ein Fliessgewässer beziehungsweise der Verbleib der DNA im Gewässer, auch wenn die Art nicht mehr im Gewässer ist – sozusagen ein unverschuldeter falsch-positiver Befund – und (ii) Kontaminationen mit fremder DNA bei der Beprobung im Feld und bei den Arbeiten im Labor. Damit Kontaminationen minimiert werden, ist es sehr wichtig, dass sehr sauber gearbeitet wird. Dies bedingt einerseits eine optimale Sammelstrategie im Feld (z.B. Verwendung von Einweg-Sammelmaterial), wie auch besondere Vorsichtsmassnahmen im Labor. Dabei gibt es aus der genetischen Diagnostik für die Laborarbeit Richtlinien, wie eine Kontamination minimiert werden kann (z.B. ISO 17025-Richtlinien für DNA-Analytik).

Bei der Interpretation der eDNA-Analysen ist es wichtig, auch die Verweildauer von eDNA im Wasser beziehungsweise Sediment zu berücksichtigen. Im Wasser bleibt eDNA etwa zwei Wochen erhalten (DEJEAN *et al.* 2011; THOMSEN *et al.* 2012). Im Sediment hingegen kann sie deutlich länger erhalten bleiben und liegt auch in höherer Konzentration vor, da die DNA hier

vor schädlichen Einflüssen besser geschützt ist (TURNER *et al.* 2015; siehe Kap. 2). Wenn eDNA also aus Wasserproben genommen wird, dann zeigt sie praktisch das gegenwärtige Vorkommen einer Art an. Wenn bei der Probenentnahme jedoch Sediment aufgewirbelt wird, so kann eDNA die Präsenz einer Art anzeigen, die schon länger nicht mehr im Gewässer vorkommt. Je nach Fragestellung kann dies ein Problem sein oder aber auch ein Vorteil; auf jeden Fall sollte man sich aber dessen bewusst sein. Zum Beispiel sollten Beprobungen von Gewässern nach starken Winden, welche Sediment aufwirbeln können, vermieden werden.

Wie bei den Feldbegehungen für eine klassische Artenbestimmung sind auch bei eDNA-Arbeiten detaillierte Artenkenntnisse wichtig. Zum Beispiel kann eine falsche Zuordnung eines Artnamens von einem falschen Eintrag in der Referenzdatenbank, einem zu unspezifischen methodischen Ansatz im Labor, Hybridisierungen oder durch sehr nah verwandte Arten oder Artenkomplexe verursacht werden. In diesem Falle ist es wichtig, sich der methodischen Grenzen des Artnachweises mit eDNA bewusst zu sein. Beispielsweise ist aus Untersuchungen bekannt, dass in der Region des Genfersees durch Hybridisierung zwar viele Individuen des Kammolchs noch das Mitochondrien-Erbgut von *Triturus cristatus* besitzen, allerdings das Erbgut im Zellkern weitgehend durch das Erbgut von *T. carnifex* ersetzt wurde (DUFRESNES *et al.* 2016). Allerdings sind solche Einblicke in die Evolution der Arten nur mittels wissenschaftlichen Studien realisierbar und sprengen den Rahmen von praktischen Monitorings. Zudem sind solch detaillierte Kenntnisse, welche für die Interpretation von eDNA Analysen wichtig sein können, meist nur für gut studierte Artengruppen vorhanden. Dies ist aber nicht der Normalfall, denn viele Artengruppen, wie zum Beispiel Libellen, sind weniger gut erforscht.

Während die oben erwähnten Punkte unabhängig der Nachweismethode (Einzel-Artennachweis oder Nachweis von Gemeinschaften) relevant sind, so ergeben sich beim Nachweis von Gemeinschaften einige spezifische Punkte. Ganz besonders wichtig ist eine qua-

litativ hochstehende Referenzdatenbank, welche DNA-Sequenzen enthält, welche von durch Artenspezialisten bestimmten Individuen stammen. Dies ist vor allem dann wichtig, wenn die Bestimmung einer Art über ihr Aussehen anspruchsvoll ist. Dagegen sollten die zugänglichen DNA-Sequenzdatenbanken nur ergänzend verwendet werden, da sie oftmals falsche Sequenzen und Bestimmungen enthalten.

Im Falle der Amphibien wurde im Rahmen eines KTI-Projektes zwischen universitären Partnern, dem Umweltbüro ARNAL und Microsynth/ecogenics ein Barcoding-System für den eDNA-Nachweis von Amphibien (ohne den Alpensalamander) in Gewässern entwickelt und getestet (MEIER und STAPFER 2017, in diesem Band). Dieses zeigt eine gute Auflösung der Amphibienarten. Innerhalb des «Wasserfrosch»-Komplexes kann gezeigt werden, dass mit dem vorhandenen Barcoding-Ansatz zwar nicht alle sechs *Pelophylax*-Arten, doch immerhin vier Gruppen erkannt werden (z.B. *Pelophylax bedrigae*, *P. bergeri*, *P. esculentus-lessonae*-Komplex und *P. kurtmuelleri-ridibundus*-Komplex). Im Feld ist dagegen mit herkömmlichen Methoden eine solche Auflösung des «Wasserfrosch»-Komplexes nicht zu erreichen. Dies ist ein klarer Vorteil der eDNA.

## 5 Vergleich zwischen eDNA und klassischem Monitoring

Eine wichtige Frage ist, wie gut eDNA ist im Vergleich mit den herkömmlichen Feldmethoden, welche seit langem zum Einsatz kommen. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die Nachweiswahrscheinlichkeiten bei eDNA höher sein können als bei den traditionellen Methoden (SCHMIDT und URSENBACHER 2015). Daher lohnt sich aus dem Blickwinkel der Nachweiswahrscheinlichkeiten der Einsatz von eDNA. Allerdings liegen für Amphibien bisher noch keine Daten hinsichtlich des Vorkommens von falsch-positiven Resultaten vor. Bei der Methodenauswahl für ein Monitoring respektive auch bei der Kombination von verschiedenen Methoden müssen die Ziele des Monitorings genau definiert werden. Es sind zwar Bestre-

bungen im Gang, eDNA in diese Richtung zu entwickeln, doch zurzeit können Abundanzen nur sehr grob abgeschätzt werden (THOMSEN *et al.* 2012). eDNA liefert ebenfalls keine Hinweise auf das Lebensstadium (bei Amphibien Adulte, Larven etc.). Daher lässt sich über eDNA beispielsweise nicht nachweisen, ob sich eine Amphibienart erfolgreich in einem Gewässer fortpflanzt. Auch Alter, Grösse oder Gesundheitszustand kann eDNA, mindestens bei Amphibien, nicht liefern. Sofern für ein Monitoring derartige Merkmale wichtig sind, sollte eDNA nur ergänzend eingesetzt werden.

Weitere wichtige Punkte beim Einsatz von eDNA sind Zeit und Kosten. Die Probenentnahme für eDNA hat meist folgende Vorteile im Vergleich zu einem herkömmlichen Monitoring: (i) kleinerer Zeit-Bedarf pro Gewässer, (ii) grössere Unabhängigkeit von der Witterung und der Tageszeit (jedoch nicht von der Jahreszeit!) und damit die Möglichkeit, Beprobungen von mehreren Gewässern an einem Tag durchzuführen und keine Nacharbeit einsetzen zu müssen sowie (iii) allenfalls weniger Besuche am Gewässer, als bei klassischem Monitoring. Dafür entstehen neben der eigentlichen Arbeitszeit im Feld noch zusätzlich Kosten für die Analysen im Labor. Zudem dauern die Laboranalysen mehrere Wochen, da im Labor die parallele Bearbeitung von möglichst vielen Proben am einfachsten und billigsten ist. Daher lohnt es sich, die Kosten der unterschiedlichen Methoden genau abzuklären (SMART *et al.* 2016). Letztlich ist es wie bei jedem Projekt wichtig, dass man sich darüber klar wird, welches die Projektziele sind und welche Methoden am besten geeignet sind, diese Ziele zu erreichen (Yoccoz *et al.* 2001).

## 6 Ausblick

Trotz rasantem Fortschritt bei der Methodenentwicklung ist eDNA noch eine neue Methode. Die methodischen Entwicklungen bei der eDNA werden weiter gehen und diese mit grosser Wahrscheinlichkeit in Zukunft noch interessanter machen. Es ist jetzt bereits möglich, viele Artengruppen in einer Wasserprobe zu erfassen (DEINER *et al.*

2016). Abhängig ist dies von der Verfügbarkeit von DNA-Sequenzen in den entsprechenden Datenbanken, wobei es sich lohnt, für ausgewählte Artengruppen eigene und überprüfte Referenzdatenbanken aufzubauen. Bestrebungen in diese Richtung werden zum Beispiel durch die Forscher und Forscherinnen im Swiss Barcode of Life Projekt verfolgt ([www.swissbol.ch](http://www.swissbol.ch)). Allerdings zeigt sich dabei, dass die verwendeten Barcoding-Regionen nicht unbedingt für eDNA-Analysen von Gemeinschaften mittels Next-Generation Sequencing geeignet sind. Daher kann durch das gezielte Sequenzieren interessanter Arten die Grundlage geschaffen werden, dass weitere Artengruppen, welche auch in Amphibiengewässern vorkommen (z.B. Libellen, Wasserpflanzen oder national prioritäre Arten), erfasst werden können. Später wird vielleicht ein umfassendes Monitoring der aquatischen Biodiversität möglich.

Die Anwendung genetischer Methoden bei naturschutzbiologischen Feldstudien und Monitoringprogrammen versetzt manche Biologen und Artenkennerinnen in Angst, denn sie haben das Gefühl, dass sie durch die neuen Techniken ersetzt würden. Wir sehen diese Gefahr nicht, da es für die Probenentnahme wie auch die Interpretation der Daten ausgewiesene Fachpersonen mit detaillierten Artenkenntnissen braucht. Aber wir sind der Überzeugung, dass genetische Methoden ein wertvolles Werkzeug in der Naturschutzbiologie sein können und zunehmend auch sein werden.

## 7 Literatur

BALDIGO, B.P.; SPORN, L.A.; GEORGE, S.D.; BALL, J.A., 2017: Efficacy of environmental DNA to detect and quantify Brook trout populations in headwater streams of the Adirondack Mountains, New York. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 146: 99–111.

BELLEMAIN, E.; CARLSEN, T.; BROCHMANN, C.; COISSAC, E.; TABERLET, P.; KAUSERUD, H., 2010: ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbio.* 10: 189.

BIGGS, J.; EWALD, N.; VALENTINI, A.; GABORIAUD, C.; DEJEAN, T.; GRIFFITHS, R.A.;

FOSTER, J.; WILKINSON, J.W.; ARNELL, A.; BROTHERTON, P.; WILLIAMS, P.; DUNN, F., 2015: Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Biol. Conserv.* 183: 19–28.

BOHMANN, K.; EVANS, A.; GILBERT, M.T.; CARVALHO, G.R.; CREER, S.; KNAPP, M.; YU, D.W.; DE BRUYN, M., 2014: Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends Ecol. Evol.* 29: 358–367.

DEINER, K.; FRONHOFER, E.A.; MÄCHLER, E.; WALSER, J.C.; ALTERMATT, F., 2016: Environmental DNA reveals that rivers are conveyor belts of biodiversity information. *Nature Comm.* 7: 12544.

DEJEAN, T.; VALENTINI, A.; DUPARC, A.; PELLIER-CUIT, S.; POMPANON, F.; TABERLET, P.; MIAUD, C., 2011: Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems. *PLoS ONE* 6: e23398.

DUFRESNES, C.; PELLET, J.; BETTINELLI-RICCIARDI, S.; THIÉBAUD, J.; PERRIN, N.; FUMAGALLI, L., 2016: Massive genetic introgression in threatened northern crest newts (*Triturus cristatus*) by an invasive congener (*T. carnifex*) in western Switzerland. *Conserv. Gen.* 17: 839–846.

FICETOLA, G.F.; MIAUD, C.; POMPANON, F.; TABERLET, P., 2008: Species detection using environmental DNA from water samples. *Biol. Lett.* 4: 423–425.

FICETOLA, G.F.; PANSU, J.; BONIN, A.; COISSAC, E.; GIGUET-COVEX, C.; DE BARBA, M.; GIELLY, L.; LOPES, C.M.; BOYER, F.; POMPANON, F.; RAYÉ, G.; TABERLET, P., 2015: Replication levels, false presences and the estimation of presence/absence from eDNA metabarcoding data. *Mol. Ecol. Res.* 15: 543–556.

KÉRY, M.; SCHMIDT, B.R., 2008: Imperfect detection and its consequences for monitoring for conservation. *Comm. Ecol.* 9: 207–216.

LAHOZ-MONTFORT, J.J.; GUILLERA-ARROITA, G.; TINGLEY, R., 2016: Statistical approaches to account for false-positive errors in environmental DNA samples. *Mol. Ecol. Res.* 16: 673–685.

LITTLE, D.P., 2014: A DNA mini-barcode for land plants. *Mol. Ecol. Res.* 14: 437–446.

MACDONALD, A.J.; SARRE, S.T., 2017: A framework for developing and validating taxon-specific primers for specimen identification from environmental DNA. *Mol. Ecol. Res.* 17: 708–720.

MEIER, R.; STAPPER, A., 2017: Werkzeugkasten für genetische Methoden in der Biodiversitätsförderung. *WSL Ber.* 60: 49–56.

- MEUSNIER, I.; SINGER, G.A.C.; LANDRY, J.F.; HICKEY, D.A.; HEBERT, P.D.N.; HAJIBABAEI, M., 2008: A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. *BMC Genomics* 9: 214.
- SCHMIDT, B.R.; KÉRY, M.; URSENBACHER, S.; HYMAN, O.J.; COLLINS, J.P., 2013: Site occupancy models in the analysis of environmental DNA presence/absence surveys: a case study of an emerging amphibian pathogen. *Methods Ecol. Evol.* 4: 646–653.
- SCHMIDT, B.R.; URSENBACHER, S., 2015: Umwelt-DNA als neue Methode zum Artenachweis in Gewässern. *Z. Feldherpetol.* 22: 1–10.
- SMART, A.S.; WEEKS, A.R.; VAN ROOYEN, A.R.; MOORE, A.; MCCARTHY, M.A.; TINGLEY, R., 2016: Assessing the cost-efficiency of environmental DNA sampling. *Methods Ecol. Evol.* 7: 1291–1298.
- THOMSEN, P.F.; KIELGAST, J.; IVERSEN, L.L.; WIUF, C.; RASMUSSEN, M.; GILBERT, M.T.P.; ORLANDO, L.; WILLERSLEV, E., 2012: Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Mol. Ecol.* 21: 2565–2573.
- TURNER, C.R.; UY, K.L.; EVERHART, R.C., 2015: Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than surface water. *Biol. Conserv.* 183: 93–102.
- WEBER, D.; HINTERMANN, U.; ZANGGER, A., 2004: Scale and trends in species richness: considerations for monitoring biological diversity for political purposes. *Global Ecol. Biogeogr.* 13: 97–104.
- VALENTINI, A.; TABERLET, P.; MIAUD, C.; CIVADE, R.; HERDER, J.; THOMSEN, P.F.; BELLEMANN, E.; BESNARD, A.; COISSAC, E.; BOYER, F.; GABORIAUD, C.; JEAN, P.; POULET, N.; ROSET, N.; COPP, G.H.; GENIEZ, P.; PONT, D.; ARGILLIER, C.; BAUDOIN, J.-M.; PEROUX, T.; CRIVELLI, A.J.; OLIVIER, A.; ACQUEBERG, M.; LE BRUN, M.; MOLLER, P.R.; WILLERSLEV, E.; DEJEAN, T., 2016: Next generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol. Ecol. Res.* 25: 929–942.
- YOCOZ, N.G.; NICHOLS, J.D.; BOULINIER, T., 2001: Monitoring of biological diversity in space and time. *Trends Ecol. Evol.* 16: 446–453.

