

Arealweite Phylogeografie und
Populationsgenetik der temperat-montanen
Meum athamanticum (Apiaceae)

Vom Fachbereich Biologie der Universität Kaiserslautern
zur Verleihung des akademischen Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
genehmigte Dissertation

vorgelegt von
Dipl.-Geograf Stefan Huck

Gelnhausen, 2006

(D 386)

Tag der Disputation
11. Mai 2006

Promotionskommission:

1. Gutachter: Prof. Dr. Burkhard Büdel
 2. Gutachter: Prof. Joachim W. Kadereit, Ph. D.
- Vorsitzender: Prof. Dr. E. Neuhaus

Hiermit erkläre ich, Stefan Huck, dass ich diese Dissertation selbständig verfasst habe und dass ich keine anderen Quellen und Hilfsmittel als die angegebenen benutzt und die Stellen der Arbeit, die anderen Werken dem Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Fall als Entlehnung kenntlich gemacht habe. Das gleiche gilt auch für beigegebene Abbildungen.

Stefan Huck Gelnhausen, im Februar 2005.

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	3
3	Material und Methoden	9
3.1	Das Untersuchungsobjekt <i>Meum athamanticum</i> Jacquin – Bärwurz	9
3.1.1	Gesamtverbreitung	11
3.1.2	Systematische und biogeografische Aspekte	13
3.2	Markersysteme für die genetischen Untersuchungen	15
3.3	Probenmaterial für die genetischen Untersuchungen	16
3.4	DNA-Isolation	20
3.5	Erstellung des AFLP-Datensatzes	20
3.5.1	Allgemeines zur AFLP	20
3.5.2	Restriktion und Ligation	21
3.5.3	Präselektive Amplifikation	22
3.5.4	Selektive Amplifikation	23
3.6	Analyse der AFLP-Daten	26
3.6.1	Neighbor-Joining-Analyse	27
3.6.2	Modellbasiertes Clusterverfahren	28
3.6.3	Hauptkoordinaten-Analyse (PCO)	29
3.6.4	Analyse der molekularen Varianz (AMOVA)	29
3.6.5	Isolation-by-distance-Beziehung	30
3.6.6	Diversitätsindices	31
3.6.7	Geneflow	32
3.7	PCR-Amplifikation und Sequenzierung der ITS- Region	32
3.8	PCR-Amplifikation und Sequenzierung der ETS- Region	34
3.9	Analyse der Sequenzdaten	35
4	Ergebnisse	37
4.1	Arealweite Phylogeografie	37
4.1.1	AFLPs	37
4.1.1.1	Geografisch-genetische Gruppen	37
4.1.1.2	Genetische Diversität innerhalb der Populationen und Regionen	47
4.1.1.3	Genetische Differenzierung zwischen Populationen und Regionen	50
4.1.2	ITS- und ETS-Sequenzen	53

4.1.2.1	Maximum Parsimony-Phylogramm	53
4.1.2.2	Haplotypennetzwerk	54
4.2	Mitteleuropäische populationsgenetische Studie	56
4.2.1	AFLPs	56
4.2.1.1	Geografisch-genetische Gruppen im zentralen Mitteleuropa	56
4.2.1.2	Genetische Distanzen, gene flow und sekundärer Kontakt zwischen mitteleuropäischen Populationen	62
4.2.1.3	Genetische Diversität	69
4.2.1.4	Genetische Differenzierung	71
4.2.1.5	Korrelation zwischen genetischer Diversität und Populationsgröße	74
5	Diskussion	77
5.1	Nord-Süd-Differenzierung	77
5.2	Differenzierung zwischen Populationen	78
5.3	Persistenz im Periglazialgebiet	79
5.4	Nördliche Durchmischung vs. südliche Isolation	81
5.5	Nördliche Durchmischung	83
5.6	Südliche Isolation	85
5.7	Refugien nördlich der Alpen	85
5.8	Südeuropäische Refugien	89
5.9	Die SW-Alpen	92
5.10	Folgerungen aus der arealweiten und mitteleuropäischen Untersuchung für den Schutz von <i>Meum athamanticum</i>	93
5.11	Die Rolle der mitteleuropäischen Mittelgebirge in der spätquartären Vegetationsgeschichte Europas	98
5.12	Ausblick	100
6	Literatur	102
	Anhang	I
	Danksagung	X
	Lebenslauf	XII

1 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der molekularen Biogeografie und der Populationsgenetik von *Meum athamanticum* (Apiaceae). Die Untersuchung stellt dabei die erste arealweite Phylogeografie einer europäischen temperat-montanen Pflanzenart dar. Neben der biogeografischen Struktur lag ein Schwerpunkt dieser Arbeit auf der Untersuchung der *M. athamanticum*-Populationen des mitteleuropäischen Periglazialgebietes. Dadurch sollte ein Beitrag zur aktuell geführten Debatte und Theoriebildung der postglazialen Arealentwicklung temperater Arten geleistet und die Rolle des mitteleuropäischen Mittelgebirgsraums für die historische Entwicklung der Art beleuchtet werden. Auf der Basis populationsgenetischer Analysen sollten außerdem Aussagen zum Schutz der gefährdeten Art *M. athamanticum* getroffen werden.

Für die Arbeit wurden AFLP-Untersuchungen an 173 Individuen aus 23 Populationen aus dem gesamten Verbreitungsgebiet von *M. athamanticum* durchgeführt. Außerdem wurden von 24 Individuen ITS- und ETS-Sequenzen erzeugt und analysiert, um Hinweise auf die ursprünglichen Evolutionsvorgänge innerhalb der Art zu erhalten. Für die feinere Auflösung des mitteleuropäischen Teilareals wurde in einem zweiten AFLP-Datensatz 210 Individuen aus 14 Populationen untersucht.

Innerhalb der Art ist eine deutliche Nord-Süd-Differenzierung nachweisbar, die durch eine intermediäre Populationsgruppe in den Südwest-Alpen, die vermutlich eine sekundäre Kontaktzone repräsentiert, getrennt wird. Die starke genetische Separierung südlicher Populationen und die Existenz distinkter ITS/ETS-Haplotypen liefern Hinweise darauf, dass die Auftrennung innerhalb *M. athamanticum* relativ alt ist. Das wird gestützt durch die Tatsache, dass in allen drei großen geografischen Regionen Populationen mit hoher genetischer Diversität und genetisch alte Reliktpopulationen, die durch eine hohe Zahl eigener Fragmente gekennzeichnet sind, existieren.

Die Ergebnisse der individuellen und populationsbezogenen Diversitätsanalysen zeigen, dass *M. athamanticum* sich nicht an den großräumigen Rekolonisationsvorgängen der europäischen Flora beteiligte, sondern zumindest das letzte glaziale Maximum im periglazialen Mitteleuropa überdauerte. Ein Refugialgebiet bestand wahrscheinlich im Umfeld des französischen Zentralmassivs, ein weiteres

vermutlich im Randbereich von Ardennen/Eifel. Weiter gibt es Hinweise darauf, dass rund um den Gebirgsbogen des Erzgebirges und im Umfeld des Schwarzwaldes Refugien der Art gelegen haben. Und schließlich wird eine glaziale Persistenz im Bereich der Britischen Inseln postuliert. Eine Gruppe mit Populationen aus dem Thüringer Wald und dem Bayerischen Alpenvorland sind als Übergangsgruppe und sekundäre Kontaktzone zwischen den mitteleuropäischen Refugien zu deuten.

Die Ergebnisse weisen auf unterschiedliche Migrationsmuster von *M. athamanticum* hin, die durch die topografischen Gegebenheiten in den geografischen Teilräumen geprägt sind. Im nördlichen Teilareal von *M. athamanticum* kam es bei einem vergleichbar wenig ausgeprägten Relief (heutige Vorkommen zwischen 200 und 1020 m ü. NN) zu geografisch weiträumigen longitudinalen und latitudinalen Migrationen, was die Bildung intramontaner Populationen und den genetischen Austausch mit benachbarten Populationen ermöglichte. Demgegenüber kam es in Südeuropa während kalter Perioden im Zuge der klimabedingten Absenkung der Vegetationszonen zu geografisch eng begrenzten, altitudinalen Wanderungsbewegungen (heutige Vorkommen zwischen 1400 und 2900 m ü. NN), womit ein genetischer Austausch zwischen benachbarten Populationen auch in den Kaltphasen eingeschränkt war. Die genetischen Merkmale (AMOVA: Differenzierung zwischen den Populationen; NJ: längere Äste; modellbasiertes Clusterverfahren: höhere Likelihood für Differenzierung; hohe Anzahl privater und fixierter privater Fragmente und isolation-by-distance) der Populationen des südlichen Arealrandes (rear edge) reflektieren insgesamt Isolationereignisse, die vermutlich bis in das Tertiär zurückreichen.

Aus den Ergebnissen der arealweiten phylogeografischen Studie als auch der mitteleuropäischen populationsgenetischen Studie können Schlussfolgerungen für den Schutz von *M. athamanticum* gezogen werden können. Dabei werden die rear-edge-Populationen der südeuropäischen Hochgebirge, genetisch rezent verarmte Kleinpopulationen in Mitteleuropa und die genetisch diversen Populationen in allen Teilarealen als prioritär für den Erhalt der Art eingestuft.

2 Einleitung

Die Art *Meum athamanticum* repräsentiert mit ihrem Arealmuster wie kaum eine andere Pflanze die mitteleuropäischen Mittelgebirge und ist ein charakteristischer Bestandteil der Mittelgebirgsvegetation. Ihr Verbreitungsmuster hängt, wie das der meisten anderen mitteleuropäischen Pflanzen, im Wesentlichen mit der postglazialen Klimaentwicklung zusammen.

Die Frage nach der postglazialen Arealentwicklung wurde bisher nicht an disjunkten europäischen Mittelgebirgsarten diskutiert und die arealweite Untersuchung an der temperat-montanen Art *M. athamanticum* stellt eine wichtige Ergänzung zu bisherigen phylogeografischen Studien in Europa dar. Bereits durchgeführte Untersuchungen konzentrieren sich größtenteils auf alpine (z. B. Stehlik 2000, Stehlik et al. 2001, Zhang et al. 2001, Schönswetter et al. 2002, Kropf et al. 2003, Schönswetter et al. 2005), arktisch-boreale (z. B. Gabrielsen et al. 1997, Tollesrud 1998, Tremblay & Schoen 1999, Schönswetter et al. 2003, Tyler 2002a, Tyler 2002b), Küstenpflanzen (Clausing et al. 2000, Arafah 2005, Westberg 2005) oder Baumarten der gemäßigten Klimazonen (z. B. Demesure et al. 1996, Dumolin-Lapègue et al. 1997, Ferris et al. 1998, Petit et al. 2002a, Petit et al. 2002b, Hampe et al. 2003, Heuertz et al. 2004). Andere Studien beschränken sich aus arealgeographischer Sicht auf Teilareale weiter verbreiteter Arten (Graham et al. 1997, Fischer & Matthies 1998, Meikle et al. 1999, Gaudeul et al. 2000, Jordano & Godoy 2000, Baumel et al. 2001, Després et al. 2002, Nordal et al. 2005) oder auf die Gesamtareale lokal oder regional vorkommender, zumeist endemischer südeuropäischer Taxa (Martín et al. 1997, Martín et al. 1999, Freville et al. 2001).

Am Beispiel von *M. athamanticum* soll die nacheiszeitliche Entwicklung einer temperat-montanen, europäischen Art mit AFLP-Markern und durch Methoden statistischer Phylogeografie aufgeklärt werden. Es soll insbesondere geklärt werden, ob es sich bei den heutigen Teilarealen um

1. Reliktareale mit hoher genetischer Diversität, oder um
2. nacheiszeitliche Expansionsareale mit geringer Diversität handelt und
3. welche Rolle der periglaziale Mittelgebirgsraum in der historischen Entwicklung der Art gespielt hat.

Da die klimabedingten Vorgänge der Arealregression und –expansion in besonderem Maße auch Auswirkungen auf die genetische Diversität innerhalb und zwischen Populationen einzelner Arten hatten, liefern phylogeografische Untersuchungen zur Biogeografie von Arten auch wichtige Basisinformationen für den Naturschutz (Ryder 1986, Moritz 1994, Avise 2000). Vor allem Populationen mit hoher genetischer Diversität als auch isolierte Populationen mit eigenständigen genetischen Merkmalen haben eine hohe Bedeutung für den langfristigen Schutz der gefährdeten Art *M. athamanticum*.