## Abstract

### Use of environmental DNA in amphibian monitoring

Monitoring is an essential part of conservation biology because the results of monitoring programs inform management decisions and allow an assessment of the effectiveness of conservation action. Classical monitoring methods are based on direct observations of species or species groups in the field. However, these field studies can be very labour-intensive and there are many species which are hard to monitor due to their natural history. New methods were recently developed where the species are detected based on DNA present in the environment (eDNA). In the present article we give an overview of monitoring methods of aquatic organisms based on eDNA and discuss the advantages and limitations of these methods with a strong focus of monitoring amphibian species in ponds and wetlands.

Keywords: environmental DNA (eDNA), DNA barcoding, conservation biology, monitoring



# Bedeutung der Naturschutzgenetik für den Bund

Francis Cordillot

Bundesamt für Umwelt (BAFU), Abteilung Arten-Ökosysteme-Landschaften, CH-3003 Bern  
francis.cordillot@bafu.admin.ch

**Genetische Methoden nehmen als praktisches Hilfsmittel des Naturschutzes an Bedeutung zu. Auch der Bund bedient sich dieser Methoden, hauptsächlich im Vollzug des Schutzes (Management) von Tier- und Pflanzenpopulationen sowie zur Identifizierung von äusserlich schwierig zu bestimmenden Arten in der Überwachung (Monitoring und Erfolgskontrolle) der Biodiversität. Der Bundesrat bekräftigt seit 2012, wie bedeutend es ist, die genetische Vielfalt zu erhalten und zu fördern. Der nationale Aktionsplan soll dabei insbesondere das strategische Ziel von Generhaltungsgebieten (Waldbäume, Regionale Floren, Wildarten von Kulturpflanzen) und *Ex-situ*-Erhaltungs- und Ansiedlungsmassnahmen (Pflanzen, Tiere) unterstützen. Bei der Konkretisierung der «Ökologischen Infrastruktur» könnte es wichtig sein zu wissen, wie stark die Landschaft den Genfluss zwischen Populationen und deren Raumnutzung beeinflusst.**

## 1 Einleitung

Die Schweiz zeichnet sich durch eine grosse Vielfalt an Lebensraumtypen und Ökosystemen aus. Besonders in den Alpen, die rund zwei Drittel der Schweizer Landesfläche ausmachen, gibt es eine hohe Dichte an vielfältigen Lebensräumen. Es ist anzunehmen, dass die darin lebenden Arten eine hohe Vielfalt an geographisch unterschiedlichen Formen und genetischen Gruppen entwickelt haben und die Schweiz insgesamt eine relativ hohe genetische Vielfalt aufweist. Diese Lebensraumvielfalt hat auch zum Entstehen endemischer Arten beigetragen (Tschudin *et al.* 2017). Allerdings ist von den evaluierten einheimischen Arten heute mehr als ein Drittel gefährdet, was eine grosse Herausforderung für ihre Erhaltung darstellt (BAFU 2017b). Mit der Artenvielfalt geht auch eine genetische Vielfalt einher, die beim Artenschwund und bei Populationsverlusten geschmälert wird.

Die Naturschutzgenetik kann einiges zum Management der biologischen Vielfalt beitragen. Holderegger und Segelbacher (2016) verdeutlichen, wie genetische Methoden wichtige Werkzeuge des Naturschutzes sind, um evolutive (z.B. Anpassungsvermögen von Arten an Umweltveränderungen) oder ökologische Prozesse (z.B. Austausch zwischen Populationen, Genfluss) in der Landschaft verstehen und erkennen zu

können. Zudem lassen sich mittels genetischer Methoden wichtige Indikatoren zum Zustand der Biodiversität erfassen (z.B. genetische Vielfalt in Populationen, Populationsgrösse, geographische Populationsstrukturen, Vernetzung).

Im Vollzug des Artenschutzes sind beim Bund hauptsächlich das Bundesamt für Umwelt BAFU und das Bundesamt für Landwirtschaft BLW tätig, meistens in Partnerschaft mit Kantonen und wissenschaftlichen Institutionen des Bundes (Eidg. Forschungsanstalt WSL, ETH Zürich, ETH Lausanne, Agroscope) und anderen. Diese wenden für die Artenförderung (Management, Planung von Massnahmen) und -überwachung (Monitorings und Erfolgskontrollen) sowie zur Erhaltung von genetischen Ressourcen (nachhaltige Nutzung) unterschiedliche genetische Methoden an.

Im Folgenden werden für den Bund typische Aktivitäten mit genetischen Hilfsmitteln im Vollzug des Artenschutzes genannt, die er in den letzten zehn Jahren durchgeführt hat oder mittelfristig bis 2023 weiterzuentwickeln gedenkt. Dies soll einen Eindruck über die Bedeutung der Naturschutzgenetik beim Bund vermitteln. Folgender Überblick behandelt aber nicht diejenigen genetischen Ressourcen, welche primär als Ökosystemleistungen für Versorgungsleistungen an das menschliche Wohlergehen und die wirtschaftliche Entwicklung aufzufas-

sen sind (Staub *et al.* 2011). Der Überblick umfasst auch nicht die Aktivitäten des BAFU bezüglich Umsetzung des Nagoya-Protokolls der Biodiversitätskonvention, welches zur Erreichung der Erhaltung der Biodiversität und der nachhaltigen Nutzung ihrer Bestandteile (genetischen Ressourcen) beiträgt. Denn es geht darin vor allem um den Zugang zu genetischen Ressourcen und den gerechten Vorteilsausgleich aus deren Nutzung.

Die in den Abschnitten Artenförderung (Kap. 4) sowie Erhaltung und Nutzung der genetischen Ressourcen (Kap. 5) genannten Projekte zeigen die Bestrebungen des Bundes, Plattformen und Informationssysteme zur Erhaltung der genetischen Vielfalt mit zugehörigem Wissensmanagement aufzubauen und zu fördern. Damit werden vorhandene Informationen über genetische Ressourcen und wildlebende Arten der Schweiz zusammentragen, mit Fundmeldungen gekoppelt und der Fachwelt und Öffentlichkeit zur Verfügung gestellt. Genetische Monitorings werden bisher nur in ganz speziellen Fällen durchgeführt. Allgemein werden fallweise Abklärungen mit genetischen Methoden angestellt, sei es zur Identifikation von Arten, wenn diese morphologisch schwierig zu unterscheiden oder nur Spuren vorhanden sind, sei es für ein gezieltes Management von Artbeständen (Tab. 1).

## 2 Mittelfristige Schwerpunkte des Bundes

Gemäss Oberziel des Bundesrats (BR-Beschluss vom 1. Juli 2009) sind sowohl die Biodiversität reichhaltig und gegenüber Veränderungen reaktionsfähig als auch ihre Ökosystemleistungen langfristig zu erhalten. Folglich müssen das Überleben der einheimischen Arten in ihrem natürlichen Verbreitungsgebiet sichergestellt sein und die genetische

Tab. 1. Beispiele zur Verwendung genetischer Methoden beim Bund. Die aufgeführten Beispiele mit Referenzen werden in den angegebenen Unterkapiteln ausgeführt.

§	Beispiel	Referenzen
3.1	Barcoding als Bestimmungshilfe für Flechtenarten, Wildbienenarten Identifikation einer morphologisch nicht sichtbaren Hybridisierungsausbreitung bei Wasserfröschen Abklärung der Kontaktzonen verschiedener Reptilienarten; Erkennen einer neuen Reptilienart Genetisches Monitoring zur Abklärung von Nutztierriissen durch Grossraubtiere und Überwachung von Schadorganismen für den Wald	MARK <i>et al.</i> 2016; Prax C. und Müller A.: Bienen der Schweiz (CSCF) DUFRESNES <i>et al.</i> 2016; Amphibien (karch) KINDLER <i>et al.</i> 2017; Ursenbacher S.: Reptilien (karch) Grossraubtiere (Bundesamt für Umwelt BAFU); RIGLING <i>et al.</i> 2016: Schadorganismen für den Wald (WSL)
3.2	Informationen aus DNA-Barcode Sequenzen und Funddaten	Info BOL (Fach- und Koordinationsstelle) über GBIF.ch
4.1	Genetische und demografische Grundlagen für Amphibienförderung	BRANDT 2015; MÜLLER 2016; CRUICKSHANK 2017; CRUICKSHANK <i>et al.</i> 2017
4.2	Hilfsmittel für die räumliche Orientierung der ökologischen Infrastruktur an artspezifischen Verbreitungsmustern und Populationsstrukturen	BAFU 2017a: Aktionsplan zur Schweizer Biodiversitätsstrategie
4.3	<i>Ex-situ</i> -Erhaltung und Wiederansiedlung gefährdeter Blütenpflanzen	<a href="http://www.infoflora.ch/de/flora/ansiedlung/tagung-2015">www.infoflora.ch/de/flora/ansiedlung/tagung-2015</a>
5.1	Stärkung von Fischpopulationen	VONLANTHEN und HEFTI 2016; SELZ <i>et al.</i> 2017
5.2	Regionale Saatgutzentralen und Crop wild relatives (CWR)	<a href="http://www.regioflora.ch">www.regioflora.ch</a> , BUWAL 1997; NAP-PGREL (Bundesamt für Landwirtschaft BLW)
5.3	Generhaltungsgebiete im Wald, BGI-Wälder	RUDOW 2016

Vielfalt der einheimischen Wildarten, Nutzzassen und Kultursorten erhalten werden. Entsprechend bekräftigt die Strategie Biodiversität Schweiz («SBS», BAFU 2012a) mit dem strategischen Ziel 7.4 die generelle Bedeutung der Erhaltung und Förderung von genetischer Vielfalt als Grundlage für das Überleben von Arten und die Aufrechterhaltung von Ökosystemleistungen als Quelle genetischer Ressourcen: «Die genetische Verarmung wird bis 2020 gebremst, wenn möglich gestoppt. Die Erhaltung und die nachhaltige Nutzung der genetischen Ressourcen, einschliesslich der Nutztiere und Kulturpflanzen, werden gesichert.» Das zugehörige Konzept Artenförderung (BAFU 2012) gibt an, nach welchen Grundsätzen artspezifische Massnahmen umgesetzt werden sollen, wobei National Prioritäre Arten (BAFU 2017b) bei der Erhaltung der genetischen Vielfalt speziell zu berücksichtigen sind. Das Wissen über die genetische Vielfalt von wildlebenden Arten ist zurzeit noch gering, unter anderem auch mangels nötigen Spezialist/innen und Ressourcen im Vollzug. Eine Neuauflage des Konzepts Artenförderung ist derzeit in Erarbeitung und konkre-

tere Vorstellungen vermitteln. Diese sollen im Rahmen des vom Bundesrat genehmigten Aktionsplans (BAFU 2017a) in zwei Umsetzungsphasen konkretisiert werden. In einer ersten Umsetzungsphase 2017 bis 2023 sollen spezifische Massnahmen für ca. 800 Arten mit klarem Massnahmenbedarf über die Pflege- und Aufwertungsmassnahmen der Lebensräume hinaus konkretisiert werden. Zudem sollen Synergienmassnahmen zur Konkretisierung der in der nationalen Biodiversitätsstrategie geforderten landesweiten Ökologischen Infrastruktur anhand von Pilotprojekten ab 2019 umgesetzt werden (BAFU 2017a: Kap. 3.2.1, 3.3 und Tab. 4.1.4, 4.2.1). Zu diesem Zweck werden «konzeptionelle Grundlagen» erarbeitet, wobei «vorhandene Daten zur Darstellung der Ökologischen Infrastruktur geprüft und Lücken identifiziert» werden (Synergienmassnahmen 4.2.1). In diesem Schritt dürften genetische Abklärungen als Entscheidungsgrundlagen für die räumliche Planung von Vernetzungsmassnahmen zugezogen werden. Denn durch die funktionale Vernetzung von Lebensräumen soll ja «der Austausch und die Bewegungen von Individuen, Genen und ökologi-

schen Prozessen (beispielsweise durch Wanderung) zwischen diesen Lebensräumen mit Korridoren und Trittsteinen gewährleistet» werden oder auch nicht (vgl. BOLLIGER und GUGERLI 2017, in diesem Band), zum Beispiel dann, wenn eine Hybridisierung mit allochthonen Arten droht (Kap. 4). Der Aktionsplan sieht zudem eine Prüfung weiterer Massnahmen für eine zweite Umsetzungsphase 2024–2027 vor, womit sektorspezifische Instrumente und Programme zur Vermeidung der genetischen Verarmung ausgearbeitet und weiterentwickelt (BAFU 2017a: Tab. 3, Kap. 5.2) sowie *Ex-situ*-Sammlungen zur Erhaltung prioritärer genetischer Ressourcen und gefährdeter Arten auf- und ausgebaut werden sollen (BAFU 2017a: Tabelle 3 und Kapitel 5.3). Auch die Generhaltungsgebiete in Synergie mit Waldreservaten sowie die Förderung der regionalen Vielfalt im Grünland stellen weiterhin klare Schwerpunkte in den Umsetzungsphase dar.

Die prioritären Forschungsthemen des BAFU (Ressortforschung) bezüglich der Erarbeitung von wissenschaftlichen Grundlagen zur Erhaltung und Förderung der genetischen Vielfalt sind auch im Forschungskonzept Um-

welt (BAFU 2016) für die Jahre 2017–2020 ein Thema. Sie umfassen unter anderem Untersuchungen über die genetische Diversität von Arten, welche für die Überlebensfähigkeit und das Evolutionspotenzial von Populationen und Metapopulationen wichtig ist (adaptive genetische Diversität; RELLSTAB *et al.* 2017, in diesem Band). Die genetischen Methoden können dazu beitragen, mögliche regionale Unterschiede bezüglich der (anpassungsrelevanten) genetischen Vielfalt von Populationen bestimmter Arten und deren Bedarf an Lebensraumvernetzung zu untersuchen. Diese wissenschaftlichen Erkenntnisse sind für den Vollzug als Entscheidungsgrundlage für ein zielführendes Management von Artbeständen und den Aufbau der Ökologischen Infrastruktur (Flächenbedarf, Qualität und Verteilung) wichtig.

### 3 Artbestimmung und Datenfluss

Genetische Monitorings finden zurzeit nicht systematisch statt. Jedoch werden fallweise genetische Methoden zur Identifikation von Arten bzw. zur Feststellung von Artvorkommen vorgenommen.

#### 3.1 Hilfsmittel zur Bestimmung und Unterscheidung schwierig bestimmbarer Arten

Das Projekt «Barcoding als Bestimmungshilfe für Flechtenarten» (Christoph Scheidegger und Silvia Stofer WSL, 2009–2011) testete genetische Methoden zur Bestimmung von morphologisch schwierig identifizierbaren baumbewohnende Flechten und beschrieb das Verfahren vom Präparieren von Krustenflechten bis zur DNA-Sequenzierung (MARK *et al.* 2016). Die Artansprache mittels Barcodes wurde mit der Artansprache mittels Dünnschicht-Chromatographie (herkömmliche Bestimmungsmethode aufgrund chemischer Inhaltsstoffe) verglichen. Auch wurden dabei erste Sequenzen für eine genetische Referenzdatenbank von Flechten der Schweiz generiert. ITS-Sequenzen für das Barcoding von Pilzen (entscheidende Art

bei Flechten) sind in der Zwischenzeit etabliert. In der laufenden Revision der Roten Liste der gefährdeten Flechten der Schweiz kommt Barcoding zum Beispiel zur Unterscheidung von äusserlich ähnlichen Arten («species pairs», wobei die eine häufig und die andere sehr selten ist) zur Anwendung. Auch Wildbienen sind teilweise morphologisch schwierig bestimmbar. Im Rahmen der laufenden Revision der Roten Liste der gefährdeten Bienen der Schweiz werden etliche der 600 Wildbienenarten genetisch überprüft (Christophe Praz und Andreas Müller, UniNE). Das Potenzial des Einsatzes von genetischen Methoden als Hilfsmittel zur Unterscheidung von Arten zeigt sich besonders eindrücklich an Resultaten, die im Rahmen eines Vorprojekts zur Revision der Einstufung des Gefährdungszustands der Amphibien in der Schweiz erarbeitet wurden (Sylvain Dubey, UniL; DUFRESNES *et al.* 2016; siehe auch BÜHLER und DUBEY 2017, in diesem Band): Der aus Norditalien eingeschleppte Italienische Wasserfrosch *Pelophylax bergeri* hat den Kleinen Wasserfrosch *Pelophylax lessonae* fast überall in der Schweiz verdrängt. Morphologisch sind die zwei Arten, die sich untereinander kreuzen können, kaum abgrenzbar. Hier hilft die genetische Analyse, die es erlaubt, diese zwei Arten (und die Hybriden) zu unterscheiden. Ebenfalls als Vorprojekt der Revision der Roten Liste der gefährdeten Reptilien der Schweiz (Sylvain Ursenbacher, UniBS) erfolgte bei der Abklärung der Kontaktzonen verschiedener Reptilienarten eine Beurteilung auf Ebene Unterarten und in einem Fall auf derjenigen der genetischen Gruppe. Dabei stellte sich heraus, dass die beiden in der Schweiz vorkommenden Unterarten der Ringelnatter, *Natrix natrix natrix* und *N. n. helvetica*, basierend auf genetischen Untersuchungen taxonomisch eigentlich zwei Arten darstellen. Dass *Natrix helvetica* eine neue europäische Schlangenart ist, haben Senckenberg-Wissenschaftler mit einem internationalen Team dieses Jahr bestätigt (KINDLER *et al.* 2017). Aufgrund genetischer Untersuchungen konnte zudem im Tessin und im Misox die Anwesenheit einer zweiten Blindschleichenart, der Italienischen Blindschleiche (*Anguis veronensis*), nachgewiesen werden. Basierend auf den

erwähnten Arbeiten wurden die Verbreitungsareale der Reptilien in der Schweiz aktualisiert.

Genetische Methoden kommen auch im Management von Wildtierpopulationen zum Einsatz. Das BAFU beteiligt sich u. a. an einem (passiven) genetischen Monitoring zur Abklärung von Nutztierriassen durch Grossraubtiere. Ferner werden genetische Analysen in Form von Forschungsprojekten in Auftrag gegeben, um das Wildtiermanagement von Arten wie zum Beispiel des Steinbocks zu verbessern (siehe auch BIEBACH und KELLER 2017, in diesem Band).

Genetische Analysen werden bei der Überwachung von Schadorganismen für den Wald routinemässig angewendet. Zum Beispiel waren 2016 die Arbeiten geprägt durch die Analyse von Nadelproben mit einer speziellen Hochdurchsatz-Diagnostik-Methode zur Erhebung der Rotband- und Braunfleckenkrankheit (besonders gefährliche Schadorganismen) bei Föhren. Im Routinebetrieb wurden zusätzlich biologische Proben von Bakterien, Insekten, Nematoden, Oomyzeten und Pilzen genetisch analysiert. Der Erstnachweis des Bakteriums *Pseudomonas syringae* pv. *aesculi* an Rosskastanien führte zu einem merklichen Zuwachs an Bakterien-Untersuchungen (RIGLING *et al.* 2016).

#### 3.2 Informationen aus DNA-Barcode Sequenzen und Funddaten

Wie bereits in Kapitel 3.1 erwähnt, ist Barcoding eine vielversprechende Methode, um morphologisch schwierig abzugrenzende Arten sicherer ansprechen zu können. Referenzsequenzen für die routinemässige Bestimmung gesammelter Belege aller Arten liegen aber noch (lange) nicht vor; und die Genetik kann nicht Gewissheit für alle Fragen zu Artkonzepten bringen. Denn für eine genaue taxonomische Ansprache von Organismen werden in der Regel morphologische, geographische und genetische Informationen benötigt. Diese werden vermehrt in «Barcode of Life»-Initiativen zusammengetragen. Nach Projektabschluss einer Startphase für die Schweizer Beteiligung mit Anschubfinanzierung des BAFU wurde 2015 der Verein SwissBol (www.

swissbol.ch) gegründet, der nationale Aktivitäten zu DNA-Barcoding koordiniert und fördert. Da die Finanzierung von Barcoding keine Aufgabe des BAFU ist (sondern der Wissenschaft), fördert es den Daten- und Informationsfluss zu einheimischen Arten via Info Species und Global Biodiversity Information Facility Switzerland GBIF.ch. Zu diesem Zweck wird eine nationale genetische Referenzdatenbank mit der Fach- und Koordinationsstelle Info BOL zur Verfügung gestellt, womit DNA-Sequenzen von Arten aus der Schweiz standardisiert abgelegt werden. Die Verknüpfung einer Sequenz auf BOLD oder der internationalen DNA-Sequenzdatenbank Genbank (a) mit dem entsprechenden Voucher/Referenzbeleg, (b) der DNA-Extrakte in einer öffentlichen DNA-Bank und (c) dem validierten Eintrag der nationalen Referenzdatenbank ist sichergestellt (Abb. 1). Die Daten stehen damit den Vollzugsstellen für Artenschutz, Jagd und Fischerei als zuverlässige und raumbezogene Referenzen zur Verfügung und sind über GBIF öffentlich zugänglich. Dank den Vorarbeiten von Info fauna – CSCF und GBIF Schweiz wird die Datenbank für die Integration von Barcodes mit Informationen der Datenbanken von Info Species ([www.infospecies.ch](http://www.infospecies.ch)) ab 2018 zur Verfügung stehen. Zudem sollen ver-

schiedene Massnahmen zur Verbesserung der Datennutzung, Visualisierung und Datenqualität bis 2021 weiterentwickelt werden.

## 4 Artenförderung

Folgende Beispiele zeigen unterschiedliche Anwendungen der Naturschutzgenetik im Bereich Artenförderung, an denen Forschungsinstitute und Behörden des Bundes beteiligt sind.

### 4.1 Genetische und demographische Grundlagen für Amphibienförderung

Für einen verbesserten Schutz und die Förderung von Laubfrosch, Geburtshelferkröte und Gelbbauchunke wurden für diese stark gefährdeten Arten im Auftrag des BAFU wichtige Grundlagen erarbeitet. Mittels naturschutzgenetischer Untersuchungen und der Entwicklung von Methoden zur verbesserten Auswertung von Monitoring-Projekten wurden mögliche Ursachen für den Rückgang der Populationen identifiziert und die Methodik des Biodiversitätsmonitorings verbessert. Das von 2012 bis 2016 an der Universität Zürich durchgeführte Projekt trug

zur Erreichung des strategischen Ziels «Wissen generieren und verteilen» der Strategie Biodiversität Schweiz bei und entsprach den Schwerpunkten des Forschungskonzepts Umwelt 2013–2016 des BAFU. Unter anderem zeigten genetische und demographische Analysen, dass sich die genetische Diversität angesiedelter und natürlicher Populationen der Geburtshelferkröte kaum unterscheiden (Artenförderungsprojekt Geburtshelferkröte des Kantons Luzern; Müller 2016). Sowohl die Ansiedlung der Geburtshelferkröte als auch das Vernetzungsprojekt der Gelbbauchunken waren erfolgreich und können als Beispiele für ähnliche Projekte in anderen Kantonen dienen (Vernetzungsprojekt Gelbbauchunke Schwyz-Ingebohl; BRANDT 2015; CRUICKSHANK 2017; CRUICKSHANK *et al.* 2017).

### 4.2 Hilfsmittel für die Ökologische Infrastruktur

Im Rahmen der Konkretisierung der «Ökologischen Infrastruktur» und der «spezifischen Förderung national prioritärer Arten» gemäss Aktionsplan Biodiversität (BAFU 2017a: Tab. 4.1.4 und 4.2.1) zur nationalen Biodiversitätsstrategie (BAFU 2012a) müssen Fragen beantwortet werden, wie zum Beispiel ob ein genetischer Austausch zwischen Teilpopulationen bestimmter Arten stattfindet oder ob die Bestände bedingt durch die Fragmentierung der Landschaft voneinander isoliert sind. Derzeit überlegt man sich unter anderem, welche Arten (z.B. national prioritäre Arten) und/oder Organismengruppen (mit Ziel- und Leitarten, von denen jeweils zahlreiche national prioritäre Arten profitieren) bei solchen Überlegungen stellvertretend für die Vielzahl der in der Schweiz vorkommenden Arten betrachtet werden sollen. Bei der regionalen Operationalisierung des ökologischen Netzwerks in den kommenden Jahren werden sich dann Fragen stellen, die fallweise Analysen von artspezifischen Verbreitungsmustern und Populationsstrukturen (Kerngebiete, Differenzierungszone, Ökotypen) verlangen könnten. Methoden der Landschafts- und Naturschutzgenetik können bei diesen Untersuchungen unter anderem dazu beitragen, herauszufinden, wie stark sich Populati-

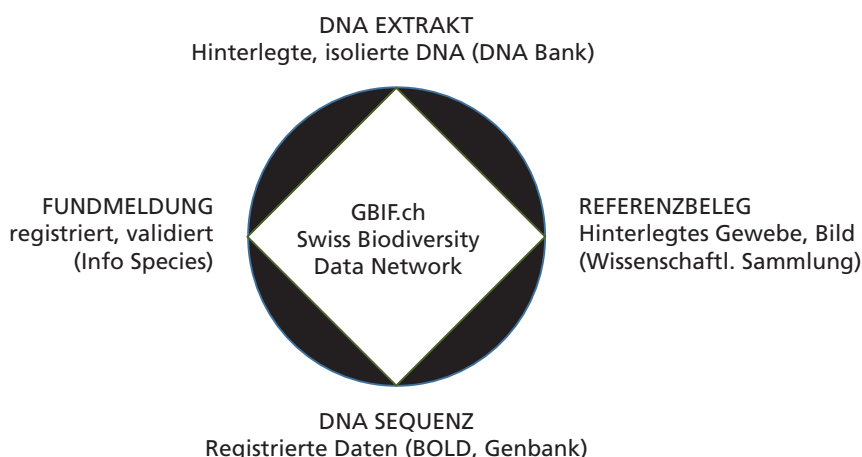


Abb. 1: Info-BOL-Dokumentationsstandard für DNA-Sequenzen aus der Schweiz. Verknüpfung von Sequenzdaten mit Nachweisen der nationalen Datenzentren (Info Species), dem hinterlegten Referenzbeleg und dem DNA-Extrakt in einer öffentlichen Sammlung über die Fach- und Validierungsstelle Info BOL. Auf dem Portal GBIF Schweiz (Swiss Biodiversity Data Network) werden die Informationen der Partnerinstitutionen zusammengeführt. Morphologische, geographische und genetische Daten sind zugänglich. Quelle: P. Tschudin GBIF.ch

onen genetisch unterscheiden, ob zwischen ihnen ein genetischer Austausch stattfindet und ob zum Beispiel Vernetzungsmassnahmen erfolgreich sind (BOLLIGER und GUGERLI 2017, in diesem Band).

#### 4.3 *Ex-situ*-Erhaltung und Wiederansiedlung gefährdeter Blütenpflanzen

Neben vielen wichtigen Zielen des Naturschutzes, wie die Erhaltung der Lebensräume *in-situ*, lautet eines der Ziele die langfristige Sicherung genetischer natürlicher Ressourcen, die unter anderem durch *Ex-situ*-Erhaltung, Vermehrung und Wiederansiedlung erreicht werden kann. Die Global Strategy for Plant Conservation der Biodiversitätskonvention (CBD) fordert jeden Vertragsstaat auf, bis 2020 bis 75 Prozent (544 Taxa für die Schweiz) der gefährdeten heimischen Pflanzenarten (725 Taxa) in allgemein zugänglichen Einrichtungen mit *Ex-situ*-Erhaltungsmassnahmen aufzunehmen und 20 Prozent (145 Taxa) für Wiederansiedlungsmassnahmen zur Verfügung zu stellen. In dem vom BAFU finanzierten Pilotprojekt zur *Ex-situ*-Erhaltung und Wiederansiedlung gefährdeter Blütenpflanzen wurden bereits ein gutes Netzwerk aufgebaut, verschiedene wichtige Fragen beantwortet und wissenschaftlich fundierte Konzepte zur *Ex-situ*-Erhaltung und Ansiedlung erarbeitet, die 2015 an der Konferenz «*Ex-situ*-Erhaltung und Ansiedlung gefährdeter Pflanzenarten» präsentiert wurden ([www.infoflora.ch/de/flora/ansiedlung/tagung-2015.html](http://www.infoflora.ch/de/flora/ansiedlung/tagung-2015.html)). Als logische Konsequenz will das BAFU im Folgeprojekt 2017–2021 mit Markus Fischer der UniBE das Netzwerk aus Forschungsinstituten, Botanischen Gärten, naturschutzrelevanten Behörden, Umweltbüros und dem Datenzentrum Info Flora ausbauen und wissenschaftlich begleitete Förderprojekte zugunsten 100 gefährdeter Pflanzenarten (was 14 % der in der Schweiz gefährdeten Pflanzenarten entspricht) durchführen, für welche die Schweiz eine besondere Verantwortung trägt. Dabei sollen populationsbiologische Aspekte in beispielhafter Weise berücksichtigt, offene Fragen geklärt und Beratungen geleistet werden.

## 5 Erhaltung und Nutzung der genetischen Ressourcen

In Ergänzung zur Artenförderung werden auch Massnahmen zur Erhaltung und Nutzung genetischer Ressourcen realisiert, die eine langfristige Erhaltung der genetischen Vielfalt bezwecken und potenziell für den Menschen von Nutzen sind. Dies betrifft sowohl wildlebende Arten als auch Nutztiere und Kulturpflanzen. Beispielsweise dienen die Erhaltung lokal angepasster Fischpopulationen oder Wildformen unserer Kulturpflanzen der Ernährungssicherheit, die Erhaltung von Waldbäumen und Wildpflanzen der nachhaltigen Sicherung von Ökosystemleistungen.

### 5.1 Stärkung von Fischpopulationen: Lokale Herkunft und Genetik sind wichtig

Die Lebensraumfragmentierung und Nutzungsinteressen führen zu unüberlegten Aussetzungen von Fischpopulationen aus verschiedenen Einzugsgebieten mit unterschiedlichen ökologischen und genetischen Eigenschaften. Der Einsatz von Fischen spielt bei der fischereilichen Bewirtschaftung nach wie vor eine wichtige Rolle (Besatz). Künstlich aufgezogene Fische werden dabei in bestehenden Fischpopulationen freigelassen. Für eine nachhaltige Bewirtschaftung ist es dabei wichtig, dass die genetischen Eigenschaften einzelner Populationen einer Art erhalten bleiben und so wenig wie möglich in die vorhandenen evolutiven Prozesse eingegriffen wird. Es wird deshalb empfohlen, dass wenn die natürliche Fortpflanzung in einem Gewässer funktioniert, immer auf Besatzmassnahmen verzichtet werden soll. Falls Besatzmassnahmen notwendig sind, sollen die Besatzfische möglichst im gleichen Gewässer und geografisch möglichst nahe zum Besatzort beschafft werden (VONLANTHEN und HEFTI 2016). Diese Massnahmen haben zum Ziel, die Erhaltung der genetischen Vielfalt innerhalb und zwischen den Populationen sowie das Anpassungspotenzial der Fischarten zu gewährleisten (siehe auch RELLSTAB *et al.* in diesem Band). Anhand von standardisierten DNA-Analysen können die genetischen Eigenschaften der

Besatzfische charakterisiert werden. Für eine nachhaltige Bewirtschaftung müssen jedoch mittelfristig aufgrund der genetischen Eigenschaften der Populationen sogenannte Bewirtschaftungseinheiten bestimmt werden. Die Grösse dieser Einheiten hängt von der Biologie und Ökologie der jeweiligen Art ab. Dabei ist eine möglichst lokale Bewirtschaftung der Fische (also nach Einzugsgebiet) anzustreben (VONLANTHEN und HEFTI 2016). Bis sich die Besatzmassnahmen z.B. als Folge von erfolgreichen Gewässerrenaturierungen erübrigen, wird die Bewirtschaftung der Fischbestände mittels den oben beschriebenen genetisch kontrollierten Massnahmen optimiert.