Arealweite Phylogeografie

Die heutigen Arealmuster von Pflanzenarten in Europa stehen in engem Zusammenhang mit den quartären Klimaschwankungen (Stebbins 1950, Hewitt 1996). Mit dem Anfang des Mittelpleistozäns vor etwa 700 000 Jahren setzte ein ausgeprägter mehrfacher Wechsel von Kalt- und Warmzeiten ein (Sibrava 1986, Webb & Bartlein 1992). Im gesamten Pleistozän lassen sich in Europa etwa 10 Folgen von Kalt- und Warmzeiten unterscheiden (Sibrava 1986, de Jong 1988, Lang 1994). Die enormen klimatischen Veränderungen während der pleistozänen Eiszeiten führten zur Migration, Isolation, Durchmischung und dem Aussterben von Pflanzenpopulationen (Avise 1992, Hewitt 1996, Bennett 1997). An die Klimadepression der letzten Kaltphase konnten sich nördliche Populationen temperater Arten nicht anpassen und während der maximalen Ausdehnung des Inlandeises während der Würm-Eiszeit vor ca. 20 000 Jahre BP beschränkte sich ihr Areal auf kleine Refugien im südlichen Europa. Im Postglazial dehnte sich ihr Verbreitungsgebiet wieder nach Norden aus (Hewitt 1996, Comes & Kadereit 1998, Taberlet et al. 1998, Hewitt 2000).

Auf Basis der verwandtschaftlichen Beziehungen und der räumlichen Verteilung einzelner Evolutionslinien untersucht der Wissenschaftszweig der Phylogeografie (Avise et al. 1987) die historische Arealentwicklung von Arten. Für phylogeografische Untersuchungen stellt der europäische Kontinent ein besonders komplexes biogeografisches Modell dar, da bei Nord-Süd gerichteten Arealverschiebungen die zentral gelegenen Alpen und Pyrenäen einen starken Raumwiderstand bilden. Historisch-biogeografische Studien an europäischen Tier-

und Pflanzenarten haben sich vor allem mit postglazialen Migrationsverläufen und der Identifikation glazialer Refugien befasst (Bennet et al. 1991, Hewitt 1996, Comes & Kadereit 1998, Taberlet et al. 1998, Hewitt 1999, Tremblay & Schoen 1999). Einzelne Untersuchungen an verschiedenen Taxa belegen, dass es kein pauschales Modell der postglazialen Ausbreitung für temperate Arten gibt und weitere Untersuchungen an Modellorganismen nötig sind (Taberlet et al. 1998, Bilton et al. 1998).

Den Grundstein für die Rekonstruktion der quartären Vegetationsgeschichte haben palynologische Untersuchungen gelegt. Diese Arbeiten haben in erheblichem Maße zum heutigen Verständnis über glaziale Rückzugsgebiete und postglaziale Wiederausbreitung (Firbas 1949, Huntley & Birks 1983, Bennett et al. 1991, Berglund et al. 1996, Petit et al. 2002a), aber auch zum generellen Verständnis der Landschaftsgeschichte und der klimabedingten Vegetationsänderung beigetragen (Huntley 1988, Lang 1994). Demgegenüber ist die quartäre Arealentwicklung der meisten krautigen Pflanzen aber nicht anhand von Pollenprofilen zu rekonstruieren, da sie, im Gegensatz zu windbestäubten Baumarten, keine Pollen in palynologisch auswertbaren Sedimenten hinterlassen (Cain et al. 1998, Bonn & Poschod 1998, Hewitt 1999). Hinzu kommt, dass nur wenige Taxa hinsichtlich ihrer Pollen sicher bis zur Art bestimmt werden können (Speier 1996, Cruzan & Templeton 2000).

Mit der Entwicklung von molekularen Techniken und der Möglichkeit, genetische Beziehungen auch auf intraspezifischem Niveau aufzuklären, ergab sich die Möglichkeit (1) die palynologischen Befunde für glaziale Refugien und postglaziale Ausbreitungswege zu evaluieren und zu verfeinern (Demesure et al. 1996, Dumolin-Lapègue et al. 1997, Ferris et al. 1998, Petit et al. 2002a, Petit et al. 2002b, Heuertz et al. 2004) und (2) postglaziale Migrationswege von Artengruppen ohne Fossilbefunde zu rekonstruieren (Hewitt 1996, Comes & Kadereit 1998, Taberlet et al. 1998, Hewitt 2000).

Für temperate europäische Arten postuliert das traditionelle biogeografische Modell, dass sie die pleistozänen Kaltphasen in südeuropäischen Refugialräumen auf der iberischen Halbinsel, dem Apennin, dem Balkan, daneben aber auch weiter östlich im Kaukasus und rund um das Kaspische Meer überdauerten (z.B. Hewitt 1996, Taberlet et al. 1998, Santucci et al. 1998, Hewitt 2004). Das bis auf lokale Gletscherbildungen in den höchsten Lagen einiger Mittelgebirge weitgehend eisfreie Periglazialgebiet (Abb. 1) war demnach von waldloser Tundravegetation und

Kältesteppe bedeckt (Hantke 1978, Lang 1994, Huijzer & Vandenberghe 1998) und bot zumindest für temperate Arten überwiegend keinen geeigneten Lebensraum (Dawson 1992). Mit der beginnenden Klimaerwärmung setzte eine nordwärts gerichtete Arealexansion ein und das heutige Verbreitungsmuster temperater Arten ist das Ergebnis aus der Rekolonisation aus den südeuropäischen Rückzugsgebieten in wieder nutzbare Lebensräume im mittleren und nördlichen Europa (Hewitt 1996, Comes & Kadereit 1998, Taberlet et al. 1998, Hewitt 2000). Bei diesen Migrationsszenarien, die insgesamt als tabula rasa Hypothese (Nordal 1987, Birks 1993, Stehlik 2000) bezeichnet werden, ist prinzipiell davon auszugehen, dass die neu besiedelten Gebiete im Norden nur einen Bruchteil der Genotypen tragen, da an der Nordexpansion nur ein geringer Anteil an Individuen beteiligt ist (Hewitt 1996, Ibrahim et al. 1996). Der Grad an allelischem Reichtum und genetischer Diversität korreliert demnach mit den raum-zeitlichen Migrationsvorgängen (Ferris et al. 1998, Amsellem et al. 2000, Comps et al. 2001, Widmer & Lexer 2001, Gugerli et al. 2001).

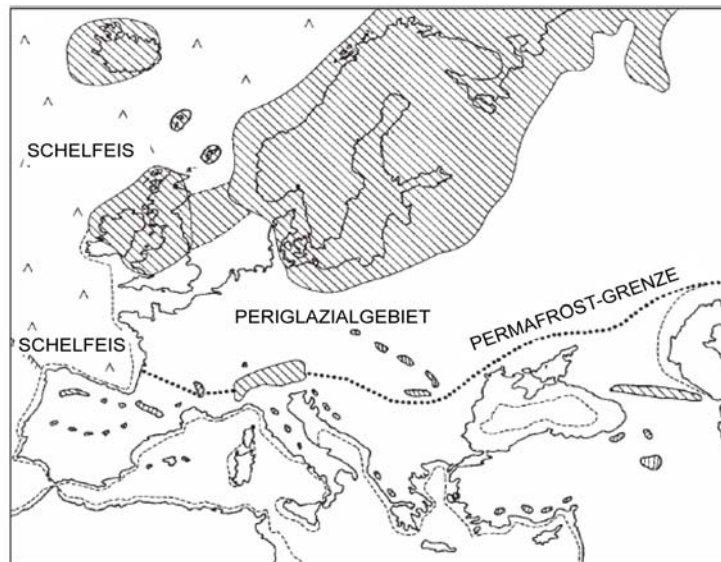


Abb. 1: Europa während der letzten maximalen Vereisung vor ca. 20000 Jahren mit Ausdehnung der Gletscher (Schraffur), Küstenlinien (gestrichelte Linien) und Verlauf der Permafrostgrenze (punktierter Linie) (verändert nach Hewitt 1999).

Aufgrund der stark differenzierten topografischen und klimatischen Situation in Europa wurde die Ableitung allgemeiner biogeografischer Regeln für die postglaziale Arealentwicklung speziell der temperaten Arten aber auch in Frage gestellt (Taberlet

et al. 1998, Bilton et al. 1998). So befasst sich die vor einigen Jahren angestoßene „refugial debate“ vor allem mit der Frage nach kryptischen Refugien temperater Arten außerhalb der gut dokumentierten glazialen Rückzugsgebiete in Südeuropa (Willis & Whittaker 2000, Tzedakis et al. 2002, Stewart 2003, Tzedakis et al. 2003). Für einige temperate Tierarten (z. B. Englbrecht et al. 2000, Hänfling et al. 2002, Gum et al. 2005, Pinceel et al. 2005, Deffontaine et al. 2005, Nieberding et al. 2005) und eine temperate Baumart (*Pinus sylvestris*: Stewart & Lister 2001) wurden inzwischen Hinweise für die Existenz periglazialer Refugien gefunden. Für temperate krautige Pflanzen liegen dafür bisher aber keine Hinweise vor. Mit der arealweiten phylogeografischen Untersuchung an *M. athamanticum* soll zu der Fragestellung kryptischer periglazialer Refugien ein Beitrag geleistet werden.

Regionale (mitteleuropäische) populationsgenetische Studie

M. athamanticum ist in Mitteleuropa eine Charakterart montan bis hochmontaner Borstgrasrasen und der traditionell extensiv genutzten Bergwiesen der Mittelgebirge. In den mitteleuropäischen Kulturlandschaften haben Veränderungen in den Landnutzungspraktiken allerdings zur Degradierung, Zerschneidung, Isolation und oftmals auch zur Vernichtung vieler natürlicher und seminatürlicher Lebensräume geführt (Saunders et al. 1991). In Mitteleuropa wurden viele Borstgrasrasen und Bergwiesen durch landwirtschaftliche Intensivierung quantitativ und qualitativ stark dezimiert, was auch einen starken Rückgang der auf solche Habitate angewiesenen Arten zur Folge hatte.

Die internationale Bedeutung dieser Vegetationstypen, denen eine Reihe seltener, montaner Pflanzenarten angehören, wurde inzwischen erkannt und durch deren Aufnahme in die Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie der Europäischen Union unterstrichen (COUNCIL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES 1992). Ziel dieser Richtlinie ist es, im europäischen Schutzgebietssystem NATURA 2000 Arten und Lebensräume von gemeinschaftlichem Interesse zu sichern und zu schützen. Im Gegensatz zu den Lebensräumen, deren Qualität durch den Naturschutz in den letzten Jahren vielerorts wieder verbessert wurde, konnte der Rückgang einzelner Arten aber lediglich verlangsamt werden (Kaule et al. 1999). Zudem ist aufgrund der

geringen Ausbreitungsfähigkeit vieler Arten eine Wiederbesiedlung geeigneter oder wieder geeigneter Habitate oftmals eher unwahrscheinlich.

M. athamanticum tritt in einigen mitteleuropäischen Populationen nur noch in sehr geringer Anzahl auf. Aufgrund verminderter Habitatqualität, was im Falle von *M. athamanticum* der veränderten Nutzung montaner Borstgrasrasen und Bergwiesen entspricht, unterliegen zurückgezogene Populationen Randeffekten. Sie müssen stressreichere Habitate besiedeln und sind in einigen Teilbereichen bereits ausgestorben. Dadurch wird der Effekt der inselhaften Restriktion auf höhere Mittelgebirgsbereiche noch weiter verstärkt. In vielen Mittelgebirgen hängt die weitere Existenz montaner Bergwiesenarten aber gerade vom Überleben kleiner und isolierter Populationen in Habitatinseln ab. Fragmentierte und kleine Populationen sind durch stochastische Ereignisse in ihrem Fortbestand allerdings stärker gefährdet als große und vernetzte Populationen (Belovsky 1987). Zudem können ungünstige Wuchsbedingungen zur weiteren Reduktion von Populationsgrößen führen (Gaston 1994). Das liegt zum einen daran, dass kleine Populationen weniger plastisch auf negative Umweltfluktuationen reagieren können (Shaffer 1987, Menges 1991) und somit das Risiko, von einer Naturkatastrophe ausgelöscht zu werden, besonders hoch ist. Zum anderen sind kleine und isolierte Populationen von demografischen und genetischen Zufallsereignissen bedroht. So wurde gezeigt, dass vor allem fremdbestäubte Pflanzenarten schnell der Inzuchtdepression unterliegen und daher besonders unter Fragmentierung und Isolation leiden (Booy et al. 2000, Oostermeijer 2000). Die populationsgenetischen Untersuchungen in ihrem mitteleuropäischen Teilareal sollen dazu beitragen, die genetische Diversität von *M. athamanticum* unter Einbezug ihrer historischen Entwicklung zu erklären. Darüber hinaus kann die Arbeit im Gesamten dabei helfen, biogeografisch und genetisch besonders herausgehobene Evolutionslinien bzw. Managementeinheiten von *M. athamanticum* für Naturschutzanforderungen zu identifizieren.