Bei morphologisch schwer zu bestimmenden Arten, wie zum Beispiel bei der Gattung der Felchen, sind genetische Hilfsmittel zur Artbestimmung unumgänglich. Als taxonomischen «Beifang» konnten vor zwei Jahren aufgrund genetischer Untersuchungen 8 bis 10 zusätzliche Arten identifiziert werden (BAFU-EAWAG-Projekt: Felchenvielfalt der Schweizer Seen mit drei Modulen: taxonomische Revision; Zusammenstellung über Taxonomie, Ökologie und Evolution; SELZ *et al.* 2017) – eine unverhoffte, wenn auch nur theoretische Bereicherung der einheimischen Biodiversität.

### 5.2 Regionale Saatgutzentralen und Crop wild relatives (CWR)

«Regioflora» ([www.regioflora.ch](http://www.regioflora.ch)) ist das Schweizer Portal zur Förderung der regionalen Vielfalt im Grünland. Durch die Verwendung von regionalem Saatgut für Direktbegrünungen wird dem genetischen Verlust regional angepasster Wildpflanzen auf Wiesen und Weiden, an Strassenböschungen, auf Naturschutzflächen, Biodiversitätsförderflächen, Skipisten oder Rekultivierungsflächen entgegengewirkt. «Regioflora» ist ein Projekt von Pro Natura Schweiz, unterstützt durch BAFU, BLW und andere Partnerinstitutionen. Diese sind am Aufbau eines Spenderflächenkatasters für die Ansaat standortgerechter Wiesen beteiligt. Dafür werden Gebiete in der Schweiz gemeldet, die sich durch Arten und Populationen mit genetischen und anderen Besonderheiten auszeichnen.

Das BAFU fördert seit Jahren den Aufbau und die Vermittlung von praktischen Informationen zur Verwendung von standörtlich und regional angepassten Pflanzen. Zum Beispiel wurde anlässlich des Europäischen Naturschutzjahrs von 1995 (ENSJ'95; BUWAL 1997) einerseits die Wildpflanzen-Infostelle als Vermittlungsportal zwischen Wildstaudenproduzenten und Konsumenten aufgebaut (Info Flora überarbeitet momentan das Portal) und andererseits die innovative Idee der regionalen Saatgutzentralen konkretisiert. Beide Angebote basieren auf den Empfehlungen der vormaligen Schweizerischen Kommission zur Erhaltung der Wildpflanzen (SKEW-CPS), deren Aufgaben das nationale Daten- und Informationszentrum Info Flora übernommen hat.

Zur Bewahrung und nachhaltigen Nutzung der Agrobiodiversität unterstützt das Bundesamt für Landwirtschaft (BLW) Initiativen und Partnerschaften für die Erhaltung der Vielfalt von genetischen Ressourcen, Arten und Ökosystemen im Zusammenhang mit der Landwirtschaft. In diesem Rahmen finden Fördermassnahmen für mit Kulturpflanzen verwandte Wildarten (Crop wild relatives, CWR) zwecks Erhaltung der pflanzengenetischen Ressourcen (Genpools von Kulturpflanzen) statt. Unter Einbezug der internationalen Definition für CWR und deren gewählten Methodik wurden die CWR der Schweiz definiert. 83 Prozent der Schweizer Flora kann als CWR bezeichnet werden. Mittels Experteneinschätzung zum Potenzial der Wildpflanzen in Bezug zu ihren verwandten Kulturpflanzen wurde eine prioritäre CWR-Artenliste mit 143 Arten erarbeitet. Aufgrund von Aktionsfeldern und ihren Zielen, welche die *ad hoc* Gruppe bezüglich der Erhaltung und nachhaltigen Nutzung von CWR erarbeitete, wird der allgemeine Handlungsbedarf abgeleitet. Weiter zeigen Fallstudien zu drei CWR-Arten den artspezifischen Handlungsbedarf auf. Diese Resultate sind die ersten Schritte auf dem Weg zu einer nationalen CWR-Strategie und wichtig zur Verankerung der CWR-Thematik im Nationalen Aktionsplan für pflanzengenetische Ressourcen für Ernährung und Landwirtschaft (kurz Nationaler Aktionsplan PGREL oder NAP-

PGREL) des BLW. Pflanzengenetische Ressourcen sind auch Bestandteil der nationalen Biodiversitätsstrategie. Das BLW fördert die Erhaltung und nachhaltige Nutzung von alten Sorten von Kulturpflanzen, zusammen mit privaten und öffentlichen Erhaltungsorganisationen (Pro Specie Rara, Fructus u.a.m.). Von 2015 bis 2018 läuft die fünfte Förderphase in Form von Leistungsaufträgen oder Finanzhilfen an Projekte, damit alte Kulturpflanzen gefunden, erhalten, sicher bestimmt und beschrieben werden können, um sie für die Ernährung und die Landwirtschaft nutzbar zu machen. Agroscope betreibt die Nationale Genbank (BDN) für PGREL. Dort werden auch jene Sorten, welche über Samen vermehrt werden, gesichert.

### 5.3 Generhaltungsgebiete im Wald

Als Folge der Waldsterbediskussion der 80er-Jahre schuf der Bund «Genreservate» zur *In-situ*-Erhaltung genetischer Vielfalt von Waldbäumen und Sträuchern. Aufgrund ihrer tragenden Rolle in Waldökosystemen ist die genetische Vielfalt der Baumarten ein Garant für die nachhaltige Sicherung von Waldleistungen, gerade auch unter sich rasch ändernden Umweltbedingungen, zum Beispiel als Folge des Klimawandels. Ausgewiesene Samen-erntebestände (Kataster) und *Ex-situ*-Samenernte- und Erhaltungsplantagen von Bund und Kantonen für die einheimischen Hauptbaumarten und einige Nebenbaumarten sind aufgeführt (vgl. GUGERLI *et al.* 2015), aber eine systematische qualitative Überprüfung der genetischen Eigenschaften (Ökotypen) fehlt bisher. Jedenfalls bestehen die nationalen Handlungsziele bis 2030 unter anderem in der gezielten Auswahl der Provenienzen des forstlichen Vermehrungsgutes bei der Jungwaldpflege sowie im Ausscheiden von Samenerntebeständen durch die Kantone, um die Anpassungsfähigkeit und das Überleben der sich daraus entwickelnden Waldbestände langfristig zu sichern (IMESCH *et al.* 2015). In den letzten Jahren wurde durch EUFORGEN das Fundament für eine paneuropäisch koordinierte Erhaltung forstgenetischer Ressourcen geschaffen, das den Erfahrungsaustausch fördert, ge-

meinsame Erhaltungsstrategien definiert, technische Leitlinien entwickelt und Forschungsprojekte initiiert. Die Schweiz ist Mitglied bei EUFORGEN und beteiligt sich seit 1997 aktiv in den Netzwerken und Arbeitsgruppen. Dabei hat sie sich verpflichtet, nationale Generhaltungsgebiete (gene conservation units, GCU) auszuscheiden und sich am paneuropäischen Verfahren zu beteiligen. Im Rahmen des nationalen Konzepts «Forstliche Genressourcen und Klimawandel» stehen Überlegungen an, wie bestehende und zusätzlich begründete Sonder- oder Naturwaldreservate, die bestimmte Voraussetzungen erfüllen, eine zusätzliche Funktion als sogenannte Generhaltungsgebiete übernehmen könnten (RUDOW 2016). Das bisher diesem Zweck dienende Instrument der «Wälder von besonderem genetischem Interesse» (kurz BGI-Wälder) (BONFILS und BOLLIGER 2003) mit baumartenspezifischen Zielsetzungen soll also mittel- bis langfristig ins Waldreservatnetz integriert werden. Dabei sollen unterschiedliche Ansprüche berücksichtigt werden, zum Beispiel dass Eingriffe in gewisse Schutzgebiete unerwünscht und als störend empfunden werden, während Bewirtschaftungsmassnahmen in Generhaltungswäldern nötig sind. Eine Herausforderung besteht darin, dass weder aktuelle Daten über den Zustand der in Frage kommenden Waldbestände (z.B. Verjüngungszustand) noch entsprechende Pflegekonzepte vorhanden sind. Zur Behebung heutiger Defizite hat das BAFU die ETH Zürich mit spezifischen Leistungen beauftragt.

## 6 Literatur

- BIEBACH, I.; KELLER, L., 2017: Inzucht und ihre Bedeutung für den Naturschutz. WSL Ber. 60: 15–22.
- BOLLIGER, J.; GUGERLI, F., 2017: Isoliert oder vernetzt? Auswirkungen der Landschaft auf den Genfluss. WSL Ber. 60: 23–29.
- BÜHLER, C.; DUBEY, S., 2017: Application de la génétique de la conservation dans les bureaux d'études en écologie. WSL Ber. 60: 77–82.
- Bundesamt für Umwelt (BAFU) 2012a: Strategie Biodiversität Schweiz. Ausarbeitung einer Strategie zur Erhaltung und Förderung der Biodiversität in Erfüllung

- der Massnahme 69 (Ziel 13, Art. 14, Abschnitt 5) der Legislaturplanung 2007–2011. Bern, Bundesamt für Umwelt. 89 S.
- Bundesamt für Umwelt (BAFU) 2012b: Konzept Artenförderung Schweiz. Grundlagen für den Aktionsplan zur Strategie Biodiversität Schweiz im Bereich Artenförderung - Handlungsfeld II.2 Artenförderung mit Beiträgen zu weiteren Handlungsfeldern. Bern, Bundesamt für Umwelt. 64 S.
- Bundesamt für Umwelt (BAFU) 2016: Forschungskonzept Umwelt für die Jahre 2017–2020. Schwerpunkte, Forschungsgebiete und prioritäre Forschungsthemen. Bern, Bundesamt für Umwelt. 70 S.
- Bundesamt für Umwelt (BAFU) 2017a: Aktionsplan Strategie Biodiversität Schweiz. Bern, Bundesamt für Umwelt. 50 S.
- Bundesamt für Umwelt (BAFU) 2017b: Liste der National Prioritären Arten und Lebensräume. Prioritäre Arten und Lebensräume für die Förderung in der Schweiz. Bern, Bundesamt für Umwelt. 89 S.
- Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL) 1997: Einzelideen für Natur und Landschaft. Erste Serie Vollversion. Bern, Bundesamt für Umwelt.
- BONFILS, P.; BOLLIGER, M., 2003: Wälder von besonderem genetischem Interesse (BGI-Wälder). Bern, Bundesamt für Umwelt. 60 S.
- BRANDT, H., 2015: Dispersal in a metapopulation of the yellow-bellied toad: does conservation action work? Masterarbeit, Universität Zürich.
- CRUICKSHANK, S.S., 2017: Dealing with uncertainty in amphibian and reptile population monitoring for conservation. Dissertation, Universität Zürich.
- CRUICKSHANK, S.S.; JANSEN VAN RENSBURG, A.; BRANDT, H.; OZGUL, A.; SCHMIDT, B.R., 2017: Demographic and genetic analysis of an isolated population network of an endangered amphibian under habitat management. Unpubliziertes Manuskript, Universität Zürich.
- DUFRESNES, C.; DI SANTO, L.; LEUENBERGER, J.; SCHUERCH, J.; MAZEPKA, G.; GRANDJEAN, N.; CANESTRELLI, D.; PERRIN, N.; DUBAY, S., 2017: Cryptic invasion of Italian pool frogs (*Pelophylax bergeri*) across Western Europe unraveled by multilocus phylogeography. *Biol. Invasions* 19: 1407–1429.
- GUGERLI, F.; HOLDEREGGER, R.; BOLLIGER, M., 2015: Genetische Ressourcen. In: Waldbericht 2015: Zustand und Nutzung des Schweizer Waldes. Bern, Bundesamt für Umwelt BAFU. 82–83.
- HOLDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G. (Hrsg.), 2016: Naturschutzgenetik – Ein Handbuch für die Praxis. Bern, Haupt. 247 S.
- IMESCH, N.; STADLER, B.; BOLLIGER, M.; SCHNEIDER, O., 2015: Biodiversität im Wald: Ziele und Massnahmen. Vollzugshilfe zur Erhaltung und Förderung der biologischen Vielfalt im Schweizer Wald. Bundesamt für Umwelt, Bern. 186 S.
- KINDLER, C.; CHÈVRE, M.; URSENBACHER, S.; BÖHME, W.; HILLE, A.; JABLONSKI, D.; VAMBERGER, M.; UWE FRITZ, U., 2017: Hybridization patterns in two contact zones of grass snakes reveal a new Central European snake species. *Scientific Reports* 7: 12 S.
- MARK, K.; CORNEJO, C.; KELLER, C.; FLÜCK, D.; SCHEIDEGGER, C., 2016: Barcoding lichen-forming fungi using 454 pyrosequencing is challenged by artifactual and biological sequence variation. *Genome* 59, 9: 685–704.
- MÜLLER, R. P., 2016: Genetic assessments of translocations: a case study of two endangered amphibians. Masterarbeit, Universität Zürich.
- RELLSTAB, C.; FISCHER, M.C.; CSENCICS, D.; GUGERLI, F.; HOLDEREGGER, R., 2017: Bedeutung der lokalen Anpassung in der Naturschutzgenetik. *WSL Ber.* 60: 31–37.
- RIGLING, D.; PROSPERO, S.; HÖLLING, D.; SCHÖBEL, C.; CORNEJO, C.; SCHNEIDER, S.; MEIER, F.; DUBACH, V.; QUELOZ, V., 2016: Überwachung von besonders gefährlichen Schadorganismen für den Wald – Jahresbericht 2016. Eig. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL, Birmensdorf. 53 S.
- RUDOW, A., 2016: Generhaltung in Waldreservaten. *Schweiz. Z. Forstwes.* 167: 344–347.
- SELZ, O.; VONLANTHEN, P.; SEEHAUSEN, O., 2017: Felchenvielfalt der Schweizer Seen. Zwischenbericht zum Modul 1 Taxonomische Revision zum BAFU-EAWAG-Projekt. Eig. Wasserforschungsinstitut Eawag, Kastanienbaum. 19 S.
- STAUB, C.; OTT, W.; HEUSI, F.; KLINGLER, G.; JENNY, A.; HÄCKI, M.; HAUSER, A., 2011: Indikatoren für Ökosystemleistungen: Systematik, Methodik und Umsetzungsempfehlungen für eine wohlfahrtsbezogene Umweltberichterstattung. Bern, Bundesamt für Umwelt BAFU. 106 S.
- TSCHUDIN, P.; EGGENBERG, S.; FIVAZ, S.; JUTZI, M.; SANCHEZ, A.; SCHNYDER, N.; SENN-IRLET, B.; GONSETH, Y., 2017: Endemiten der Schweiz – Methode und Liste, Schlussbericht. Bern, Bundesamt für Umwelt BAFU. 37 S.
- VONLANTHEN, P.; HEFTI, D., 2016: Genetik und Fischerei. Zusammenfassung der genetischen Studien und Empfehlungen für die Bewirtschaftung. Bern, Bundesamt für Umwelt BAFU. 90 S.

## Abstract

### Significance of conservation genetics for federal authorities

Genetic methods are increasing in their relevance as practical tools in conservation. Also federal agencies are applying these methods, mainly in the implementation of the protection (management) of animal and plant populations, and for the identification of taxa that are difficult to morphologically distinguish when it comes to the surveillance (monitoring, implementation success) of biodiversity. Since 2012, the federal council has affirmed the importance of maintaining and promoting genetic diversity. To do so, the national action plan should particularly support the strategic aims of gene conservation units (forest trees, regional floras, wild relatives of cultivated crops) and measures for *ex-situ* preservation and translocations (plants, animals). In the course of implementing the “ecological infrastructure,” it may be important knowing to what degree landscape features affect gene flow among populations and their habitat use.

Keywords: areas of concern, conservation, genetic diversity, genetic resources, governance, landscape genetics, population assignment, species management





# Naturschutzgenetik aus Ökobürosicht – Chancen und Erfahrungen

Conny Thiel-Egenter

FORNAT AG, Bergstrasse 162, CH-8032 Zürich  
conny.thiel-egenter@fornat.ch

**Sei es bei der funktionellen räumlichen Vernetzung in Wildtierkorridoren, bei der Früherkennung von aquatischen Neozoen oder der Wiederansiedlung von seltenen Pflanzenarten: Mit herkömmlichen feldökologischen Methoden stossen Ökobüros bei der Beantwortung von Naturschutzfragen an Grenzen. Naturschutzgenetische Methoden eröffnen hier neue Wege, wie ein Praxisbeispiel zur Vernetzung des Ameisen-Bläulings in mehreren Kantonen zeigt. Allerdings gibt es Hindernisse und Probleme bei der Anwendung naturschutzgenetischer Methoden, wie hohe Kosten, lange Projektdauer, schwierige Interpretation und heikle Umsetzung in die Praxis. Ökobüros müssen deshalb Partnerschaften mit Forschungsinstituten oder Stiftungen eingehen. Sie nehmen dabei eine wichtige Funktion bei der praxisnahen Vermittlung der Resultate an den Auftraggeber ein. In der heutigen Naturschutzpraxis werden naturschutzgenetische Methoden bei Nicht-Modell-Arten fast nur dank solchen Allianzen angewendet und sind dadurch für den Auftraggeber bezahlbar.**

## 1 Neue Chancen durch die Anwendung von naturschutzgenetischen Methoden

Als klassisches «Ökobüro» befasst sich Fornat (Forschung für Naturschutz und Naturnutzung) seit bald 40 Jahren mit Naturschutzthemen an der Schnittstelle zwischen angewandter Forschung und Praxis. Schon in der Gründungszeit wurden neue Methoden ausprobiert und eingeführt, wie beispielsweise die Schätzung des Rothirschbestands mittels nächtlicher Scheinwertertaxationen und Dunkelziffer (BLANKENHORN *et al.* 1979), oder die Erfolgskontrolle von Wildtier-Vernetzungsmassnahmen mit Infrarot-Kameras. Solche heute etablierten Methoden können gewisse Fragestellungen in der Praxis jedoch nicht beantworten.

So steht man mit herkömmlichen Feldmethoden beispielsweise an, wenn es darum geht, die funktionelle räumliche Vernetzung von Tier- oder Pflanzenarten nachzuweisen. Mit Fotofallen kann in einer Wirkungskontrolle zwar festgestellt werden, ob beispielsweise eine Vernetzungsstruktur in einem Wildtierkorridor von den Zielarten genutzt wird. Gerade bei Korridoren von überregionaler Bedeutung, welche auf die Vernetzung von weit migrieren-

den Arten über die Kantons- oder Landesgrenzen hinaus konzipiert sind, wäre jedoch das Erfassen von «Langdistanz-Wanderern» wünschenswert. Wenn auf einer Grünbrücke im Mittelland nicht nur «ein Hirsch» sondern ein weitgewandter «Hirsch aus einer Zentralschweizer Population» nachgewiesen werden kann, so wäre die Funktionalität dieser Vernetzungsstruktur viel besser dokumentiert.

Herkömmliche Methoden stossen in der Praxis auch bei der Früherkennung von invasiven, gebietsfremden Arten an Grenzen. Der Erstnachweis solcher unerwünschter Arten erfolgt meist zufällig, und oft erst in einem späten Stadium, welches eine Tilgung nicht mehr zulässt. So wäre zum Beispiel eine frühe Entdeckung invasiver Schwarzmeergrundel-Arten in Schweizer Gewässern wichtig für die Verhinderung der aktiven Ausbreitung flussaufwärts resp. der passiven Verschleppung von Laich mittels Sportbooten in weitere Gewässer. Zurzeit hat sich die Schwarzmundgrundel (*Neogobius melanostomus*) vom Rhein-Hafen bei Basel bis nach Rheinfeldern ausgebreitet. Gemäss der Strategie Schwarzmeergrundeln der AGIN-D (Arbeitsgruppe invasive Neozoen der Kantone) soll eine weitere Ausbreitung zwingend gestoppt werden (DÖNNI *et al.* 2016). Durch Abfischung,

Tauchgänge, Reusen und ähnliches ist der Nachweis von Fischen in der Anfangsphase jedoch nicht realistisch. Zur Umsetzung der Strategie soll den kantonalen Neobiota- und Fischereiverantwortlichen daher empfohlen werden, die Präsenz von Schwarzmeergrundeln in gewissen Gewässern mittels Umwelt-DNA (eDNA) zu untersuchen (MEIER und STAPFER 2017, in diesem Band).

Auch bei der Wiederansiedlung von Arten oder der Stärkung von beispielsweise kleinen und isolierten Populationen tappt die Naturschutzpraxis ohne genetische Methoden im Dunkeln: Welche Populationen sind als Spender zu empfehlen? Während genetische Untersuchungen bei Wiederansiedlungen von Säugetieren und Vögeln heute wohl als Standard angesehen werden können (vgl. genetische Begleitung Wiederansiedlung Bartgeier, genetische Untersuchung Steinbockkolonien; BIEBACH und KELLER 2017, in diesem Band), ist dies bei anderen Artengruppen erst selten der Fall. Gerade bei seltenen Pflanzenarten werden Umsiedlungen oder Neuansiedlungen als beliebte Artenschutzmassnahmen häufig vorgenommen. Misserfolge werden meist den nicht geeigneten oder nicht ausreichenden Pflegemassnahmen und den unzureichenden ökologischen Bedingungen am Standort zugeschrieben.

Solche Naturschutzfragen rufen nach neuen Untersuchungsmethoden. Die Naturschutzgenetik kann bei der Beantwortung neue Wege eröffnen. In der Folge sollen Möglichkeiten, Chancen und Hindernisse bei der Anwendung von naturschutzgenetischen Methoden im praktischen Naturschutz und Artenmanagement aufgezeigt werden. Dabei stützt sich der Text auf Beispiele aus eigenen Projekten, aus Projekten mit denen Fornat konfrontiert war, sowie auf die Erfahrung aus der Zusammenarbeit mit Auftraggebern wie kantonale Naturschutzfachstellen.

### Beispiel: Allianz von Ökobüros und Forschung für die Vernetzung des Ameisen-Bläulings in drei Kantonen

Der Lungenenzian-Ameisenbläuling (Kleiner Moorbläuling, *Phengaris [Maculinea] alcon*, Abb. 1) legt seine Eier vorwiegend auf Lungen- oder Schwalbenwurzartige (*Gentiana pneumonanthe*, *G. asclepiadea*), und lebt daher fast ausschliesslich in Flachmooren mit Vorkommen von einer dieser beiden Pflanzenarten sowie der entsprechenden Wirtsameise. Aufgrund des starken Rückgangs der Flachmoore oder nicht angepasster Bewirtschaftung sind viele Bestände dieses Bläulings nur noch klein und inselartig zerstreut. Der Lungenenzian-Ameisenbläuling ist auf der schweizerischen Roten Liste als «stark gefährdet» eingestuft und hat höchste nationale Priorität (BAFU 2011). Es wird angenommen, dass die zunehmende Isolation von Beständen eine weitere Gefährdungsursache darstellt und zum Aussterben von (Teil-)Populationen führen kann (DUŠEJ *et al.* 2008).

Für den langfristigen Schutz und die Förderung des Lungenenzian-Ameisenbläulings in der Schweiz müssen (Teil-)Populationen deshalb gezielt miteinander vernetzt werden. Hierzu müssen zuerst die aktuelle Vernetzungssituation, die effektiven Ausbreitungsdistanzen der Tagfalter, die Funktionalität von Vernetzungselementen sowie allfällig vorhandene Ausbreitungsbarrieren bekannt sein. In einem Pilotprojekt in drei Kantonen sollen

diese Grundlagen deshalb erarbeitet werden.

Herkömmliche feldökologische Methoden wie die Farb-Markierung von Tagfaltern für die Fang-Wiederfangmethode eignen sich aufgrund des grossen Aufwands, der eingeschränkten Aussagekraft oder der Gefährdung von Restpopulationen hierzu nicht. Auf Initiative zweier Ökobüros mit Art- und Gebietskenntnis (Büro für faunistische Felduntersuchungen, G. Dušej und Forat, D. Keller) wurde mit der WSL (D. Csencsics, R. Holderegger) als Naturschutzgenetik-Expertin und den Naturschutz-Fachstellen der Kantone St. Gallen, Schwyz und Zug eine Allianz gebildet und ein populationsgenetischer Ansatz gewählt:

An über 25 Standorten wurden je ca. 20 Raupen aus den Frasspflanzen entnommen (Abb. 2). Mittels SNP-Analyse (single-nucleotide polymorphisms) und der neuen Methode RADseq (restriction site-associated DNA sequencing) werden die Raupen genetisch analysiert.

Mit den Analysen soll Folgendes erörtert werden:

- Vernetzungs- respektive Isolationsgrad zwischen den Tagfalter-Populationen an den untersuchten Standorten sowie ihre möglichen Ausbreitungsdistanzen.
- Bezeichnung von (genetisch) besonders gefährdeten Populationen mit Vorschlägen zu Schutzmassnahmen (z.B. Anpassung der Bewirtschaftung, Erhaltung des Lebensraums,

Verbesserung der Vernetzung).

- Auswahl von Populationen, welche prioritär vernetzt werden sollen.
- Ermittlung von möglichen Ausbreitungsbarrieren (z.B. Siedlungen, intensives Kulturland) und Vernetzungsstrukturen mit Definition von Massnahmen zur Überwindung von Barrieren und zum gezielten Einsatz von Vernetzungselementen.

Die Resultate dienen als Basis für in die Praxis umsetzbare Empfehlungen zur gezielten Förderung des Lungenenzian-Ameisenbläulings. Die Naturschutzbehörden profitieren dabei vom Forschungsinteresse der WSL an der Anwendung der neuen genetischen Methode. Die Laborarbeiten werden als Eigenleistung der WSL, das Konzept und die Initialisierung der Zusammenarbeit als Eigenleistung der beiden Ökobüros durchgeführt. Aufwand und Ertrag bleiben damit für die finanzierenden Kantone in einem geeigneten Verhältnis. Hierdurch konnte das Projekt überhaupt erst lanciert werden.

## 2 Hindernisse und Probleme bei der Anwendung von naturschutzgenetischen Methoden in der Praxis

Naturschutzgenetische Untersuchungsmethoden weisen gegenüber herkömmlichen Feldmethoden bei gewissen Fragestellungen viele Vorteile auf, respek-



Abb. 1. Die Bestände des Lungenenzian-Ameisenbläulings sind stark zurückgegangen und inselartig zerstreut. Foto: Goran Dušej.

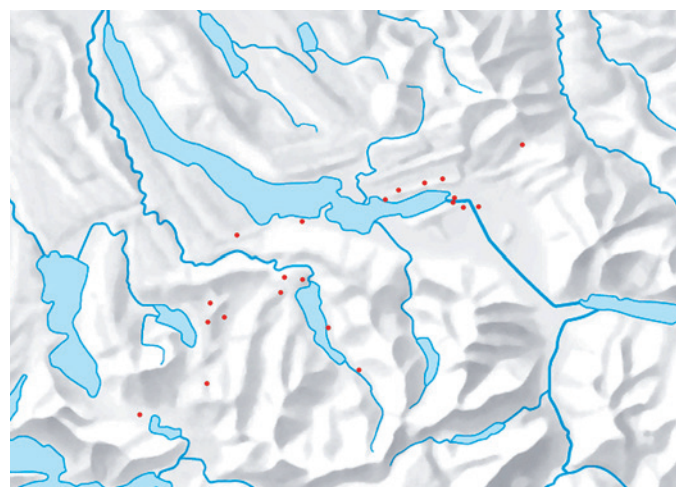


Abb. 2. Sammel-Standorte (rote Punkte) des Lungenenzian-Ameisenbläulings für die populationsgenetische Untersuchung. Kartengrundlage: Swisstopo.

tive ermöglichen erst gewisse Fragen zu beantworten. Literatur und Anwendungsbeispiele zu naturschutzgenetischen Projekten nehmen deshalb stetig zu. Trotzdem werden naturschutzgenetische Methoden heute in der Praxis von Ökobüros noch wenig angewandt. Nicht zuletzt weil solche Methoden bei den entsprechenden Behörden oder bei Bauherren nicht bekannt sind und von diesen nicht finanziert werden. Einige Hindernisse und Probleme bei der Anwendung von naturschutzgenetischen Methoden in der Praxis sollen hier besprochen werden.

## 2.1 Hohe Kosten und lange Projektdauer

Ein häufiges Hindernis für die Anwendung genetischer Methoden in Naturschutz und Wildtiermanagement sind erfahrungsgemäss die hohen Kosten. Insbesondere Auftraggeber aus kleineren Verwaltungen schrecken vor vermeintlich aufwändigen Genetik-Projekten zurück. Gerade bei geringem Budget fokussieren Fachstellen vermehrt auf die praktische Umsetzung von konkreten Naturschutzmassnahmen anstelle von Konzepten, Monitoring oder Grundlagenarbeiten. Als Grundlagenarbeiten werden Untersuchungen mit genetischen Methoden denn auch häufig angesehen, und deshalb als Aufgabe der Forschung verstanden. Bei Erfolgskontrollen im Rahmen von Wiederherstellung und Ersatz bei Bauprojekten besteht vermutlich noch wenig Erfahrung über die (Zahlungs-)Bereitschaft für genetische Methoden. Im Hinblick auf eine zukünftige Erfolgskontrolle einer geplanten Grünbrücke über die Autobahn A1 wollte die Jagdverwaltung des Kantons Aargau die genetische Fragmentierung der lokalen Rehpopulationen eruieren. Die gemeinsam mit der WSL gewonnenen Resultate dieser landschaftsgenetischen Untersuchung können dereinst für die Wirkungskontrolle herangezogen werden (HEPENSTRICK 2011). Die Bereitschaft, so lange voranzuplanen und erst Jahrzehnte später eine Wirkungskontrolle vorzunehmen, dürfte bei Auftraggebern jedoch meist nicht vorhanden sein.