3 Material und Methoden

3.1 Das Untersuchungsobjekt *Meum athamanticum* Jacquin – Bärwurz

M. athamanticum Jacquin ist ein sommergrüner, ausdauernder, bis zu 100 cm Höhe erreichender Hemikryptophyt. Die Pflanze ist charakterisiert durch die haarfeinen, 0,2 mm breiten und bis zu 8 mm langen Zipfel ihrer im Umriss länglich-dreieckigen, 2- bis 3-fach gefiederten Blattspreiten, darüber durch ihren durchdringend-würzigen Geruch. Die Terminaldolde der Art setzt sich aus 20 bis 30 Döldchen zusammen, die in der Regel eine größere Zahl hermaphroditischer äußerer und eine geringere Anzahl männlicher zentraler Blüten besitzen. Die Zahl zwittriger Blüten kann in den Dolden 2. Ordnung wesentlich geringer sein, die sich selten entwickelnden Dolden 3. Ordnung sind in der Regel rein männlich (Schulz 1890). Die ausgeprägte Protandrie der hermaphroditischen Blüten und die hohe Besucherfrequenz potenzieller Bestäuber (pers. Beob.) lassen darauf schließen, dass die Art überwiegend fremdbestäubt ist. Klonale Ausbreitung ist aufgrund der lediglich kurzen Wurzelausläufer räumlich nur eng begrenzt möglich.



Abb. 2: Habitus von *M. athamanticum*.

M. athamanticum blüht in ihrem mitteleuropäischen Teilareal von Juni bis in die erste Julihälfte, in südeuropäischen Populationen bis Mitte August. Die 6-8 mm langen Früchte zeigen keine Anpassung an Fernverbreitung. Sie reifen von August bis September. Vorliegende Chromosomenzählungen (Leute 1969) kennzeichnen die Art als diploid ($2n = 22$). *M. athamanticum* wird in frischem Zustand von Weidevieh gemieden, der Heuertrag einer Wiese kann bei massenhaftem Auftreten der Pflanzen beeinträchtigt sein (Hegi 1965).

M. athamanticum wächst vorwiegend über silikatischem Untergrund, Bestände über Kalkgestein existieren allerdings im Schweizer Jura, den östlichen Kalkalpen und über kalkreichen Schottern im nördlichen Alpenvorland. Die Art ist insgesamt eng an montane bis subalpine Vegetationstypen gebunden ist. In S-Europa bewohnt sie überwiegend primäre Standorte wie z. B. Zwergwacholdergebüsch am Monte Pollino in Süditalien, Staudenfluren entlang von Gebirgsbächen in der zentralspanischen Sierra de Gredos, stark bewegte Grottschutthalden in der nordspanischen Sierra de la Pena Labra oder subalpin-alpine Zwergstrauchheiden, Borstgrasrasen und Seggenrasen in den Pyrenäen und den Alpen (vgl. Abb. 3). In Zentraleuropa wächst sie in Borstgrasrasen und extensiv genutzten Bergwiesen (Burkart et al. 2004). Sie gilt hier als schwache Nardetalia-Ordnungscharakterart (Oberdorfer 1984), die auch in magere Polygono-Trisetion-Gesellschaften übergreift. In letzteren wird sie teilweise als Kennart einer eigenständigen Assoziation (Meo-Festucetum) angesehen (Matzke 1989). Daneben wächst sie beispielsweise im Schwarzwald oder in den Vogesen in Höhenformen von Glatthaferwiesen (Alchemillo-Arrhenatheretum). Die Standortamplitude von *M. athamanticum* überlappt sich allerdings auch mit Feuchtwiesengesellschaften, in denen die Art mit Hochstauden wie *Polygonum bistorta*, *Trollius europaeus* oder *Angelica palustris* vergesellschaftet ist, in seltenen Fällen findet sie sich zusammen mit verschiedenen Kleinseggen auf nassen Flachmoorstandorten (pers. Beob.). *M. athamanticum* hat als lichtliebende Art die postglaziale Wiederbewaldung Mitteleuropas vermutlich in den Randzonen waldfreier Hangmoore (Matzke 1989), an Karen und Felsabstürzen (Philippi 1992) oder in anderen bspw. durch Megaherbivoren waldfrei gehaltenen Bereichen überdauert (Geiser 1992, Davidson 1993, Beutler 1996), wie sie im Umfeld aller heutigen mitteleuropäischen Vorkommen anzunehmen sind. *Meum* zeigt allerdings auch eine gewisse Resistenz gegenüber Lichtmangel, an einigen Lokalitäten in der Eifel, dem Thüringer Wald und den Ostalpen konnten im weiteren Umfeld von

Offenlandpopulationen auch Exemplare im Waldinneren registriert werden, die allerdings durch ein auffällig reduziertes Wachstum gekennzeichnet waren.

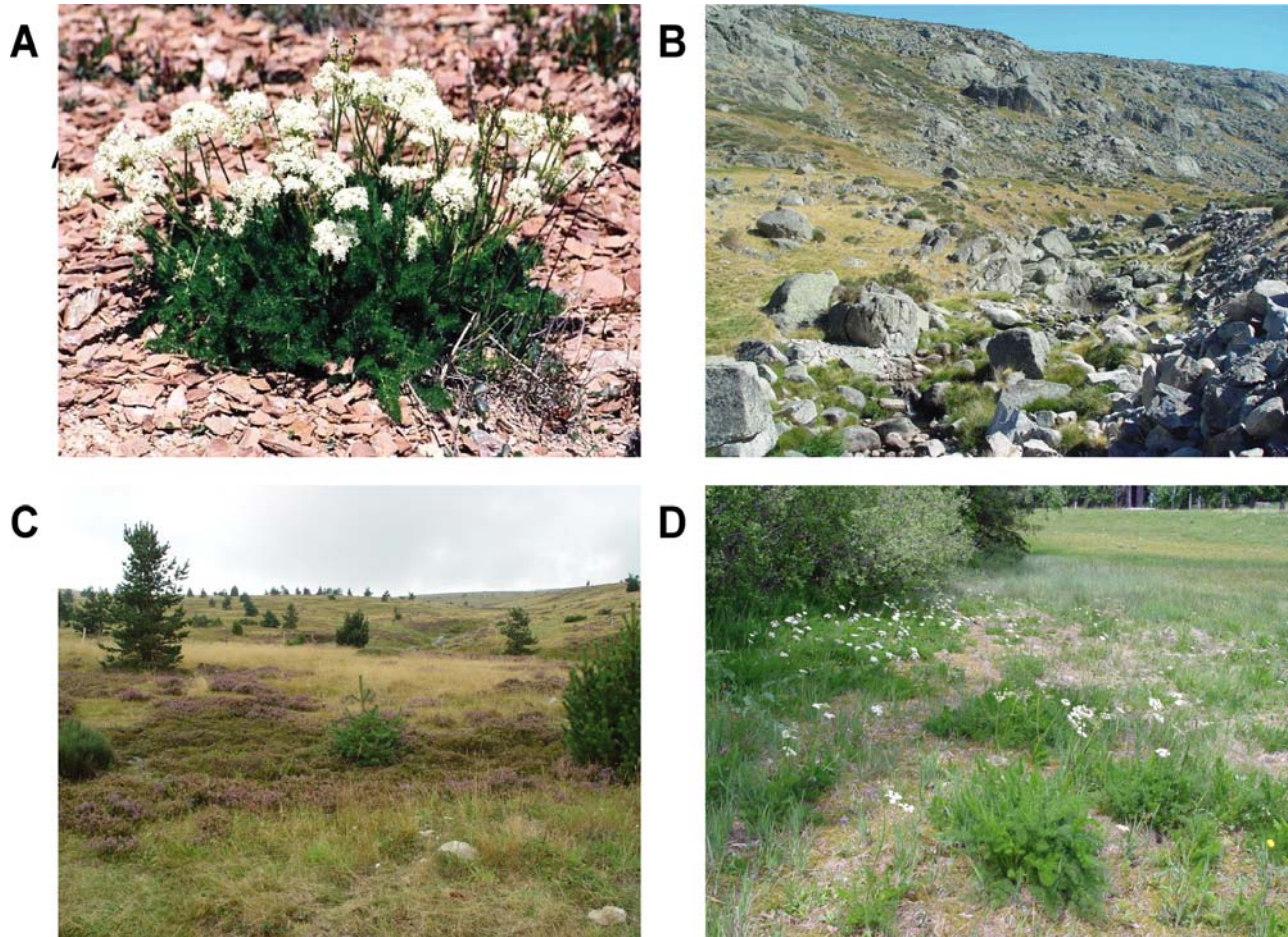


Abb. 3: Standorte von *M. athamanticum*: (A) stark bewegter Solifluktionsschutt in den nordspanischen Kordilleren, (B) bachbegleitende Staudenflur in der zentralspanischen Sierra de Gredos, (C) Zwergstrauch- und Calluna-Heide im französischen Massif Central, (D) Borstgrasrasen im Südschwarzwald.

3.1.1 Gesamtverbreitung

M. athamanticum gehört dem subatlantisch-temperaten Florenelement an (Leute 1969, Leute 1970, Oberdorfer 1984). Die Art ist in ihrem gesamten Areal an die montane-subalpine Höhenstufe gebunden (Meusel et al. 1978, Bruelheide & Lieberum 2001). Verbreitungskarten finden sich in Leute (1969), Weinert (1970) und Meusel et al. (1978). Abbildung 4 zeigt die Gesamtverbreitung der Art nach den zuvor

genannten Autoren und eigenen Recherchen und Beobachtungen. Auf der iberischen Halbinsel besiedelt sie neben den Pyrenäen die kantabrischen Kordilleren, das kastilische Scheidegebirge und den Nordteil des Iberischen Randgebirges. Außerdem hat die Art lokal eng begrenzte Vorkommen in der südspanischen Sierra Nevada, wo sie den Südwestrand ihres Gesamtareals erreicht. In Mitteleuropa umfasst die Art die montanen Lagen vom französischen Zentralmassiv über Schweizer Jura, verschiedene Höhenzüge des rheinischen Schiefergebirges und der hercynischen Gebirgszüge (Schwarzwald, Eifel, Hunsrück, Rhön, Harz, Rothaargebirge, Thüringer Wald, Fichtelgebirge, Bayerischer Wald) bis in die polnischen Westkarpaten. Im Bereich der Alpen hat die Art deutliche Verbreitungslücken. Neben zwei eng begrenzten und individuenschwachen Populationen im Alpenvorland wächst sie dort regional begrenzt in den Ostalpen von den Radstädter Tauern über den Dachstein und die Eisenerzer Alpen bis zur Raxalpe in Niederösterreich. Außerdem tritt *Meum* im Bereich der Karawanken im Grenzgebiet zwischen Österreich und Slowenien sowie den Julischen Alpen auf. Im Westteil der Alpen auf Schweizer und italienischem Territorium hat die Art lokal begrenzte Vorkommen im Berner Oberland, in der Schwyz, den Alps Vallaisannes, dem Massif de la Vanoise und dem Massif des Ecrins. In den SW-Alpen im französisch-italienischen Grenzgebiet tritt *Meum* dagegen wieder regelmäßig auf. In Italien besiedelt die Art außerdem den nördlichen und mittleren Apennin bis auf Höhe des Gran Sasso d' Italia, davon isoliert existieren Populationen am und um den Monte Pollino in Kalabrien. *M. athamanticum* ist vermutlich weit verbreitet in den Dinarischen Gebirgszügen, inwiefern es sich allerdings insgesamt um weiträumige oder nur eng begrenzte Vorkommen handelt, ist unklar. Zumindest im Bereich von Serbien-Herzegowina ist die Art disjunkt verbreitet und kommt nur punktuell in einigen Gebirgszügen vor (G. Tomovic, pers. Mitteilung). Ihren östlichen Arealrand erreicht die Art in der bulgarischen Stara Planina. Ihre nördliche Verbreitungsgrenze markieren stark isolierte Vorkommen in Schottland, Nordengland und Nordwales. Bei den Angaben aus den Karpaten handelt es sich um Verwechslungen mit *Ligusticum mutellina* (vgl. Meusel et al. 1978, Slabý 1966) und die Vorkommen in Süd-Norwegen sind als synanthrop einzustufen, die Art wächst hier an deutlich ruderalisierten Standorten (Hylander 1971).