## Beispiel: Umsetzung des Aktionsplans Frauenschuh (*Cypripedium calceolus*)

Im Kanton Aargau konnten bisher nur noch 18 der bekannten rund 140 historischen Vorkommen des Frauenschuhs bestätigt werden (Abb. 3, THIEL-EGENTER 2009). Die Abteilung Landschaft und Gewässer des Aargaus hat diese attraktive Art deshalb als Handlungsart definiert, für die der Kanton hohe Verantwortung zum Schutz und zur Förderung übernimmt. In einem Aktionsplan sind Massnahmen für diese Orchidee definiert wie die gezielte Standortpflege, die Förderung der Bestäuber, die künstliche Bestäubung, Samenausbreitung vor Ort aber auch Neugründungen mit *Ex-situ*-Kulturen aus nahe gelegenen Spenderpopulationen (THIEL-EGENTER 2009). In den letzten acht Jahren wurde vor allem in die Standortaufwertung und das Monitoring investiert. Dabei hat sich gezeigt, dass einzelne Individuen gar nie Blüten entwickelten und der durchschnittliche Fruchtansatz an den Standorten unterschiedlich tief ausfällt. Auffällig niedrig ist an allen Standorten die Anzahl neuer Keimlinge. An einigen Standorten ist ausserdem die natürliche Herkunft der Pflanzen in Frage gestellt. Aktuell prüft die kantonale Fachstelle das Ausbringen von *ex-situ* kultivierten Pflanzen an bestehenden oder neuen Standorten.

Ob die festgestellten Fitnessprobleme der Populationen genetische Ursachen haben, welche Populationen miteinander vernetzt sind, und ob Individuen fremder Herkunft ausgesetzt wurden – all diese Fragen lassen sich nur mit genetischen Methoden klären. Sie sind letztlich die Grundlage für den Entscheid, ob und welche Populationen sich als Spender für Neuansiedlungen oder zur lokalen Populationsstärkung eignen. Mikrosatellitenanalysen haben in Dänemark gezeigt, dass innerhalb und zwischen den einzigen zwei überlebenden Frauenschuh-Populationen keine genetische Diversität mehr vorhanden war (PEDERSEN *et al.* 2012). In Grossbritannien konnten angepflanzte Individuen genetisch ausfindig gemacht und für das laufende Wiederansiedlungsprogramm der Naturschutzbehörde als Spenderindividuen ausgeschlossen werden (FAY *et al.* 2009).



Abb. 3. Der Frauenschuh (*Cypripedium calceolus*) ist im Kanton Aargau stark zurückgegangen und soll mit einem Aktionsplan gezielt geschützt und gefördert werden. Foto: Conny Thiel-Egenter

Die hohen finanziellen Aufwendungen standen im Kanton Aargau bisher der Finanzierung einer naturschutzgenetischen Untersuchung im Wege. Dies ist insofern verständlich, als noch weitere rund 120 Tier- und Pflanzenarten als Handlungsarten des Kantons gelistet sind. So wurden bisher schnell umsetzbare, unkomplizierte Erhaltungs- und Fördermassnahmen im Sinn von Sofortmassnahmen in den Vordergrund gestellt. Sollen in Zukunft auch weitere Massnahmen des Aktionsplans wie die *ex-situ* Kultur, Neugründung und Populationsstützung umgesetzt werden, so wäre es für den effizienten und langfristigen Schutz des Frauenschuhs zu hoffen, dass naturschutzgenetische Untersuchungen Licht ins Dunkel bringen können.

## 2.2 Schwierige Umsetzung in die Praxis

Die Auswertung und Interpretation von naturschutzgenetischen Daten ist komplex und für Nicht-Genetiker nicht einfach verständlich und nachvollziehbar. Für eine konkrete Umsetzung im praktischen Naturschutz und Wildtiermanagement sind die Resultate und Erkenntnisse nicht immer so klar und

eindeutig wie vom Auftraggeber erwünscht. Bei gewissen Fragestellungen entstehen keine «richtig/falsch-Empfehlungen» sondern können lediglich Stossrichtungen aufgezeigt werden. Oft steht zu Beginn eines naturschutzgenetischen Projekts noch nicht fest, wie deutlich die Resultate sein werden, und ob gewisse Fragestellungen überhaupt beantwortet werden können. Dies kann zwar alles auch bei herkömmlichen Feldmethoden und deren statistischen Auswertung der Fall sein. Das Misstrauen scheint bei genetischen Methoden jedoch grösser zu sein aufgrund der noch geringen Bekanntheit und Anwendung sowie der oben beschriebenen Kostenintensität.

### Beispiel: Festlegen von Bewirtschaftungseinheiten für die Bachforelle mit genetischen Methoden

Aufgrund der Degradierung vieler Fliessgewässer sind Lebensraum und Fortpflanzungsmöglichkeiten von Bachforellen (*Salmo trutta*) mehr oder weniger stark beeinträchtigt. Zur Unterstützung der Fortpflanzung der Forellen sowie auch zur Erhaltung der Angelfischerei wird daher von den meisten Kantonen ein an die lokalen Gewässer angepasster Fischbesatz unterstützt. Die

Fischereiverwaltung des Kantons Aargau wollte das Bachforellen- und Besatzmanagement in seinen kantonalen Gewässern überprüfen. An Besatzfische wurde bisher einzig die Anforderung gestellt, dass sie aus Aargauer Gewässern stammen. Denn bisher hat man angenommen, dass es sich bei den Forellen im Kanton um eine einzige Population handelt (Departement Bau, Verkehr und Umwelt, 2011). Nun sollten der Effekt des Besatzes eruiert und biologisch sinnvolle Bewirtschaftungseinheiten ausgeschieden werden. Bewirtschaftungseinheiten sind Gewässerbereiche, innerhalb deren Grenzen Laichfischfang, Aufzucht und Besatz geschehen sollen. Hierzu eignete sich ein genetischer Ansatz zur Untersuchung der Populationsdifferenzierung und der Verwandtschaftsbeziehung von Forellen der Fischzuchtanlage und der Gewässer. Der Kanton Aargau beauftragte das Ökobüro Aquabios mit der Untersuchung (VOLANTHEN *et al.* 2017). Dieses konnte zeigen, dass zwar Genfluss zwischen Besatzmaterial und Forellenbestand in den Gewässern stattfand, die lokalen Bestände sich aber von den Besatzfischen genetisch unterschieden. VOLANTHEN *et al.* (2017) konnte damit auch aufzeigen, dass Fischzuchtanlagen bislang ungeeignetes genetisches Ma-

terial für den Besatz verwendet haben. Die Bachforellen-Populationen zeigten ausserdem eine sehr kleinräumige genetische Differenzierung, das heisst es fand nur wenig Austausch zwischen verschiedenen Gewässerstandorten statt. Diese Differenzierung war jedoch sehr gering: 80 Prozent der paarweisen Vergleiche zwischen den Standorten wiesen nur schwache genetische Unterschiede auf ( $F_{ST}$  zwischen 0 und 0,05).

Die Studie hat unzweifelhaft wichtige Kenntnisse zur Forellengenetik geliefert, und es ist den Autoren sehr gut gelungen, die Erkenntnisse auf verständliche Art zu beschreiben. In der Praxis dürften die Resultate trotzdem nicht ganz einfach umzusetzen sein und neue Fragen werden entstehen: Was bedeutet beispielsweise die signifikante aber sehr geringe Differenzierung der Forellenbestände, und wie relevant ist sie wirklich für das Management? Wo genau werden die Grenzen von Bewirtschaftungseinheiten in einem durchgängigen Gewässer gezogen? Was geschieht, wenn Aufstiegshindernisse und damit «genetische Barrieren» entfernt werden?

Hätte die Fischereifachstelle die genetischen Resultate 1:1 in die Praxis umsetzen wollen, so wären daraus über 100 Bewirtschaftungseinheiten ent-

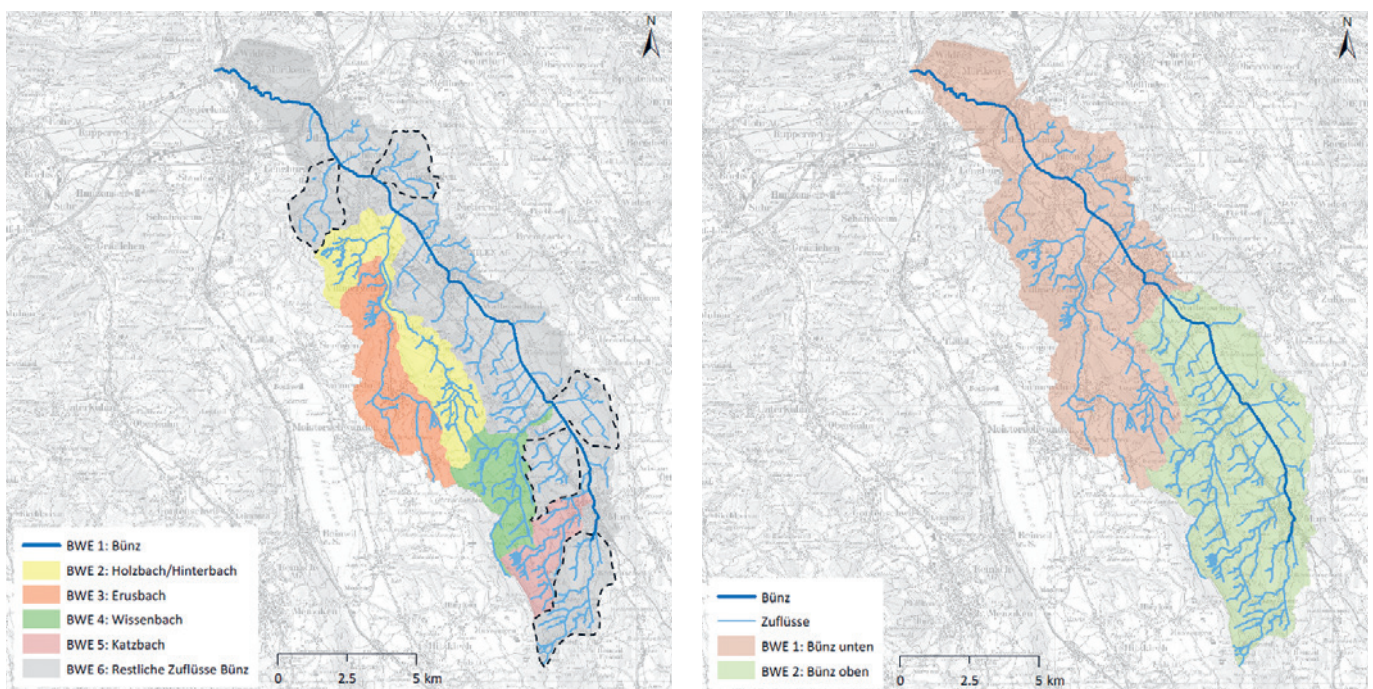


Abb. 4. Bewirtschaftungseinheiten (BWE) für die Forelle am Beispiel der Bünz im Kanton Aargau. Links: Anzahl BWE basierend auf der genetischen Untersuchung (differenzierte Forellenpopulationen); rechts: redimensionierte Anzahl BWE für die Praxis (VOLANTHEN *et al.* 2017).

standen (Abb. 4). Eine separate Bewirtschaftung jedes einzelnen Gewässers ist jedoch nicht praxistauglich. Gemeinsam haben Auftragnehmer und Fischereibehörde deshalb die Anzahl Bewirtschaftungseinheiten auf 35 reduziert. Ob diese immer noch anschauliche Zahl an Gewässerabschnitten handhabbar ist, und ob die Massnahmen der Förderung lokal angepasster Forellenpopulationen wirklich dienen, wird sich durch zukünftiges Monitoring weisen.

**Beispiel: Hybridisierung von Sika- und Rothirsch**

Zurzeit wandern Rothirsche (*Cervus elaphus*) in viele neue, in den letzten Jahrhunderten durch die Art unbesiedelte Gebiete im Mittelland wieder ein. Diese erfolgreiche Wiederbesiedlung birgt insbesondere in der Nordostschweiz jedoch eine (zu) wenig diskutierte Gefahr: Der aus Ost-Asien stammende Sikahirsch (*Cervus nippon*) kommt im Grenzgebiet der Kantone Schaffhausen, Zürich und Aargau vor und gehört zur länderübergreifenden Population in Baden-Württemberg. Die Zürcher Rothirschpopulationen im Tössbergland und in der Region Zimmerberg und Albis liegen in rund 30 km Entfernung zu den Sikavorkommen im Rafzer Feld (Abb. 5). Der Sikahirsch ist nah verwandt mit dem Rothirsch und die beiden Arten können sich kreuzen. Durch die Hybridisierung ist die genetische Integrität des Rothirschs bedroht. Sika-Rothirsch-Hybriden bringen fruchtbare Nachkommen mit Hybridmerkmalen hervor. Ab der 2. Generation hingegen kann eine Unterscheidung zum genetisch reinen Rothirsch phänotypisch sehr schwierig werden. In Schottland existieren Hybridrudel, die vor der genetischen Untersuchung als reine Rothirschrudel betrachtet wurden (SENN 2009). Die Studie in Schottland zeigte auch, dass es meistens die Sikastiere sind, die sich mit ansässigen Rothirschkühen verpaaren. Das Hybridkalb wächst dann in der Rothirschpopulation auf und verbreitet dort das Erbgut des Sikahirschs. In einem untersuchten Gebiet in Westschottland, wo die beiden Arten um 1970 erstmals in Kontakt kamen, existieren heute nur noch 40 Prozent

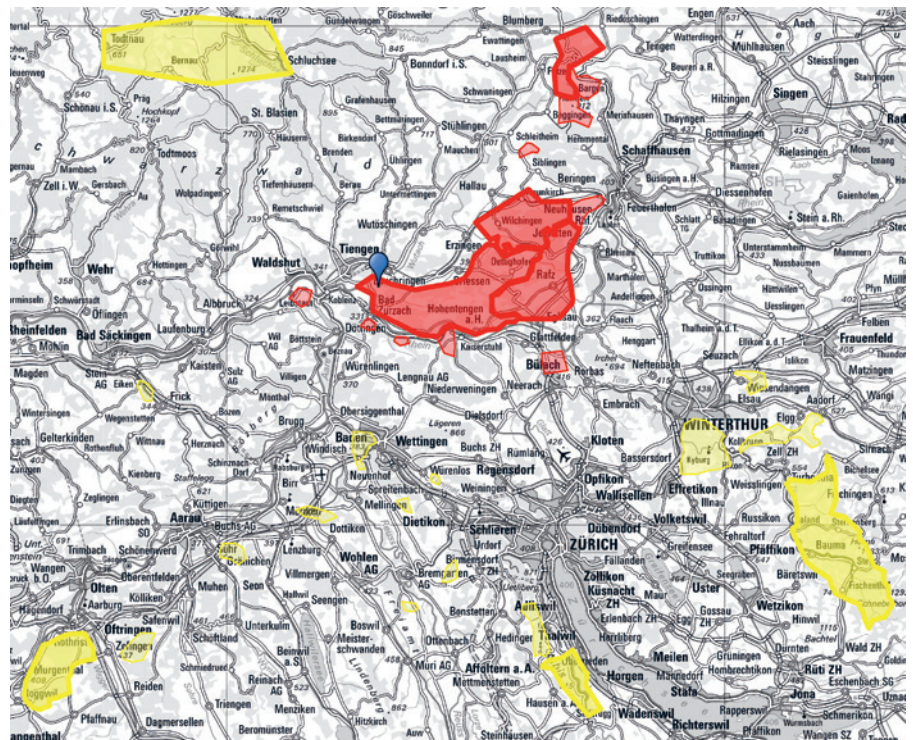


Abb. 5. Geschätzte Verbreitung von Sika- (rot) und Rothirsch (gelb) in deren möglichem Überschneidungsgebiet der Nordostschweiz basierend auf Daten von Arndt (2013) sowie Angaben der kantonalen Jagdverwaltungen und von Jagdrevieren. Kartengrundlage: Swisstopo.

reine Rothirsche. Diese starke genetische Vermischung basiert erstaunlicherweise auf nur wenigen Hybridisierungsereignissen (SENN 2009).