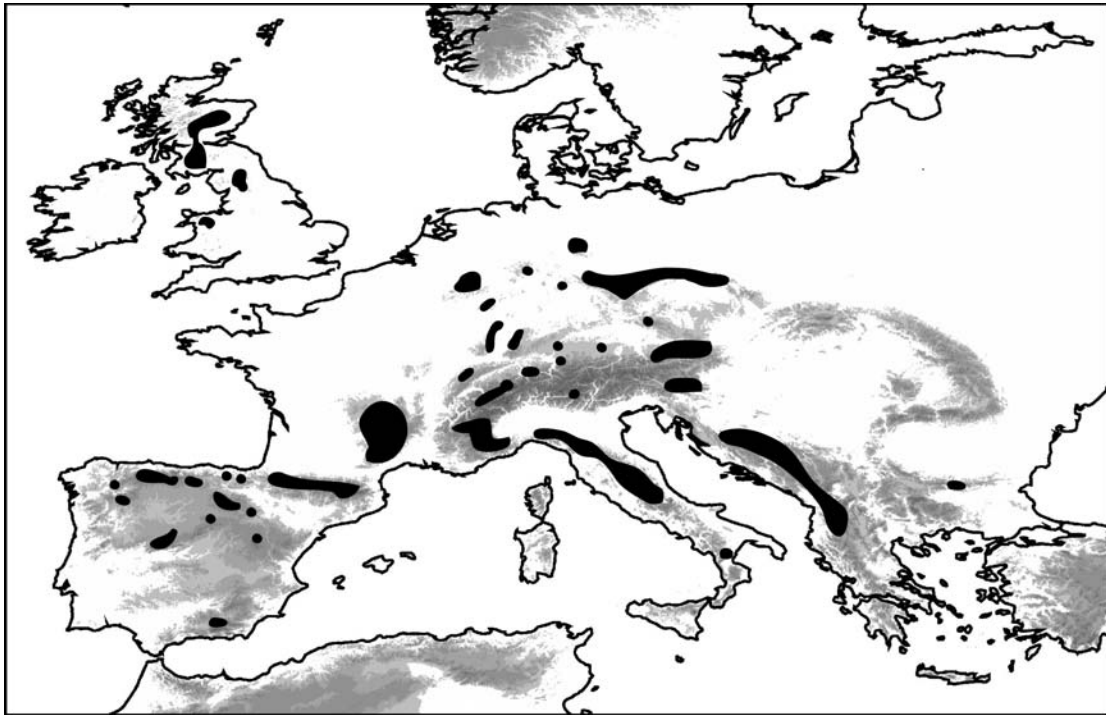


Abb. 4: Gesamtverbreitung von *M. athamanticum* basierend auf den Angaben von Leute (1969), Weinert (1970), Meusel et al. (1978) und pers. Beobachtung.

Insgesamt bilden die Vorkommen von *M. athamanticum* zwei altitudinale Schwerpunkte, die zum einen die montane Stufe der zentraleuropäischen Mittelgebirge (550 – 1000 m ü. NN), zum anderen die subalpine Zone der mittel- und südeuropäischen Hochgebirge (1400 – 2200 m ü. NN) umfassen. Die absolut niedrigsten Lagen erreicht die Art an der Nordgrenze ihrer Gesamtverbreitung bei 200 m ü. NN in den schottischen Grampian Mountains. Die höchstgelegenen Wuchsorte existieren am südlichen Arealrand in der südspanischen Sierra Nevada bei 2900 m ü. NN.

3.1.2 Systematische und biogeografische Aspekte

In der ersten umfassenden Bearbeitung der Apiaceen von De Candolle (1830) wurde neben *M. athamanticum* auch die heute in die Gattung *Ligusticum* eingeordneten Arten *L. mutellina* und *L. pyrenaicum* der Gattung *Meum* zugerechnet. In der Folgezeit fassten Bentham (1867) sowie Drude (1898) *Meum* allerdings als

monotypische Gattung auf. Phylogenetische Untersuchungen stützen diese These (Valiejo-Roman et al. 1998, Plunkett & Downie 1999), eine abschließende Phylogenie um *M. athamanticum* mit dem Einbezug aller vermeintlichen Verwandten steht aber noch aus. Innerhalb von *M. athamanticum* sind drei Unterarten beschrieben worden (Leute 1969, Leute 1970, Weinert 1970, Meusel et al. 1978). Die ssp. *labranum* besiedelt lokal die nordspanische Sierra Pena Labra und unterscheidet sich von der Nominatunterart durch eine vergleichsweise stärkere basale Stengelbehaarung. Die ssp. *nevadense* der südspanischen Sierra Nevada ist durch ihren insgesamt kleineren Habitus gekennzeichnet. Die Bewertung dieser beiden Vorkommen als Unterarten ist allerdings umstritten (Tutin 1968, Villar 2003). Kleinwüchsige Exemplare vom Typus der ssp. *nevadense* wachsen auch in den Pyrenäen, den SW-Alpen und in Süditalien (Villar 2003, pers. Beob.).

Die natürliche Verwandtschaftsgruppe der Apiales, die von den beiden Familien der Apiaceae und Araliaceae gebildet wird, geht auf gemeinsame proaralioiden Ausgangssippen, einem „pro-araliaceous stock“ (Mathias 1965) zurück, deren Entstehung und Entfaltung vermutlich in der mittleren und oberen Kreidezeit erfolgte (Baumann 1946, Axelrod 1952). Im Zuge der Kontinentaldifferenzierung haben sich die Apiaceen möglicherweise im nördlichen Amerika als Glieder einer temperaten Arcto-Tertiär-Flora herausgebildet (Weinert 1970). Die Apiaceen sind im Gegensatz zu den Araliaceen ein deutlich extratropischer Verwandtschaftskreis und sind besonders reich am Rand der nördlichen Subtropen, z.B. im Bereich des Mittelmeeres, Mittelasiens oder im mittleren Amerika entfaltet (Meusel et al. 1978). Hierbei zeigen die Apioideae innerhalb der Apiaceae ihre größte Diversität vor allem durch ein- und mehrjährige, krautige Arten in den gemäßigten Breiten der Nordhemisphäre und sind in Europa mit ca. 820 Arten, in Nordamerika mit ca. 370 Arten vertreten (Mathias 1965). Innerhalb der Apioideae treten neben in der Holarktis weit verbreiteten auch etliche, auf enge Gebiete beschränkte Gattungen auf (Heywood 1971). Zu letzteren gehört die Gattung *Meum*, von der Meusel et al. (1978) vermuten, dass sie sich in abgegrenzten Teilräumen tertiärer Hochgebirge in der westlichen Submediterraneis als Abgliederung eurasischer oder zirkumpolarer Sippen gebildet hat. Eine ähnliche Entstehung postulieren sie für die ebenfalls monotypische *Trochiscanthes nodiflora*. Trotz einer Reihe phylogenetischer Studien sind viele Verwandtschaftskreise innerhalb der Apiaceae noch nicht abgeklärt (Valiejo-Roman et al. 1998, Plunkett & Downie 1999, Katz-Downie et al. 1999, Downie et al. 2000a,

Downie et al. 2000b, Spalik et al. 2004). So ist die von Meusel et al. (1978) als mit *M. athamanticum* nah verwandt eingestufte *Ligusticum*-Gruppe (sensu Leute 1969, Leute 1970) deutlich polyphyletisch. In ITS-Sequenzanalysen der Apioideae, streuen die fünf beteiligten der insgesamt ca. 40-50 *Ligusticum*-Arten in 4 der insgesamt 8 gebildeten Artengruppen (Downie et al. 2000b).

3.2 Markersysteme für die genetischen Untersuchungen

Im Gegensatz zur hohen Sequenzvariabilität des mitochondrialen Genoms von Tieren ist die Variation der pflanzlichen Chloroplasten- und mitochondrialen-DNA vergleichsweise gering, weshalb die Verfügbarkeit variabler Gene für infraspezifische, phylogeografische und populationsgenetische Studien begrenzt ist (Avice 1998). Die Entwicklung hoch auflösender fingerprint-Verfahren wie die RAPD-Methode (Random Amplified Polymorphic DNA; Welsh & McClelland 1990, Williams et al. 1990) und die AFLP-Methode (Amplified Fragment Length Polymorphism; Vos et al. 1995) liefern aber auch Botanikern brauchbare Werkzeuge für phylogeografische und intraspezifische Untersuchungen (z. B. Giannasi et al. 2001, Kropf et al. 2002, Tribsch et al. 2002). Da die RAPD-Methode im Gegensatz zur AFLP-Methode nur eine geringe Zahl polymorpher Banden pro Primer liefert und deren Reproduzierbarkeit sehr stark von den Reaktionsbedingungen abhängt (MacPherson et al. 1993, He et al. 1994, Jones et al. 1997), wird für populationsgenetische aber auch phylogeografische Fragestellungen die AFLP-Technik bevorzugt (näheres zur AFLP-Technik siehe Kapitel 3.6.1). Als weitere Markersysteme wurden in dieser Arbeit die Internal- und die External-Transcribed-Spacer-Region (ITS und ETS) auf ihre Variabilität innerhalb von *M. athamanticum* überprüft. Von diesen beiden Abschnitten der ribosomalen DNA ist bekannt, dass sie potenziell ausreichende Variation für intraspezifische Untersuchungen haben (Baldwin et al. 1995, Linder et al. 2000, Kropf et al. 2002, Kropf et al. 2003). Während Sequenzverfahren spezifischer Gene detaillierte Informationen über einen kleinen Teil des Genoms liefern, geben Fingerprintverfahren mit anonymen Markern, wie z.B. die RAPD-Methode und die AFLP-Methode ein Bild der genetischen Variabilität über das gesamte Genom (Hillis et al. 1996), so dass auch geringe genetische Unterschiede und Prozesse jüngerer Zeitepochen registriert werden können (Hewitt 2004, Kausserud et al. 2005).

3.3 Probenmaterial für die genetischen Untersuchungen

Für die zwei räumlichen Untersuchungsebenen der

- *arealweiten (europäischen) phylogeografischen Studie* und der
- *regionalen (mitteleuropäischen) populationsgenetischen Studie*

wurden zwei getrennte AFLP-Datensätze erzeugt, die sich neben der geografischen Abdeckung im Wesentlichen durch die unterschiedliche Anzahl eingesetzter Individuen pro Population und der Anzahl detektierter Fragmente voneinander unterscheiden. Der maßgebliche Grund für dieses Vorgehen lag darin, dass bei der Fragmentauffreibungen auf den Sequenziergelen einige Fragmentlängenbereiche nicht detektiert, andere wiederum stark gestaucht detektiert wurden, weshalb bei der Auswertung durch das Programm GENOTYPER und auch der nach gelagerten visuellen Kontrolle teilweise keine Trennung zwischen ähnlich langen Fragmenten festgestellt wurde. Daher konnte für den regionalen, populationsgenetischen Teil die bereits in der phylogeografischen Studie eingesetzten Individuen aus zentraleuropäischen Populationen nicht übernommen werden.

Arealweite phylogeografische Studie

Das Probenmaterial für die arealweite phylogeografische Studie deckt das komplette Areal von *M. athamanticum* ab. Dabei wurden neben den mutmaßlichen südeuropäischen Refugien auf der iberischen Halbinsel, dem Apennin und dem Balkan vor allem das mitteleuropäische Periglazialgebiet intensiv besammelt. Das iberische Refugialgebiet wird durch fünf Populationen repräsentiert, Italien durch zwei Populationen. Der Balkan wird nur durch eine Population aus Bulgarien repräsentiert, aus anderen Gegenden Südosteuropas war eine Beschaffung von ausreichendem Material für die AFLP-Analysen nicht möglich. Insgesamt wurde zwischen den Jahren 2001 und 2004 in 23 Populationen Blattmaterial von *M. athamanticum* gesammelt (Abb. 5, Tab. 1). Dabei wurden jeweils 10 m Abstand zwischen den Individuen gelassen, um das Beprobieren von Klonen zu vermeiden. Das Blattmaterial wurde in kleinen ziplog-Beuteln mit Silikagel (Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) getrocknet. Die weitere Lagerung des Materials erfolgte bei Raumtemperatur. Für die ITS- und ETS-Sequenzuntersuchungen stand zudem Herbarmaterial aus den Dinarischen

Alpen/Montenegro (MA) zur Verfügung. Die maximale Distanz der analysierten Populationen beträgt 2564 km zwischen der schottischen Population Kenmore (KE) und der Population aus dem Stara Planina-Gebirge in Bulgarien (BU). Die geringsten Distanzen (2 km) werden von Populationen am Ost- (LA) und Westhang (CL) des Col de Larche in den französischen SW-Alpen gebildet (Abb. 5).

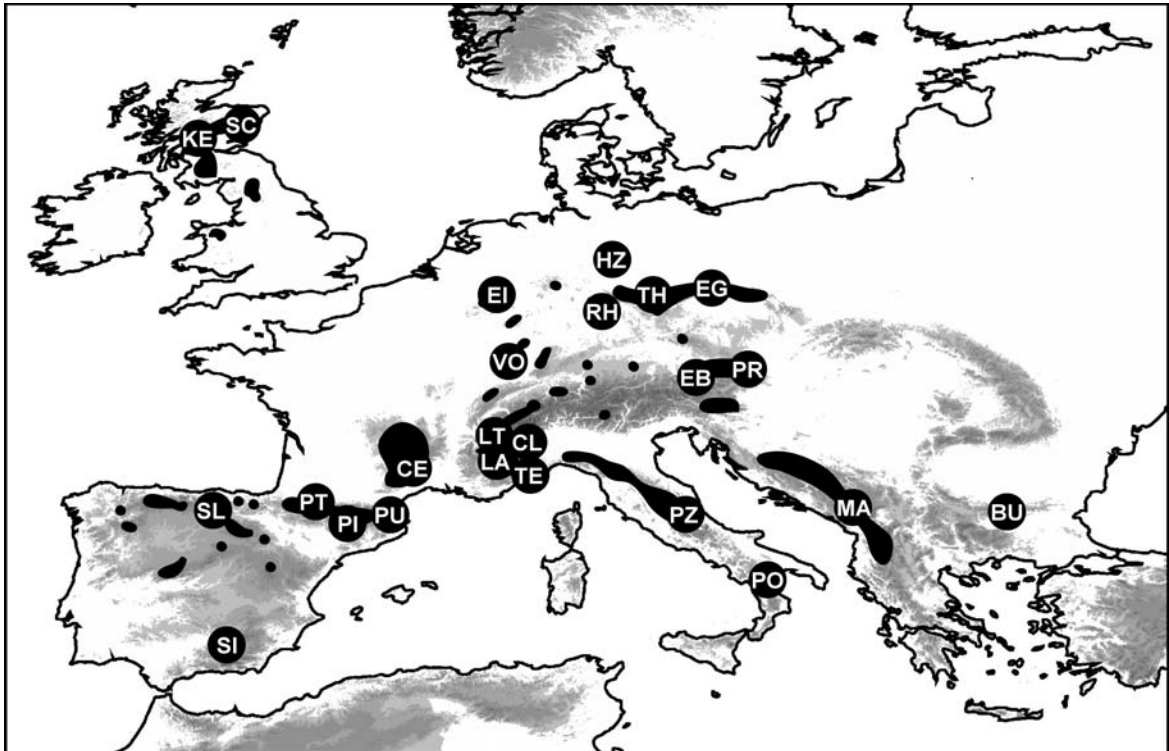


Abb. 5: Sammellokalitäten für die arealweite phylogeografische Studie für *M. athamanticum* (zweiziffrige Codes) und bekannte Gesamtverbreitung, basierend auf den Angaben von Leute (1969), Weinert (1970), Meusel et al. (1978) und pers. Beobachtung. Bis auf das Material aus Montenegro (MA), für das nur ITS/ETS-Sequenzen generiert werden konnten, wurden Proben aus allen Aufsammlungen in der AFLP- und der Sequenzanalyse berücksichtigt. Die Abkürzungen und weitere Details sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tab. 1: Alphabetisch sortierte Populationscodes, Sammellokalitäten, Gebirgszüge, geografische Koordinaten und Höhenlage der untersuchten *M. athamanticum* Aufsammlungen für die arealweite phylogeografische Studie.

Pop. code	Lokalität	Gebirgszug	Land	Koordinaten	Höhe (m ü. NN)
BU	Yumruka	Stara Planina	Bulgarien	24°46'13"E 42°46'13"N	1750
CE	Mont Lozère	Massif Central	Frankreich	03°32'20"E 44°24'20"N	1600
CL	Col Larche Osthang	Südwest-Alpen	Italien	06°54'40"E 44°25'20"N	1930
EB	Eibenberg	Ost-Alpen	Österreich	13°49'00"E 47°47'00"N	1590
EG	Altenberg	Erzgebirge	Deutschland	13°45'12"E 50°46'51"N	770
EI	Rothe Kreuz	Eifel	Deutschland	06°20'03"E 50°31'45"N	550
HZ	Hohegeiß	Harz	Deutschland	10°40'09"E 51°39'12"N	560
KE	Kenmore	Grampian Mts.	Schottland	04°12'18"W 56°35'53"N	200
LA	Col Larche Westhang	Südwest-Alpen	Frankreich	06°55'50"E 44°24'50"N	1940
LT	Col du Lautaret	West-Alpen	Frankreich	06°25'06"E 45°02'20"N	2040
MA	Mt. Prokletije	Dinarische Alpen	Montenegro	20°16'67"E 42°71'67"N	1800
PI	Piau Engaly	Zentral-Pyrenäen	Frankreich	00°11'25"E 42°50'11"N	1400
PO	Monte Pollino	Süd-Appennin	Italien	16°12'20"E 39°55'00"N	1863
PR	Präbichl	Ost-Alpen	Österreich	14°55'50"E 47°30'40"N	1820
PT	Col du Pourtalet	Zentral-Pyrenäen	Frankreich	00°21'00"W 42°50'40"N	1790
PU	Col de Puymorens	Ost-Pyrenäen	Frankreich	01°47'50"E 42°33'45"N	1915
PZ	Pizzo di Sevo	Zentral-Appennin	Italien	13°20'12"E 42°39'53"N	1970
RH	Kesselstein	Rhön	Deutschland	09°58'12"E 50°26'20"N	760
SC	Glen Clova	Grampian Mts.	Schottland	03°06'00"W 56°50'19"N	243
SI	Yeguas	Sierra Nevada	Spanien	03°12'15"W 37°03'40"N	2900
SL	Alto Campoo	Sierra Pena Labra	Spanien	04°23'50"W 43°02'50"N	1800
TE	Col de Tende	Südwest-Alpen	Frankreich	07°34'01"E 44°08'06"N	1910
TH	Steinbach	Thüringer Wald	Deutschland	10°51'29"E 50°32'19"N	750
VO	Le Hohneck	Vogesen	Frankreich	07°00'30"E 48°02'40"N	1020

Populationsgenetische Studie im mitteleuropäischen Teilareal

Für die regionale populationsgenetische Untersuchung von *M. athamanticum* wurden zwischen den Jahren 2002 und 2005 in 14 deutschen Populationen und zusätzlich in einer Population aus dem Schweizer Jura Blattmaterial gesammelt (Abb. 6). Dabei wurde die Individuenzahl der beprobten Populationen geschätzt. Bei der Probenaufsammlung wurde analog zum Vorgehen bei der europaweiten Aufsammlung zwischen den beprobten Individuen ein Abstand von Minimum 10 m eingehalten und das Blattmaterial in Silikagel getrocknet. Die Proben decken bis auf wenige Ausnahmen (Nordschwarzwald und Bayerischer Wald) alle bekannten Vorkommen von *M. athamanticum* in Deutschland ab. Die Lokalitäten der Aufsammlungen, ihre Koordinaten und ihre Höhenlage sind in der Tabelle 2 aufgelistet.

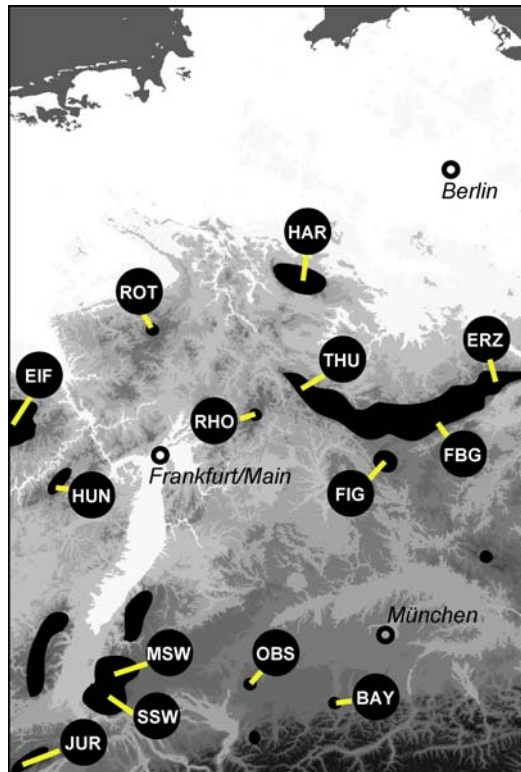


Abb. 6: Sammellokalitäten für die Analyse der regionalen genetischen Struktur von *M. athamanticum* (dreiziffrige Codes) und bekannte Verbreitung in Mitteleuropa, basierend auf Angaben von Leute (1969), Weinert (1970), Meusel et al. (1978) Haeupler & Schönfelder (1988) und pers. Beobachtung. Für Abkürzungen und weitere Details siehe Tabelle 2.

Tab. 2: Alphabetisch sortierte Populationscodes, Sammellokalitäten, Gebirgszüge, geografische Koordinaten und Höhenlage der untersuchten *M. athamanticum* Aufsammlungen für die regionale populationsgenetische Studie.

Pop. Code	Lokalität	Region/ Gebirgszug	Koordinaten	Höhe (m ü. NN)
BAY	Hechenrain	Alpenvorland	11°06'26"E 47°43'27"N	690
ERZ	Altenberg	Ost-Erzgebirge	13°45'12"E 50°46'51"N	770
EIF	Rothe Kreuz	Eifel	06°20'03"E 50°31'45"N	550
FBG	Fichtelberg	West-Erzgebirge	12°57'15"E 50°25'05"N	1060
FIG	Neubau	Fichtelgebirge	11°50'20"E 50°00'30"N	770
HUN	Züsch	Hunsrück	07°01'12"E 49°38'51"N	530
HAR	Hohegeiß	Harz	10°40'09"E 51°39'12"N	560
JUR	Grosse- Ronde	Schweizer Jura	06°27'18"E 46°55'48"N	1150
MSW	Schönwald	Mittlerer Schwarzwald	08°12'04"E 48°00'34"N	1050
OBS	Seibranner Ösch	Oberschwaben	09°59'13"E 47°54'41"N	730
RHO	Mosbach	Rhön	09°58'12"E 50°26'20"N	760
ROT	Mollseifen	Rothaargebirge	08°31'17"E 51°09'03"N	550
SSW	Titisee	Süd-Schwarzwald	08°07'30"E 47°54'17"N	910
THU	Steinbach	Thüringer Wald	10°51'29"E 50°32'19"N	750

3.4 DNA-Isolation

Für die mechanische Zerkleinerung wurden jeweils ca. 10 mg getrockneten Blattmaterials in ein 2 ml-Reaktionsgefäß überführt. Anschließend wurde das Reaktionsgefäß in flüssigen Stickstoff gehalten, um das Blattmaterial schock zu gefrieren und spröde zu machen. Danach konnte das Blattmaterial mit einem Mörser direkt im Reaktionsgefäß zerkleinert werden. Die darauf folgende DNA-Isolation wurde mit einem Extraktionskit (DNeasy Plant Mini Kit, Quiagen, Hilden, Deutschland) durchgeführt. In Abwandlung des Standardprotokolls wurde die DNA anstatt mit 100 ml lediglich mit 50 ml AE-Puffer eluiert, um die Konzentration der DNA in der Lösung zu erhöhen. Die DNA-Extrakte wurden bis zur weiteren Analyse bei -20°C gelagert.

3.5 Erstellung des AFLP-Datensatzes

3.5.1 Allgemeines zur AFLP

Die AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)-Methode ist ein fingerprint-Verfahren, bei der eine hohe Anzahl von Markern erzeugt werden kann. (Vos et al. 1995). Die Technik verbindet die RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)-Methode mit der Polymerase-Kettenreaktion und produziert DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge.

Bei Tests verschiedener Fingerprint-Verfahren hat sich der Einsatz unspezifischer Marker (z.B. RAPD-PCR) als ungeeignet erwiesen, weil bei einzelnen Individuen unterschiedliche Bandenmuster nach der Gelelektrophorese-Auftrennung der PCR-Produkte detektiert wurden und somit keine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gesichert ist (MacPherson et al. 1993, He et al. 1994, Jones et al. 1997). Die AFLP Technik besitzt gegenüber der RAPD- (Random Amplified Polymorphic DNA), aber auch der Mikrosatelliten-Technik einige prinzipielle Vorteile:

(1) Die PCR kann unter stringenten Bedingungen durchgeführt werden und ist daher robuster, d.h. sie reagiert weniger empfindlich auf Veränderungen der Versuchsbedingungen. So konnte an der Zuckerrübe die unabhängige Reproduktion von 97,6% aller AFLP-Banden für 5088 Vergleiche demonstriert werden (Parallelexperimente auf der Basis unterschiedlicher DNA-Isolationen; Hansen & al. 1999)

(2) Aufgrund der selektiven PCR einer kleinen Auswahl von Restriktionsfragmenten und der Auftrennung auf hochauflösenden Sequenziergelen ist die Homologie der zu vergleichenden Banden verschiedener Arten weniger fraglich als die Homologie comigrierender RAPD-Fragmente auf Agarosegelen.