Auch wenn zwischen den heutigen Rothirsch- und Sikavorkommen einige Hindernisse und unterbrochene Wildtierkorridore liegen, wird es früher oder später zu einer Überlappung der Bestände kommen. Nicht auszuschliessen ist, dass es auf deutscher Seite bereits zu Kreuzungen gekommen ist.

Daher wäre eine frühzeitige genetische Untersuchung von auf der Jagd erlegten Sika- und Rothirschen im Überlappungsgebiet und dessen Umkreis aufschlussreich. Unabhängig von den Ergebnissen dürfte sich jedoch die Umsetzung von Massnahmen als politisch heikel und praktisch sehr schwierig erweisen. Ein selektiver Abschuss von Hybridhirschen ist aufgrund der äusserlichen Ähnlichkeiten schwierig. Ein Totalabschuss von Sikawild wäre auch mit grossem Aufwand kaum zu erreichen, zumal die grosse Quellpopulation mit geschätzten 700 Tieren auf deutscher Seite (ARNDT 2013) laufend Nachschub liefert. Zudem würde ein Totalabschuss wohl weder von der

Jägerschaft akzeptiert noch von Tierchutzkreisen toleriert. So wird es wohl mit oder ohne genetische Analyse dabei bleiben, dass die Kantone Zürich und Schaffhausen versuchen, den Sikabestand jährllich bezüglich Raum und Anzahl in Grenzen zu halten und die weitere Ausbreitung zu verhindern.

**3 Literatur**

ARNDT, G., 2013: Erfassung des Sikawildbestandes im Bereich des Sikavorkommens Hochrhein «Klettgaurücken» Im Auftrag der Gemeinden Klettgau, Hohentengen und Dettighofen.  
 BAFU, 2011: Liste der National Prioritären Arten. Arten mit nationaler Priorität für die Erhaltung und Förderung, Stand 2010. Bundesamt für Umwelt, Bern. Umwelt-Vollzug Nr. 1103: 132 S.  
 BIEBACH, I.; KELLER, L., 2017: Inzucht und ihre Bedeutung für den Naturschutz. WSL Ber. 60: 15–22.  
 BLANKENHORN, H.J.; BUCHLI, CH.; VOSER, P.; BERGER, CHR., 1979: Bericht zum Hirschproblem im Engadin und im Münstertal. Proget d' ecologia, Zernez. 160 S.

- Departement Bau, Verkehr und Umwelt, Abteilung Wald, 2011: Fischbesatz im Kanton Aargau, Besatzkonzept.
- DÖNNI, W.; THIEL-EGENTER C.; WALTHER, G.-R.; KNUTTI, A.; BITTNER, D.; SCARSELLI, M.; HAMBURGER, D.; ZOPFI, D.; FISCHER, D.; BUCKELMÜLLER, J.; SCHWENDENER, S.; HOLM, P., 2016: Schwarzmeergrundeln Schweiz - Eine Strategie von KVV und JFK, erstellt durch die AGIN-D.
- DUŠEJ G.; WERMEILLE, E.; CARRON, G., 2008: Aktionsplan Nr. 9, Kleiner Moorbläuling (*Maculinea alcon*).
- FAY, M.F.; BONE, R.; COOK, P.; KAHANDAWALA, I.; GREENSMITH, J.; HARRIS, J.; PEDERSEN, H.Æ.; INGROUILLE, M.J.; LEXER, C., 2009: Genetic diversity in *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) with a focus on north-western Europe, as revealed by plastid DNA length polymorphisms. *Ann. Bot.* 104: 517–525.
- HEPENSTRICK, D., 2011: Spannende Forschung an Rehen im Wildtierkorridor Suret. *Umwelt Aargau* 51: 35–36.
- MEIER, R.; STAFFER, A., 2017: Werkzeugkasten für genetische Methoden in der Biodiversitätsförderung. *WSL Ber.* 60: 49–56.
- PEDERSEN, H.Æ.; RASMUSSEN, H.N.; KAHANDAWALA, I.M.; FAY, M.F., 2012: Genetic diversity, compatibility patterns and seed quality in isolated populations of *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae). *Conserv. Genet.* 13: 89–98.
- SENN, H.V., 2009: Hybridisation between red deer (*Cervus elaphus*) and Japanese sika (*C. nippon*) on the Kintyre Peninsula, Scotland. PhD-Thesis, University of Edinburgh.
- THIEL-EGENTER, C., 2009: Aktionsplan Frauenschuh (*Cypripedium calceolus*) Kanton Aargau (Stand 2016), Abteilung Landschaft und Gewässer, Departement Bau, Verkehr und Umwelt, Kanton Aargau.
- VOLANTHEN, P.; KREIENBÜHL, T.; SCHMID, C., 2017: Populationsgenetische Untersuchung der Forellen im Kanton Aargau. Aquabios GmbH im Auftrag des Departements Bau, Verkehr und Umwelt, Sektion Jagd und Fischerei, Kanton Aargau.

### Abstract

#### Conservation genetics from the perspective of ecological consultancies – chances and experiences

Whether it be the functional spatial connectivity of wildlife corridors, early detection of aquatic alien species or the re-introduction of rare plant species, ecological consultancies are pushed to their limits when answering nature conservation issues using conventional methods. Here methods in conservation genetics open up new pathways, as a practical example of the connection of the Alcon blue in several cantons shows. However, there are constraints and problems in applying conservation genetic methods, such as high costs, long project duration, difficult interpretation of data and delicate practical implementation. Ecological consultancies must therefore collaborate with research institutes and foundations. In doing so, they take on an important role in practically conveying the results to the client. In today's practical conservation, genetic methods using non-model species are mainly applied due to such alliances, which also make them affordable for clients.

Keywords: conservation genetic methods, ecological consultancy, alliances with research institutes and foundations, population connectivity, detection of alien species, hybridization of species

# Application de la génétique de la conservation dans les bureaux d'études en écologie

Christoph Bühler<sup>1</sup> et Sylvain Dubey<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Hintermann & Weber AG, Austrasse 2a, CH-4153 Reinach

<sup>2</sup> Hintermann & Weber SA, rue de l'Eglise-Catholique 9b, CH-1820 Montreux

<sup>3</sup> Département d'Ecologie et d'Evolution, Biophore, Université de Lausanne, CH-1015 Lausanne  
buehler@hintermannweber.ch, dubey@hintermannweber.ch

**Les analyses génétiques offrent de nouvelles perspectives en conservation. Nous détaillons ici l'application de la génétique de la conservation dans les bureaux d'études en écologie en illustrant les différentes possibilités par des exemples concrets concernant: (i) l'analyse de processus écologiques (écologie des populations), (ii) la détermination d'espèces locales et invasives, (iii) des inventaires d'espèces par le biais de l'ADN environnemental, et (iv) l'estimation de la diversité génétique au sein d'une espèce.**

## 1 Introduction

Les bureaux d'études en écologie travaillent dans le domaine de la protection de la nature et du paysage pour les autorités, des institutions ou des entreprises. Les clients mandatent les bureaux pour sous-traiter les travaux qui vont au-delà de leurs propres capacités. La plupart du temps, il s'agit de projets et de questions très spécifiques rencontrés quotidiennement dans leurs activités. Les biologistes des bureaux d'études en écologie travaillent dans ce sens, comme des «artisans» qui reprennent les travaux de «construction» de leurs clients. Souvent, il s'agit de travaux liés à la biologie de la conservation, comprenant des projets et mesures en faveur de la biodiversité à prévoir ou à mettre en œuvre. La qualité des habitats, l'état des populations des espèces concernées, et l'évolution de la biodiversité sont toujours des thèmes centraux. Étant donné que les délais pour fournir des résultats sont souvent courts et que le coût doit être aussi bas que possible, seules des méthodes bien établies sont utilisées.

Actuellement, un vent de révolution souffle sur la biologie de la conservation et ses outils. De nouvelles méthodes de génétique moléculaire offrent un grand nombre de perspectives, par exemple dans la détection d'espèces rares, dans la planification de programmes de protection des espèces, ou lors du suivi des mesures de projets de mise en réseau d'habitats et de populations. Les compa-

raisons de fragments d'ADN offrent de nouvelles perspectives tout en mettant en évidence encore quantités d'autres informations qui peuvent difficilement être obtenue par le biais d'autres techniques: Quelle est la parenté entre les individus et quelle est leur origine géographique? Quelle distance ont-ils parcourue? Souffrent-ils de consanguinité? Il est à présent possible d'identifier des espèces endémiques ou des sous-espèces et de les distinguer des espèces introduites ou des hybrides issus d'individus relâchés dans la nature. Si la génétique moléculaire est encore majoritairement utilisée dans la recherche, elle commence à être appliquée de manière routinière. Les exemples suivants montrent où son emploi a déjà fait ses preuves ou où il pourrait se généraliser dans le futur. Surtout, l'analyse de l'ADN présent dans l'environnement (ADNe) ouvre de nouvelles portes concernant les suivis faunistiques, puisqu'il permet de détecter la présence d'espèces, par exemple dans un étang, par un simple prélèvement d'eau.

## 2 Applications dans nos projets:

Répondre aux questions en lien avec l'état et l'évolution de la biodiversité et la documenter est l'une des compétences de base d'un grand nombre de bureaux d'études en écologie. Les thèmes abordés peuvent être très diffé-

rents et vont des programmes de suivi au niveau national aux programmes de conservation des espèces pour les cantons ou les régions, parfois simplement pour la protection d'une seule population d'une espèce rare. HOLDEREGGER et SEGELBACHER (2016) ont décrit en détail la mise en application de la génétique de la conservation. Nous suivons ici cette structure thématique et présentons d'une manière analogue quelques exemples de la façon dont les méthodes génétiques moléculaires pourraient contribuer à répondre aux questions du client.

### 2.1 Analyser les processus écologiques (écologie des populations)

L'analyse des processus écologiques, tels que par exemple le comportement spatial des individus, la compétition interspécifique, ou encore la prédation, est important pour la conservation d'espèces menacées. En effet, leurs connaissances sont des prérequis pour élaborer des plans de conservation efficaces.

Les autorités en charge de la conservation de la nature ou les ONG mettent en place des plans de conservation des espèces, des projets de mises en réseau d'habitats ou des plans d'actions visant à promouvoir les espèces subissant de fortes contraintes environnementales. Pour que ces mesures soient efficaces, il est essentiel de comprendre le comportement spatial de la faune. En amont du plan d'action en faveur du crapaud calamite (*Epidalea calamita*; Fig. 1) du canton d'Argovie, il s'agissait tout d'abord de clarifier si les différentes populations présentes dans la zone agricole du Suhretal étaient connectées (fréquents échanges d'in-



Fig. 1. Site de ponte dans une zone agricole, une mesure efficace à la conservation du crapaud calamite (*Epidalea calamita*)? Le canton d'Argovie souhaitait une réponse à cette question avant de financer des mesures de ce type. Photos: Christoph Bühler, Sylvain Dubey.

dividus) et représentaient une métapopulation viable sur le long terme ou s'il s'agissait uniquement de petites stations isolées et potentiellement en danger d'extinction. Cette question a été adressée par une étude comprenant deux parties. Une première partie ayant pour but de localiser les lieux utilisés pendant la période d'activité et comme abris, ainsi que les mouvements à petite échelle. Ces résultats sont issus d'un suivi de crapauds munis d'un émetteur (SCHWEIZER 2014). La deuxième partie de l'étude s'est concentrée sur la connectivité à plus grande échelle, soit celle entre les huit stations de crapauds (distantes de plusieurs kilomètres et distribuées à travers la vallée). Une comparaison des séquences d'ADN de 284 individus a procuré des informations assez précises sur la provenance des crapauds calamites en l'espace d'une génération (FREI *et al.* 2016). L'obtention de tels résultats n'aurait jamais été possible par le biais d'un suivi standard plus laborieux et devant être effectué sur de nombreuses années pour fournir des résultats exploitables. Conjointement aux résultats de la radio télémétrie, les analyses génétiques ont démontré que la population de crapauds vivant dans la zone agricole est viable et interconnectée et ne constitue pas seulement une population « puit » ne survivant que grâce à une immigration permanente des zones avoisinantes « sources ». Par conséquent, les mesures de conservation en faveur du crapaud calamite en zone agricole

seront favorables à la consolidation de cette population.

Les espèces non indigènes peuvent avoir de forts impacts sur la biodiversité en affectant les relations trophiques dans leurs nouveaux environnements. La couleuvre tessellée (*Natrix tessellata*) a été introduite dans le lac Léman, où une espèce en voie d'extinction, la couleuvre vipérine (*Natrix maura*) est présente. Le déclin dramatique de la population de couleuvre vipérine pourrait être associé à l'apparition de la couleuvre tessellée par le biais d'une compétition alimentaire, ces deux espèces se nourrissant principalement de chabot (*Cottus gobio*). En réponse à ce déclin, un programme de contrôle de la couleuvre tessellée a été mis en place en 2007 pour réduire les effectifs de ce serpent introduit. En 2010, une nouvelle espèce de poisson, la blennie fluviatile (*Salaria fluviatilis*), qui partage le même habitat que le chabot, a été introduite accidentellement dans le lac Léman et a atteint des densités très élevées. Nous avons déterminé l'impact de la blennie sur la composition du régime alimentaire et la condition physique des couleuvres tessellées. Nous avons recueilli 294 couleuvres tessellées entre 2007 et 2013. À l'aide d'un marqueur génétique, nous avons identifié les espèces de poissons contenues dans les estomacs de la couleuvre tessellée. Nous avons trouvé un changement radical dans le régime des serpents après l'arrivée de la blennie, la consommation de chabot ayant di-

minué de 68 % et ayant été remplacée par la blennie. En outre, la condition physique des serpents a augmenté considérablement après l'arrivée de la blennie. Concernant la couleuvre vipérine, nous avons trouvé un effet significatif de la régulation des couleuvres tessellées sur leur condition physique. Ces découvertes ont des implications importantes concernant la conservation de la couleuvre vipérine, car cette nouvelle proie abondante pourrait réduire fortement la compétition alimentaire entre les deux espèces de serpent et la régulation de la couleuvre tessellée semble influencer positivement les couleuvres vipérines (DUBÉY *et al.* 2015).

## 2.2 Détermination des espèces

L'identification d'espèces est une condition préalable nécessaire à la protection légale des espèces vulnérables et prioritaires. Les espèces discrètes ou prêtant à confusion, ainsi que les espèces invasives étroitement apparentées, sont la cause de problèmes importants en conservation. Cependant, ceux-ci peuvent être résolus plus facilement avec l'aide de la génétique.

Les résultats des recherches génétiques de ces dernières années ont montré que, en Europe centrale, au moins 4 espèces de grenouilles du genre *Pelophylax* ont été introduites, plutôt qu'une seule espèce, la grenouille rieuse (*P. ridibundus*; DUBÉY *et al.* 2014,



2017; DUBEY et DUFRESNES 2017). En effectuant une analyse génétique par le biais de frottis buccaux sur 48 individus, nous avons étudié quelles espèces sont présentes dans la région de la Petite Camargue Alsacienne, une réserve naturelle au nord de Bâle. Pour chaque individu, un gène mitochondrial et un gène de l'ADN nucléaire ont été analysés et comparés aux séquences d'ADN publiées dans des bases de données génétiques. Sur la base des résultats, on peut dire (1) qu'au moins cinq espèces de *Pelophylax* sont présentes, (2) qu'il y a une forte introgression génétique entre les espèces avec la présence de nombreux hybrides, (3) et que la petite grenouille verte *P. lessonae*, endémique du centre de l'Europe, n'est plus présente dans la zone d'étude. Par conséquent, les cartes de distribution régionales existantes des espèces du genre *Pelophylax* devraient être révisées sur la base de ces constatations.