(3) AFLPs weisen mit die höchsten Multiplexraten aller molekularen Markersysteme auf, schon mit einer geringen Anzahl von Primerkombinationen können Hunderte von polymorphen Banden sichtbar gemacht werden. Aufgrund dieser methodischen Überlegenheit werden für populationsgenetische Untersuchungen inzwischen vielfach AFLPs herangezogen.

(4) gegenüber Mikrosatelliten besitzen AFLPs den Vorteil, dass sie ohne kosten- und zeitintensive Vorstudien direkt nach der DNA-Extraktion angewendet werden können.

3.5.2 Restriktion und Ligation

Die AFLP-Analyse wurde mit kleinen Änderungen nach dem Protokoll von Vos et al. (1995) durchgeführt.

Die DNA-Konzentration jeder Probe wurde bestimmt (Alpha Imager, Alpha Innotech, San Leandro, USA) und anschließend auf 20 ng DNA/µl eingestellt. Alle verwendeten Primer sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Nach der Standardisierung der DNA-Extrakte wurden 100 ng genomische DNA in einer gemeinsamen Restriktions- und Ligationsreaktion eingesetzt. Für die Restriktion der DNA wurden die Enzyme *EcoRI* und *MseI* benutzt (Restriktions-Ligations-Mix). Während der Ligation wurden die komplementären Adapter *EcoRI* und *MseI* an die kohäsiven Enden des Restriktionsfragments ligiert (Restriktions-Ligations-Reaktion).

Restriktions-Ligations-Mix:

<i>Menge</i>	<i>Komponente</i>	<i>Konzentration</i>
1,19 µl	H ₂ O bidest	
0,165 µl	T4 DNA Ligasepuffer	10 x
0,165 µl	NaCl	0,5 M
0,017 µl	BSA	(10 mg/ml) 100 x
0,077 µl	<i>Mse</i> I	10 U/µl
0,102 µl	<i>Eco</i> RI	20 U/µl
0,084 µl	T4 DNA Ligase	10 U/µl

Restriktions-Ligations-Reaktionsgemisch:

<i>Menge</i>	<i>Komponente</i>	<i>Konzentration</i>
0,5918 µl	H ₂ O bidest	
0,792 µl	T4 DNA Ligasepuffer	10 x
0,792 µl	NaCl	0,5 M
0,0792 µl	BSA	(10 mg/ml) 100 x
0,4725 µl	<i>Mse</i> I	50 pmol/µl
0,4725 µl	<i>Eco</i> RI	5 pmol/µl

3,2 µl des Restriktions-Ligations-Reaktionsgemisches und 1,8 µl des Restriktions-Ligations-Mixes wurden mit 5 µl genomischer DNA (100 ng) gemischt. Verdau und Ligation wurden über 16 h bei 22°C durchgeführt. Das Produkt wurde anschließend auf 40 µl mit H₂O bidest aufgefüllt.

3.5.3 Präselektive Amplifikation

In der präselektiven Amplifikation wurde eine Verdünnung des Restriktions-Ligations-Produktes, die jeweils um ein selektives Nukleotid verlängerte *Eco*RI primer E+1 und *Mse*I primer M+1 sowie zusätzliche Reagenzien in den folgenden Bestandteilen eingesetzt:

Reaktionsgemisch Präselektive Amplifikation:

<i>Menge</i>	<i>Komponente</i>	<i>Konzentration</i>
15,4 µl	H ₂ O bidest	
2,5 µl	PCR-Puffer	10 x
0,792 µl	MgCl ₂	50 mM
0,25 µl	dNTPs	20 mM
0,25 µl	Primer M 02	50 ng/µl
0,25 µl	Primer E 01	50 ng/µl
0,1 µl	Taq-Polymerase	5 U/µl
5,0 µl	Restriktion-Ligations-Produkt	

Die präselektive Amplifikation wurde mit einem thermocycler (Whatman Biometra, Göttingen) unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

Thermocycler-Einstellungen Präselektive Amplifikation:

<i>Zyklen</i>	<i>Schritt</i>	<i>Temperatur</i>	<i>Dauer</i>
1	Initialdenaturierung	72 °C	120 sec
	Denaturierung	94 °C	10 sec
20	Primeranlagerung	56 °C	30 sec
	Polymerisation	72 °C	120 sec
1	Endpolymerisation	60 °C	30 min

Bei der anschließenden Gelkontrolle wurden 7 µl des Reaktionsproduktes auf ein 1,4%iges Agarosegel aufgetragen und bei 89 Watt aufgetrennt. Eine erfolgreiche präselektive Amplifikation wird in der Regel durch einen Bandenschmier im Bereich von 100bp bis 1000bp dokumentiert. Anschließend wurde das Reaktionsprodukt je nach Intensität des Bandenschmiers auf durchschnittlich 1:50 mit H₂O bidest verdünnt.

3.5.4 Selektive Amplifikation

Die Produkte der präselektiven Amplifikation wurden in der selektiven Amplifikation als Ausgangssubstrate für eine weitere PCR-Reaktion genutzt. Dabei wurden Primer eingesetzt, die zusätzlich zu dem selektiven Nukleotid noch je zwei weitere selektive Nukleotide am 3'-Ende tragen (E + 3). Es wurden Primerkombinationen gewählt, die bereits in anderen Studien erfolgreich eingesetzt wurden (Kropf et al. 2002, Kropf et al. 2003, Kadereit et al. 2005): E37/M54, E39/M61 und E45/M57. Im Gegensatz zum Standardprotokoll (Vos et al. 1995) wurden die *EcoRI*-primer fluoreszenzmarkiert (E37: NED, E39: 6-FAM, E45: HEX; Applied Biosystems [ABI], Foster City, USA). Die selektive Amplifikation wurde in den folgenden 15 µl Ansätzen durchgeführt:

Reaktionsgemisch Selektive Amplifikation:

<i>Menge</i>	<i>Komponente</i>	<i>Konzentration</i>
7,12 µl	H ₂ O bidest	
1,5 µl	PCR-Puffer	10 x
0,75 µl	MgCl ₂	50 mM
0,15 µl	dNTPs	20 mM
0,25 µl	MseI Primer M	50 ng/µl
0,18 µl	EcoRI Dye-Primer E	50 ng/µl
0,05 µl	Taq-Polymerase	5 U/µl
5,0 µl	Präselektives Amplifikat	

Bei der abschließenden PCR-Reaktion wurde ein touch-down-Protokoll angewendet. Dabei soll eine schrittweise Erniedrigung der Anlagerungstemperatur eine Fehlanlagerung des Primers verhindern.

Thermocycler-Einstellungen Selektive Amplifikation:

<i>Zyklen</i>	<i>Schritt</i>	<i>Temperatur</i>	<i>Dauer</i>
1	Initialdenaturierung	94 °C	120 sec
	Denaturierung	94 °C	10 sec
9	Primeranlagerung	65 °C, nach jedem Zyklus Absenkung um 1 °C	30 sec
	Polymerisation	72 °C	120 sec
	Denaturierung	94 °C	10 sec
24	Primeranlagerung	56 °C	30 sec
	Polymerisation	72 °C	120 sec
1	Endpolymerisation	60 °C	30 min

Anschließend wurden die Produkte der drei unterschiedlich markierten Primerkombinationen in folgendem spezifischen Verhältnis gemischt:

Mischungsverhältnis des Proben-Mix:

<i>Menge</i>	<i>Komponente</i>
1,5 µl	Produkt der selektiven Amplifikation mit Primer E39 (6-FAM-markiert)
2,25 µl	Produkt der selektiven Amplifikation mit Primer E45 (HEX-markiert)
2,25 µl	Produkt der selektiven Amplifikation mit Primer E37 (NED-markiert).
2 µl	H ₂ O bidest

Außerdem wurde ein Loadingbuffer/Längenstandardmix hergestellt. Als Längenstandard diente der GeneScan ROX 500 (ABI).

Mischungsverhältnis des Loadingbuffer/Längenstandard-Mix:

<i>Menge</i>	<i>Komponente</i>
2 µl	Formamid
0,78 µl	Loadingbuffer
0,542 µl	Längenstandard

Schließlich wurden 2 µl des Probenmixes und 3 µl des Loadingbuffer/Längenstandardmix für die Multiplexanalyse zusammengemischt. 1,8 µl dieses Gemisches wurden mit einer Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese in einem ABI 377-Sequenzierer der Firma GENterprise (Mainz) aufgetrennt.

Tab. 3: Übersicht über die bei der AFLP-Analyse eingesetzten Adapter, Primer und fluoreszenzmarkierten Primerkombinationen:

<i>Adapter</i>	<i>Sequenz</i>
<i>EcoRI</i>	5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3' 3'-CATCTGACGCATGGTTAA-5'
<i>MseI</i>	5'-GACGATGAGTCCTGAG-3' 3'-TACTCAGGACTCAT-5'
<i>Primer +1</i>	<i>Sequenz 5' - 3'</i>
E+A M+C	GACTGCGTACCAATTCA GATGAGTCCTGAGTAAC
<i>Primer +3</i>	<i>Sequenz 5' - 3'</i>
E+ACG (E37) E+AGA (E39) E+ATG (E45) M+CCT (M54) M+CTG (M61) M+CGG (M57)	GACTGCGTACCAATTCACG GACTGCGTACCAATTCAGC GACTGCGTACCAATTCATG GATGAGTCCTGAGTAACCT GATGAGTCCTGAGTAACTG GATGAGTCCTGAGTAACGG
<i>Fluoreszenzfarbstoff</i>	<i>Primerkombinationen</i>
NED 6-FAM HEX	E37/M54 E 39/M61 E 45/M 57

Die erstellten Rohdaten wurden mit dem Programm ABI Prism GeneScan (Version 2.1, ABI) aligniert. Dabei wurden die Längen der DNA-Fragmente anhand des internen Längenmarkers GeneScan ROX 500 standardisiert und die

Mindestpeakhöhen der einzelnen Fragmente festgelegt. Die GeneScan-files wurden anschließend in das Programm Genotyper (Version 2.1, ABI) exportiert und dort in einem automatischen Verfahren als 0/1-Merkmale kodiert. Da die automatische Fragmentlängenzuordnung besonders an der Grenze zweier Fragmentlängen nur unzureichend war, mussten alle Elektrophoretogramme visuell kontrolliert und ggf. editiert werden. Das fehlerfreie Ablaufen der verschiedenen AFLP-Reaktionen wurde mittels Negativkontrollen getestet. Die Reproduzierbarkeit wurde geprüft, in dem sieben Amplifikations-Produkte doppelt elektrophoretisch aufgetrennt wurden. Im zweiten Datensatz wurden drei Amplifikationsprodukte reproduziert. Die technische Fehlerrate wurde durch das Verhältnis der Anzahl nicht übereinstimmender Fragmente zur Gesamtzahl aller amplifizierten Fragmente bestimmt (Bonin et al. 2004).

3.6 Analyse der AFLP-Daten

Prinzipiell wurden bei den computergestützten Auswertungen der AFLP-Datensätze der *arealweiten phylogeografischen* und der *mitteleuropäischen populationsgenetischen* Studie die selben Software-Programme und programminternen Einstellungen verwendet. Wurden bei den Analysen unterschiedliche Einstellungen verwendet, wird dies bei der folgenden Beschreibung der einzelnen Analyseverfahren und der genutzten Software explizit erwähnt. Die statistischen Analysen basierten auf der Annahme, dass comigrierende AFLP-Fragmente homolog sind, es sich bei ihnen um diploide, dominante Marker handelt und die Allele entweder anwesend (amplifiziert) oder abwesend (nicht amplifiziert) sind.

Arealweite phylogeografische Studie

Bei der Auswertung und Statistik der binären AFLP-Matrices wurden bei der arealweiten Phylogeografie von *M. athamanticum* Clusterverfahren (NJ, modellbasierte Analyse), Hauptkoordinatenanalysen (PCO), Varianzanalysen (AMOVA) und Manteltests durchgeführt. Außerdem wurden für die 23 Populationen mit Hilfe verschiedener Indices (Anzahl polymorpher Marker, Shannons diversity Index, Neis gene diversity) der Grad ihrer genetischen Diversität und die Anzahl privater und fixierter privater Fragmente bestimmt.