En raison de leur activité nocturne et de leurs quartiers parfois inaccessibles, les chauves-souris sont des organismes difficiles à étudier. Les chauves-souris sont des vertébrés jouissant d'une haute priorité de conservation, qui sont suivis par un grand nombre d'amateurs. Cependant, il n'y a que peu de données concernant leurs quartiers, et ceci même dans les zones urbaines. Les églises et les vieilles écoles possédant des accès à l'intérieur de leur toit depuis l'extérieur sont des quartiers potentiellement attractifs pour certaines espèces de chauve-souris, telles que le grand murin (*Myotis myotis*) et les oreillards roux et gris (*Plecotus auritus*, *P. austriacus*; Fig. 2). Ces deux derniers sont assez similaires morphologiquement. Puisque, comme chez d'autres espèces de chauve-souris, les individus ne sont pas présents dans une colonie pendant toute l'année et souvent difficilement accessibles, la détermination au moyen des excréments offre une alternative intéressante. Celle-ci nécessite une analyse génétique de l'ADN présent dans les excréments. En 2016, à la demande de la ville de Bâle, 25 églises ayant un fort potentiel pour les espèces de chauve-souris utilisant les habitations ont été sélectionnées et examinées. Pour chaque église, une visite a été effectuée afin d'y rechercher des quartiers potentiels. Dans 11 bâtiments, des preuves de la présence de chauves-sou-

ris ont été trouvées. Les résultats des analyses génétiques se sont révélés être surprenants. En effet, 5 quartiers avec la présence du rare oreillard gris ont été détectés. Ces résultats montrent que le canton de Bâle-Ville a une responsabilité importante concernant la conservation d'espèces nationales prioritaires de chauves-souris. Les données recueillies fournissent également des informations importantes sur le développement des colonies individuelles et constituent une base pour un programme national de suivi prévu pour les oreillards.

### 2.3 Inventaire des espèces

Depuis quelques années, un certain nombre d'études basées sur des analyses de l'ADN environnemental (ADNe: ADN présent dans l'environnement, tel que l'eau, par ex. par le biais des sécrétions et excréments déposés par les organismes) ont été publiées dans des revues internationales en lien avec la biologie de la conservation et le suivi de populations (voir revue de SHAW *et al.* 2017). Ces techniques étaient dans un premier temps réservées principalement aux milieux universitaires et considérées comme onéreuses. Cependant, l'efficacité de celles-ci pour détecter des espèces, par

exemple dans un milieu aquatique (en prélevant un simple échantillon d'eau), telles que des poissons, amphibiens ou mammifères, a permis le développement de compagnies privées spécialisées dans ce type d'analyses et proposant des prestations à des prix abordables. Par ce biais, il est désormais possible d'effectuer des suivis d'espèces aquatiques avec de l'ADNe à des prix qui peuvent être (beaucoup) plus abordables que des suivis standards (détection à vue, pêche électrique ou avec des nasses; voir par exemple DAVY *et al.* 2015) et avec moins d'impact sur l'environnement. De plus, ceux-ci permettent une bonne détectabilité des espèces rares (VALENTINI *et al.* 2016). Bien que l'analyse de l'ADNe ne donne pas toujours des résultats complets (absence de détection d'une espèce malgré sa présence), il est possible d'effectuer des inventaires de routine sur la base de son analyse, plus particulièrement en Europe où le nombre d'espèces d'amphibiens est limité. De plus, l'analyse de l'ADNe permet de mettre en évidence des espèces cryptiques ou difficiles à observer en raison d'une végétation aquatique importante ou des eaux turbides.

Un test pratique portant sur 10 points d'eau, dans le cadre d'un suivi des amphibiens du canton d'Argovie, a confirmé l'aptitude du procédé



Fig. 2. La détermination des espèces à l'aide de l'ADN contenu dans leurs excréments est avantageuse pour des espèces cryptiques ou inaccessibles. Ainsi, l'analyse génétique a prouvé l'existence de cinq stations d'oreillard gris (*Plecotus austriacus*) inconnues jusqu'à présent à Bâle. Photo: Dietmar Nill.

de détection, permettant par exemple d'identifier une nouvelle population de triton crêté. Bien que l'analyse de l'ADNe ne soit pas en mesure de remplacer le travail sur le terrain de plus de 90 bénévoles effectuant des suivis de populations d'amphibiens chaque année dans le canton d'Argovie, les analyses génétiques fournissent une méthode de détection puissante lorsque le travail de terrain conventionnel atteint ses limites (par exemple: points d'eau difficiles d'accès ou envahis par la végétation et eau turbide).

Cette année, nous avons analysé, en collaboration avec Spygen (www.spygen.com), des échantillons provenant de 65 étangs dans le but de déterminer la présence (i) d'une espèce menacée dans le secteur du Chablais vaudois, le triton crêté (*Triturus cristatus*; Fig. 3) et (ii) d'une espèce de triton invasive dans le canton de Genève (*Lissotriton vulgaris meridionalis*). De plus, la technique utilisée, (NGS: next generation sequencing) permettant de détecter la totalité des espèces d'amphibiens présentes dans un échantillon d'eau et non qu'une seule espèce cible, un suivi des différentes espèces d'amphibiens présentes dans les sites a pu être effectué. Ces résultats ont ensuite été comparés à des données obtenues par le biais de suivis standards. Les résultats montrent qu'il est possible de déterminer la présence de ces deux espèces d'une manière efficace avec l'ADNe, ainsi que les autres espèces d'amphibiens présentes dans les points d'eau analysés. De plus, cette technique per-

met de réduire très fortement le temps passé à effectuer un suivi sur le terrain (0,5–1 h par site) par rapport à un suivi classique (chasse à vue et pose de nasse) et par conséquent l'impact sur les milieux naturels.

#### 2.4 Etude de la diversité génétique

La surveillance de la biodiversité est une responsabilité fédérale. La diversité génétique, ainsi que la diversité des espèces et des habitats, sont des niveaux d'organisation distincts de la biodiversité. Leur importance pratique est reconnue principalement pour la viabilité de populations d'espèces rares (p. ex. baisse de la capacité à faire face à des changements environnementaux en cas de perte de diversité génétique au sein des populations), mais a aussi été montrée d'une manière plus générale chez des semis de plantes de pâturage, certaines lignées génétiques locales étant plus vigoureuses que d'autres qui étaient de provenances géographiques plus éloignées (BUCHAROVA *et al.* 2017). Ce résultat montre que l'importance de l'adaptation génétique devrait être considérée dans les mesures de conservation (DURKA *et al.* 2016). L'étude de l'état de la diversité génétique dans le cadre d'un suivi de la biodiversité nationale est donc pleinement justifiée. Les indicateurs qui reflètent la diversité génétique sont pertinents, mais nécessitent encore d'être développés (HOBAN *et al.* 2014). Une première étape est l'étude sur le papil-

lon demi-deuil (*Melanargia galathea*) effectuée par le WSL (SCHMID *et al.* 2015), qui combine les analyses génétiques avec le travail de terrain effectué par les bureaux d'études en écologie. Par le biais du MBD (Monitoring de la Biodiversité en Suisse), il a été possible en un court laps de temps de collecter un nombre d'individus suffisant pour effectuer des analyses génétiques (Fig. 4). Le MBD est un projet de la Confédération, qui est organisé et coordonné par un bureau d'études en écologie. Le travail de terrain est effectué par des indépendants. Le demi-deuil est une espèce adéquate pour effectuer un monitoring génétique, car ce papillon est un spécialiste des prairies sèches et est considéré comme une espèce indicatrice dans de nombreux projets de mise en réseau des habitats. La diversité génétique du demi-deuil a été déterminée au moyen de microsattellites. Quatre indicateurs de la diversité génétique ont été utilisés, tels que la richesse allélique et le degré d'hétérozygotie. D'après les données, 4 groupes génétiques différents, structurés essentiellement par la topographie des Alpes et les refuges pendant la dernière glaciation, ont été détectés chez cette espèce. Toutefois, la taille des populations et les flux génétiques influent directement sur les mesures de diversité génétique. Il n'est donc pas encore clair de quelle manière les données doivent être interprétées et quelle est l'influence de l'homme sur ces mesures. D'une manière plus générale, l'utilisation de la diversité génétique comme indicateur



Fig. 3. Exemple de prélèvement d'eau sur le terrain pour effectuer des analyses d'ADNe dans le cadre d'un suivi du triton crêté dans le canton de Vaud. Photos: Sylvain Dubey.



Fig. 4. Instruction du personnel sur le terrain pour capturer les papillons: les programmes de suivi existants permettent d'effectuer des prélèvements pour les analyses génétiques d'une manière efficace et avec peu d'effort supplémentaire, par exemple pour le demi-deuil (*Melanargia galathea*). Photos: Salome Reutimann, Thomas Stalling.

national est techniquement réalisable, les nouvelles méthodes d'analyses génétiques étant particulièrement performantes lorsque l'étude d'un grand nombre d'échantillons est nécessaire. Il reste à améliorer nos connaissances concernant l'interprétation des résultats en rapport avec les espèces cibles. Cependant, avec le MBD comme projet à long terme de la Confédération et la disponibilité des analyses moléculaires couplée aux échantillons du demi-deuil déjà récoltés, la situation initiale est meilleure que jamais.

### 3 Besoins importants à l'avenir

Malgré la précision actuelle et la grande efficacité des techniques d'analyses génétiques, il est important de pouvoir mieux connaître l'efficacité de celles-ci, particulièrement concernant l'ADNe et p.ex. la probabilité de détection d'une espèce en lien avec sa densité et le type de points d'eau échantillonnés. En effet, la présence potentielle de faux négatifs dans de telles analyses est un point important, qu'il est nécessaire de considérer lorsque des mesures de conservations sont basées sur ce type de suivis.

Dans un contexte de monitoring de la biodiversité, Il est aussi urgent de compléter les banques de données génétiques concernant les organismes aquatiques (invertébrés), ainsi que de dé-

velopper et d'optimiser les méthodes permettant d'effectuer des inventaires d'insectes à large échelle, en analysant par exemple les contenus de pièges à insectes. Afin de pouvoir obtenir des informations, issues d'analyses génétiques, aussi fiables que possible pour un nombre croissant de groupes taxonomiques, il est important de progressivement compléter les banques de données.

Finalement, les méthodes génétiques (estimation des flux de gènes entre les populations) permettant d'estimer l'efficacité des mesures favorisant la connexion des populations devraient être utilisées d'une manière plus systématique, ce qui permettrait de pouvoir comparer les effets et de mieux les interpréter.

### 4 Références

- BUCHAROVA, A.; MICHALSKI, S.; HERMANN, J.-M.; HEVELING, K.; DURKA, W.; HÖLZEL, N.; KOLLMANN, J.; BOSSDORF, O., 2017: Genetic differentiation and regional adaptation among seed origins used for grassland restoration: lessons from a multispecies transplant experiment. *J. Appl. Ecol.* 54: 127–136.
- DAVY, C.M.; KIDD, A.G.; WILSON, C.C., 2015: Development and validation of environmental DNA (eDNA) markers for detection of freshwater turtles. *PLoS One.* 2015; 10: e0130965.
- DUBEY, S.; DUFRESNES, C., 2017. An extinct vertebrate preserved by its living hybridogenetic descendant. *Sci. Rep.* 7: 12768.
- DUBEY, S.; LEUENBERGER, J.; PERRIN, N., 2014: Multiple origins of invasive and « native » water frogs (*Pelophylax* spp.) in Switzerland. *Biol. J. Linn. Soc.* 112: 442–449.
- DUBEY, S.; CHRISTE, P.; FORMENTI, V.; STAUB, E.; SCHUERCH, J.; GLAIZOT, O.; URSENBACHER, S., 2015: Introduced freshwater blenny influences the diet and body condition of the invasive dice snake in Lake Geneva. *J. Wildl. Manage.* 79: 338–343.
- DUFRESNES, C.; DI SANTO, L.; LEUENBERGER, J.; SCHUERCH, J.; MAZEPA, G.; GRANDJEAN, N.; CANESTRELLI, D.; PERRIN, N.; DUBEY, S., 2017: Cryptic invasion of Italian pool frogs (*Pelophylax bergeri*) across Western Europe unraveled by multilocus phylogeography. *Biol. Invasions* 19: 1407–1420.
- DURKA, W.; MICHALSKI, S.G.; BERENDZEN, K.W.; BOSSDORF, O.; BUCAROVA, A.; HERMANN, J.M.; HÖLZEL, N.; KOLLMANN, J., 2016: Genetic differentiation within multiple common grassland plants supports seed transfer zones for ecological restoration. *J. Appl. Ecol.* 54: 116–126.
- FREI, M.; CSENCICS, D.; BRODBECK, S.; SCHWEIZER, E.; BÜHLER, C.; GUGERLI, F.; BOLLIGER, J., 2016: Combining landscape genetics, radio-tracking and long-term monitoring to derive management implications for Natterjack toads (*Epidalea calamita*) in agricultural landscapes. *J. Nat. Conserv.* 32: 22–34.
- HOBAN S.; ARNTZEN J.A.; BRUFORD M.W.; GODOY J.A.; HOEZEL A.R.; SEGELBACHER G.; VILÀ C.; BERTORELLE G., 2014: Comparative evaluation of potential indica-

- tors and temporal sampling protocols for monitoring genetic erosion. *Evol. Appl.* 7: 984–999.
- HOLDEREGGER, R.; SEGELBACHER, G., 2016: Naturschutzgenetik. Ein Handbuch für die Praxis. Bern, Haupt. 248 S.
- SCHMID, M.; BIRRER, S.; BOLLIGER, J.; CSENSICS, D.; GUGERLI, F., 2015: Monitoring genetischer Vielfalt: Fallbeispiel Schachbrettfalter. *INSIDE Natur Landschaft* 1/15: 19–24.
- SCHWEIZER E., 2014: Raumnutzung der Kreuzkröte (*Bufo calamita*) im Ackerbaugesamt. Bachelorarbeit, unpubliziert. Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Wädenswil.
- SHAW, J.L.A., WEYRICH, L.; COOPER, A., 2017: Using environmental (e)DNA sequencing for aquatic biodiversity surveys: a beginner's guide. *Mar. Freshw. Res.* 68, 20–33.
- VALENTINI, A.; TABERLET P.; MIAUD C.; CIVADE R.; HERDER J.; THOMSEN P.F.; BELLEMAIN E.; BESNARD A.; COISSAC E.; BOYER F.; GABORIAUD C.; JEAN P.; POULET N.; ROSET N.; COPP G.H.; GENIEZ P.; PONT D.; ARGILLIER C.; BAUDOIN J.M.; PÉROUX T.; CRIVELLI A.J.; OLIVIER A.; ACQUEBERGE M.; LE BRUN M.; MØLLER P.R.; WILLERSLEV E.; DEJEAN T., 2016: Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.* 25: 929–942.

## Abstract

### Application of conservation genetics in consulting firms on environment

Genetic analyses offer new perspectives and allow responding various questions relevant to conservation, e.g.: what is the kinship of individuals and their geographic origin? How far are they dispersing? Are they suffering from inbreeding? It is also possible to identify endemic species or subspecies, as well as invasive species and their hybrids with local species. Importantly, the analysis of environmental DNA (eDNA) is opening new doors concerning wildlife monitoring, as it renders possible to detect the presence of species in water bodies, by a basic sampling of water. Here we illustrate these different possibilities and their limits with concrete studies about species determination and inventories, ecological processes, and genetic diversity, in various vertebrate species and in a butterfly species distributed throughout Switzerland.

Keywords: biodiversity monitoring, environmental DNA, species identification, species inventory, vertebrates, insects.