Populationsgenetische Studie im mitteleuropäischen Teilareal

Bei der AFLP-Analyse für die regionale populationsgenetische Untersuchung von *M. athamanticum* in Mitteleuropa wurden ebenfalls Clusterverfahren (NJ, modellbasierte Analyse), PCOs, AMOVAs und Manteltests durchgeführt. Für die 14 untersuchten Populationen wurden wiederum Diversitätswerte berechnet, der Zusammenhang zwischen Populationsgröße und genetischer Diversität untersucht und der Genfluss zwischen den Populationen bzw. Populationsgruppen ermittelt. Untersuchungen zu Ausbildung von Hybridzonen wurden mit dem modellbasierten Clusterverfahren durchgeführt.

3.6.1 Neighbor-Joining-Analyse

Als erstes wurde das Ausmaß der genetischen Distanzen (D) zwischen den AFLP-Phänotypen auf Basis des Ähnlichkeitskoeffizienten SC (Nei & Li 1979) mit dem Programm PAUP, Version 4.0 (Swofford 2002), berechnet. Sie errechnet sich aus der Formel: $D = 1 - SC = 1 - [2n_{xy}/(n_x + n_y)]$ wobei n_{xy} die Zahl der gemeinsamen Fragmente zweier AFLP-Phänotypen x und y und n_x bzw. n_y die Zahl aller Fragmente der AFLP-Phänotypen x bzw. y ist. Der Ähnlichkeitskoeffizient wurde ursprünglich für RFLPs entwickelt und kann als Ausmaß des Anteils von Banden interpretiert werden, die zwei Individuen aufgrund gemeinsamer Vorfahren gemein sind (Robinson & Harris 1999). Auf Basis der sich ergebenden paarweisen Distanzmatrix wurde ebenfalls mit dem Programm PAUP eine Neighbor-joining (NJ)-Analyse (Saitou & Nei 1987) durchgeführt und ein Phylogramm erstellt. Das NJ-Clusterverfahren berechnet einen „minimum evolution tree“ (Li 1997) und stellt eine Annäherung an einen Baum mit der kleinsten möglichen Summe aller Astlängen dar. Die statistische Unterstützung der einzelnen Äste des NJ-Phylogramms wurde mit einer Bootstrap-Analyse (Felsenstein 1985) nach 1000 Wiederholungen ermittelt. Da bei individuellen NJ-Analysen häufig keine hohen Vertrauenswerte (bootstrap support) für die einzelnen Äste erzielt werden (vgl. z.B. Kropf et al. 2002, Kropf et al. 2003), basiert die Clusterbildung und somit Aussagen zur genetischen Struktur im Datensatz vorwiegend auf einer visuellen Analyse.

Neben dieser auf Individuen basierenden Clusteranalyse wurde auch ein Clusterverfahren auf Basis der paarweisen „unbiased genetic distances“ (Nei 1978)

zwischen den Populationen mit dem Programm TFGA 1.3 (Miller 1997) durchgeführt. Die Vertrauenswerte der einzelnen Äste wurden wiederum mit einer Bootstrap-Analyse (Felsenstein 1985) nach 1000 Wiederholungen ermittelt.

3.6.2 Modellbasiertes Clusterverfahren

Um die geografisch-genetische Struktur im Datensatz zu untersuchen, wurde auch eine im Programm STRUCTURE (Pritchard *et al.* 2000) implementierte modellbasierte Clusteranalyse durchgeführt. Dabei nimmt das Modell eine Anzahl von K Clustern bzw. Populationen an, die jeweils durch eine Abfolge von Allelfrequenzen charakterisiert sind. Das Programm berechnet die Wahrscheinlichkeit $\Pr(X | K)$ für unterschiedliche Werte von K mit einem Markov Chain Monte Carlo-Verfahren (MCMC) und einem Bayes'schen Algorithmus. Im Falle stark strukturierter Datensätze (z. B. aufgrund einer ausgeprägten isolation-by-distance-Beziehung) kann die Heranziehung des höchsten Wertes für die Wahrscheinlichkeit $\Pr(X | K)$ zur Bestimmung der Anzahl der Cluster/Populationen dem realen Bild entgegenstehen. Das liegt daran, dass im Falle einer ausgeprägten Differenzierung der Daten, die sich in einer graduellen Veränderung von Allelfrequenzen widerspiegelt, der Datensatz letztendlich in soviel Cluster zerlegt wird, wie abgegrenzte Untersuchungseinheiten existieren (Rosenberg *et al.* 2002, Garnier *et al.* 2004). Da im Mittelpunkt der arealweiten phylogeografischen Analyse die Erkennung der großräumigen Struktur des Datensatzes und nicht die Bestimmung der maximalen Anzahl der Genpools steht, wurde neben dem maximalen Wert für $\Pr(X | K)$ auch das Ausmaß der Erhöhung von $\Pr(X | K)$ für $K + 1$ als Hinweis für die biogeografische Struktur am besten repräsentierende Anzahl von Clustern herangezogen (Garnier *et al.* 2004).

Bei der *arealweiten phylogeografischen* Studie wurden als Grundeinstellungen das „no admixture ancestry model“ und das „independent allele frequencies model“ gewählt. Ersteres impliziert die Zugehörigkeit eines jeden Individuums des Datensatzes zu einer diskreten Population (bzw. einem Cluster). Letzteres geht davon aus, dass die Allelfrequenzen in den untersuchten Populationen unabhängige Abbilder einer Dirichlet-Verteilung D mit $(\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_i)$ sind.

Bei der *mitteleuropäischen populationsgenetischen* Untersuchung stand neben der Aufdeckung der geographisch-genetischen Struktur die Suche nach

Kontaktzonen bzw. Kontaktzonen-Populationen im Vordergrund. Diese Analyse beschränkte sich aufgrund der detaillierten geografischen Auflösung der Beprobungsstellen auf die mitteleuropäischen Populationen. Da die phylogeografische Analyse das mitteleuropäische Teilareal als vergleichsweise homogene Gruppe charakterisiert wurde, wurden bei den Grundeinstellungen das „admixture model“ und das „correlated allele frequencies model“ gewählt. Das „admixture model“ impliziert, dass Individuen nicht ausschließlich von einer Population abstammen, sondern gemischte Vorfahren haben können, wobei mit dem Programm die Proportionen des Anteils verschiedener Vorfahren an einem Individuum berechnet werden (Pritchard et al. 2000). Das „correlated allele frequencies model“ fußt auf der Annahme, dass sich die Allelfrequenzen aufgrund von Migrationsereignissen und gemeinsamen Vorfahren in den verschiedenen Populationen ähneln (Falush et al. 2003).

Für die Ermittlung der $Pr(X | K)$ -Werte wurde für beide Datensätze jeweils 5 unabhängige MCMC-Berechnungen für $K = 1$ bis $K =$ die Anzahl der Probestellen bzw. besammelten Populationen durchgeführt. Der MCMC-Prozess basierte jeweils auf einer burn-in-Phase von 30000 Generationen und einer Sammelphase von 200000 Generationen.

3.6.3 Hauptkoordinaten-Analyse (PCO)

Um die Ähnlichkeit der individuellen AFLP-Phänotypen räumlich darzustellen und mit den Ergebnissen der individuellen NJ-Analyse zu vergleichen, wurde ein Ordinationsverfahren angewandt, wobei mit dem Programm NTSYS (Rohlf 2000) Distanzmatrices basierend auf den quadrierten Euklidischen Distanzen (E) mit $E_{ij} = \sum_k^n (x_{ki} - x_{kj})^2$ berechnet wurden. Sie wurden anschließend in NTSYS einer Hauptkoordinaten-Analyse (PCO) unterzogen (Gower 1966, Sneath & Sokal 1973). Die Berechnungen erfolgten mit den in NTSYS implementierten Computerprogrammen SIMINT, DCENTRE, EIGEN, der Plot wurde mit dem Programm MOD3D erstellt. Zusätzlich wurde in NTSYS ein Minimum-spanning-tree (MST) erstellt und über die zwei- und dreidimensionalen Plots projiziert. Der MST verbindet die im n -dimensionalen Raum am nächsten liegenden Individuen miteinander.

3.6.4 Analyse der molekularen Varianz (AMOVA)

Um die genetische Variabilität innerhalb und zwischen den Populationen zu untersuchen, wurde auch eine Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) mit dem Programm ARLEQUIN (Excoffier et al. 1992) durchgeführt.

Die AMOVA wurde für den gesamten Datensatz sowie innerhalb der geografischen Gruppierungen, die auf den Cluster- und PCO-Analysen basierten, berechnet. Grundlage der hierarchischen AMOVA, die die genetische Varianz im Datensatz auf verschiedene Varianzkomponenten verteilt (Wright 1951, Cockerham 1973), waren die in den NJ- und PCO-Analysen beobachteten geografischen Gruppierungen. Dabei wurde auf Basis der vorangegangenen NJ- und PCO-Analysen eine geografisch-genetische Struktur definiert, die aus den Ebenen der Individuen, Populationen und Regionen gebildet wurde.

Die Signifikanzen der Varianzkomponenten wurden über einen Vergleich der berechneten Werte mit einer Nullverteilung ermittelt, die mit einer Bootstrap-Prozedur mit 1000 Wiederholungen generiert wurde. Bei dieser Methode wird eine neue Stichprobe aus den ursprünglichen Daten mit der gleichen Anzahl an Datenelementen zufällig erzeugt.

Mit dem Programm ARLEQUIN wurde außerdem eine Matrix mit den paarweisen F_{ST} -Werten (Weir & Cockerham 1984) der Populationen erstellt. Der F_{ST} -Wert beschreibt, analog zu den Werten aus den F-Statistiken (Wright 1943), die durchschnittliche genetische Differenzierung der Populationen, mit $0 \leq F_{ST} \leq 1$, wobei der Grad der genetischen Differenzierung mit dem F_{ST} -Wert ansteigt. Die F_{ST} -Werte der Populationen wurden analog zum Vorgehen bei den individuellen Analysen in PCO- und MST-Analysen verrechnet.

3.6.5 Isolation-by-distance-Beziehung

Die vom Programm ARLEQUIN in der AMOVA-Analyse generierte Matrix der paarweisen F_{ST} -Werte wurde darüber hinaus auch mit ihren geografischen Distanzen verglichen, um die „Isolation durch Distanz“ Korrelation (Wright 1943) zu testen. Diese Korrelation besagt bei einer positiven Beziehung, dass sich geografisch näher liegende Populationen genetisch ähnlicher sind, der Genfluss zwischen Populationen

mit der Entfernung also abnimmt. Da prinzipiell davon auszugehen ist, dass in Refugialgebieten für Populationen ein längerer Zeitraum zur Erreichung des isolation-by-distance-Gleichgewichtes zur Verfügung stand, wird das Fehlen oder die Reduktion dieser Beziehung in verglichenen Regionen als Hinweis für jüngere Besiedelung angesehen. In nicht linearen, dreidimensionalen Systemen, wie sie in expliziter Weise von *M. athamanticum* und der von der Art besiedelten Mittel- und Hochgebirge gebildet wird, kann die Reduktion von isolation-by-distance allerdings auch mit einem in jüngerer Zeit stattgefundenen Genfluss begründet werden, der bspw. einem jüngeren Interglazial entspricht. Die Berechnung der Signifikanzwerte erfolgte durch einen Manteltest (Mantel 1967) mit dem Programm NTSYS (Rohlf 2000).

3.6.6 Diversitätsindices

Um die genetische Diversität innerhalb der untersuchten Populationen von *M. athamanticum* zu beschreiben, wurden Shannons diversity index H_{SH} nach $H_{SH} = -\sum(\pi_i \ln[\pi_i])$, wobei π_i die relative Häufigkeit des i -ten AFLP-Fragments ist (Legendre & Legendre 1988) und der Prozentsatz aller polymorphen AFLP-Fragmente innerhalb jeder Population ($\%P_{pop}$) berechnet. Mit dem Programm POPGENE (Yeh et al. 1997) wurde Nei's gene diversity (h) berechnet (Nei 1973). Die Korrelation zwischen den verschiedenen Diversitätsindices wurde mit dem Spearman-Rang-Korrelationskoeffizienten bestimmt. Vergleiche der Diversitätswerte zwischen den Gruppen wurden mit einem Mann Whitney U-Test berechnet. Die Berechnung der Spearman-Rang-Korrelationskoeffizienten, die Mann Whitney U-Tests wurden mit dem Programm STATISTICA (StatSoft 2002) durchgeführt.

Als weiterer Diversitätsmarker wurde die Anzahl privater (F_{pr}), d. h. nur auf eine Population beschränkter Fragmente bestimmt, die als fixiert bezeichnet wurden (F_{prf}), wenn sie allen Proben einer Population gemein sind (z. B. Stehlik et al. 2001, Tribsch et al. 2002). Da private Fragmente in vergleichsweise älteren und isolierten Populationen häufiger sind, geben sie zusammen mit den Werten der genetischen Diversität Hinweise auf historische Entwicklungsprozesse der einzelnen Populationen. Zur Charakterisierung der geografisch-genetischen Gruppen in mitteleuropäischen Datensatz wurde die binäre Fragmentmatrix analysiert. Dabei

wurde überprüft, ob Populationen bzw. Gruppen private, seltene oder zerstreut auftretende Fragmente besitzen. Private Fragmente sind auf einzelne Populationen bzw. Gruppen beschränkt, seltene Fragmente treten in bis zu 25% und zerstreute Fragmente in bis zu 50% aller Akzessionen auf. Außerdem wurde überprüft, ob sich innerhalb der Gruppen Gradienten bezüglich der Anzahl der privaten, seltenen oder zerstreuten Fragmente erkennen lassen, die mit historischen Migrations- und rezenten Isolationsprozessen erklärt werden können.

Für die 14 mitteleuropäischen Populationen wurde der Zusammenhang zwischen der Populationsgröße und der genetischen Diversität mit einem Spearman-Rang-Korrelationskoeffizienten bestimmt.

3.6.7 Geneflow

Der Genfluss zwischen den 14 Populationen im mitteleuropäischen Teilareal von *M. athamanticum* wurde über die indirekte Methode nach Wright (1931) auf Basis der F_{ST} -Werte der AMOVA ermittelt. Die Berechnung erfolgte nach der Formel $N_e m = (1 - F_{ST}) / (4 \times F_{ST})$, wobei N_e für die effektive Populationsgröße und m für die Migrationsrate steht.

3.7 PCR-Amplifikation und Sequenzierung der ITS- Region

Da die Variation der pflanzlichen Chloroplasten- und mitochondrialen -DNA vergleichsweise gering ist, ist die Auswahl von Genen für infraspezifische genetische Untersuchungen beschränkt. Die Internal-Transcribed-Spacer-Region (ITS) ist seit der Entwicklung von universellen Primern (White et al. 1990) ein häufig in phylogenetischen Analysen eingesetzter Marker. Von ihm ist aber inzwischen in einer Reihe von Studien auch infraspezifische Variation belegt. Die aus den variablen Bereichen ITS-1 und ITS-2 sowie dem dazwischen liegenden konservativen 5,8s-RNA-Gen bestehende ITS-Region liegt zwischen den Genen der ribosomalen 18S- und 26S-RNA. Bei der Sequenzierung von Individuen von *M. athamanticum* wurden mit den von White et al. (1990) für Pilze entwickelten und von Downie & Katz-Downie (1996) für eine Phylogenie der Apioideae modifizierten Primern ITS-4 (5'-TCCTTCCGCTTATTGATATGC-3') und ITS-5 (5'-GGAAGGAGAAGTCGTAA-

CAAGG-3') gearbeitet, welche die ITS-Region komplett amplifizieren. Die PCR-Reaktion erfolgte in einem 25 µl-Ansatz:

Reaktionsgemisch PCR-Amplifikation (ITS):

Menge	Komponente	Konzentration
1,25 µl	MgCl ₂	50 mM
2,5 µl	BioTherm Puffer	10 x
0,25 µl	dNTPs	20 mM
1 µl	Primer1	50 pmol
1 µl	Primer2	50 pmol
0,1 µl	BioTherm-Polymerase	5 U/µl
1 µl	DNA	50 – 80 ng/µ
12,9 µl	H ₂ O bidest	

Die anschließende PCR-Reaktion wurde in einem thermal cycler (Whatman Biometra, Göttingen, Deutschland) unter folgenden Temperaturbedingungen ausgeführt:

Thermocycler-Einstellungen PCR-Amplifikation (ITS):

Zyklen	Schritt	Temperatur	Dauer
1	Initialdenaturierung	94 °C	120 sec
	Denaturierung	94 °C	18 sec
9	Primeranlagerung	55 °C	30 sec
	Polymerisation	72 °C	60 sec
1	Polymerisation	72 °C	120 sec
1	Endpolymerisation	60 °C	30 min

Die eingesetzten Primer wurden von der Firma Roth (Karlsruhe, Deutschland) synthetisiert. Die Aufreinigung der PCR-Produkte erfolgte mit ExoSAP-IT (USB, Cleveland, USA). Die Sequenzierreaktion wurde mit dem BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Norwalk, Connecticut, USA) und AmpliTaq DNA Polymerase mit folgenden Temperaturzyklen durchgeführt:

Thermocycler-Einstellungen Sequenzierreaktion (ITS):

Zyklen	Schritt	Temperatur	Dauer
1	Initialdenaturierung	96 °C	60 sec
	Denaturierung	96 °C	10 sec
25	Primeranlagerung	50 °C	5 sec
	Polymerisation	60 °C	4 min
1	Endpolymerisation	60 °C	4 min

Bei der Vorwärtsreaktion wurde dabei der Primer ITS-4, bei der Rückwärtsreaktion der Primer ITS-5 benutzt. Die Sequenzieramplifikate wurden mit einem automatischen Sequenzierer (ABI 3100) im Nano-Biozentrum der Universität Kaiserslautern aufgetrennt.

3.8 **PCR-Amplifikation und Sequenzierung der ETS-Region**

Auch für die External-Transcribed-Spacer-Region (ETS), die sich zwischen den ribosomalen 18S und 26S Genen befindet, wurde infraspezifische Variation beschrieben (Baldwin & Markos 1998, Kelch & Baldwin 2003). Die ETS-Region ist Bestandteil der Intergenic-Spacer-Region (IGS). Sie wurde mit den primern 26S-IGS (5'-TATGTAAGTGGCAGAGTGGCC-3') (Baldwin & Markos 1998) und 18S-2L (5'-TGACTACTGGCAGGATCAACCAG-3') (Linder et al. 2000) amplifiziert und sequenziert. Die PCR-Reaktion erfolgte in einem 50 µl-Ansatz mit:

Reaktionsgemisch PCR-Amplifikation (ETS):

Menge	Komponente	Konzentration
10 µl	Phusion HF-Puffer inkl. 7,5 mM MgCl ₂ (Finnzymes, Espo, Finnland)	5X
5 µl	dNTPs	20 mM
1 µl	Primer 1	30 pmol
1 µl	Primer 2	30 pmol
0,5 µl	Polymerase	1 U/µl
1 µl	DNA	50 – 80 ng/µ
18,6 µl	H ₂ O bidest	

Die Primer wurden ebenfalls von Roth (Karlsruhe, Deutschland) synthetisiert. Die anschließende PCR-Reaktion wurde in einem thermal cycler (Whatman Biometra, Göttingen, Deutschland) unter folgenden Temperaturbedingungen ausgeführt:

Thermocycler-Einstellungen PCR-Amplifikation (ETS):

Zyklen	Schritt	Temperatur	Dauer
1	Initialdenaturierung	96 °C	3 min
1	Polymerase-Addition	80 °C	10 sec
	Denaturierung	94 °C	20 sec
35	Primeranlagerung	50 °C	30 sec
	Polymerisation	72 °C	60 sec
1	Polymerisation	72 °C	5 min
1	Endpolymerisation	60 °C	30 min

Die Aufreinigung der PCR-Produkte erfolgte mit dem QIAquick purification kit (Qiagen, Hilden). Die aufgereinigte DNA wurde direkt mit den Primern der initialen PCR Sequenzierreaktion und dem BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (ABI) und AmpliTaq DNA Polymerase bei folgenden Temperaturzyklen sequenziert:

Thermocycler-Einstellungen Sequenzierreaktion (ETS):

Zyklen	Schritt	Temperatur	Dauer
1	Initialdenaturierung	96 °C	1 min
	Denaturierung	96 °C	10 sec
25	Primeranlagerung	50 °C	5 sec
	Polymerisation	60 °C	4 min
1	Endpolymerisation	60 °C	4 min

Mit der Sequenzier-PCR und der Auftrennung der ETS-Amplifikate, die auf einem automatischen ABI 377-Sequenzierer erfolgte, wurde die Firma SRD GmbH (Oberursel, Deutschland) beauftragt.

3.9 Analyse der Sequenzdaten

Aus den Sequenzen beider Leserichtungen wurde mit dem Programm SeqMan (Dnastar, Madison, USA) eine Konsensus-Sequenz erstellt. Die Verwendung von Strang und Gegenstrang erhöht dabei die Sicherheit der resultierenden Sequenzen, denn schwache Signale eines Stranges können durch den Abgleich mit dem Gegenstrang verifiziert werden. Die Konsensus-Sequenzen wurden anschließend über das in der European Molecular Biology Laboratory(EMBL)-Datenbank integrierte Programm BLAST (Altschul et al. 1997) auf ihre phylogenetische Stellung kontrolliert. Mit Hilfe des Programms BioEdit (Hall 1999) wurden die einzelnen Sequenzen in einem Datensatz vereinigt. Das Alignment erfolgte mit dem Programm ClustalX (Thompson et al. 1994), die resultierende Datei wurde wiederum mit BioEdit kontrolliert, eine manuelle Nachbearbeitung war weder bei der ITS- noch bei der ETS-Alinierung nötig.

Mit dem Optimierungskriterium Maximum Parsimony wurde unter dem Programm PAUP, Version 4.0 (Swofford 2002) für die kombinierten ITS/ETS-Daten zunächst ein phylogenetischer Stammbaum errechnet. Bei parsimonischen Methoden erfolgen die Berechnungen nach dem Prinzip der logischen Sparsamkeit und es wird

diejenige Topologie eines Phylogramms gesucht, zu deren Erstellung die geringste Anzahl evolutionärer Schritte erforderlich ist. Für die heuristische Suche nach dem optimalen Baum wurde beim Branch Swapping der Nearest Neighbor Interchange (NNI) Algorithmus verwendet. Es wurden 500 Zyklen heuristischer Suchen durchgeführt. Anschließend wurde ein Konsensus-Baum erzeugt, für den mit einem nicht-parametrischen Bootstrap-Verfahren und 1000 Pseudoreplikationen des Ausgangsdatensatzes Vertrauenswerte der einzelnen Äste berechnet wurden. Im Bootstrap-Verfahren (Felsenstein 1985) werden aus einem Ausgangsdatensatz zufällig Merkmale ausgewählt und in einem neuen Datensatz gleichen Umfangs zusammengestellt. Für jeden dieser simulierten Datensätze, in dem einige ursprüngliche Merkmale fehlen, andere wiederum doppelt auftreten, wird die optimale Topologie gesucht. Der Vertrauenswert (Bootstrap-Wert) der Knoten gibt die prozentuale Anzahl der entsprechenden Verzweigungen in den simulierten Datensätzen an.

Außerdem wurde aus dem im NEXUS-Format abgespeicherte Alignment mit Hilfe des Programms TCS (Clement et al. 2000) bei einem 95%igen Connection Limit und der Definition der Gaps als zusätzlichen Charakterzustand ein Haplotypennetzwerk erstellt.

4 Ergebnisse

4.1 Arealweite Phylogeografie

4.1.1 AFLPs

Bei der Bestimmung der technischen Fehlerrate während der Fragmenterkennung und Fragmentlängenzuordnung konnten bei den sieben doppelt elektrophoretisch aufgetrennten Individuen 16 Unterschiede bei insgesamt 350 verglichenen Fragmentensignalen beobachtet werden. Die technische Fehlerrate betrug demnach 4,57%. Die Unterschiede waren allerdings ungleichmäßig verteilt und konzentrierten sich auf ein dupliziertes Individuum. Nach dem Ausschluss dieses Profils sank die Fehlerrate auf 3,38% (10 Unterschieden bei 296 Vergleichen). 70 % der Differenzen können dabei unterschiedlichen Signalintensitäten während der Auftrennung zugeordnet werden, 30 % der Unterschiede sind auf fehlende Amplifikation der Fragmente zurückzuführen.

Mit der AFLP-Prozedur für die arealweite phylogeografische Studie wurden mit den drei Primerkombinationen insgesamt 218 auswertbare Fragmente zwischen 200 und 500 bp Länge produziert. Bei 11 Individuen brachten unterschiedliche Primerkombinationen keine auswertbaren Ergebnisse, sie wurden aus der weiteren Analyse ausgeschlossen. Mit der Merkmalsmatrix konnten alle 173 *M. athamanticum*-Proben individuell unterschieden werden, die sampling-Prozedur mit einem Abstand von 10 Metern zwischen beprobten Individuen war erfolgreich und klonale Effekte können für die durchgeführten Analysen ausgeschlossen werden. Die individuelle Anzahl der Fragmente reichte von 35 (SI4) bis 63 (TH1, TH6, CE1). Die Anzahl der Fragmente pro Population variierte von 54 (SI) bis 88 (CE und TH).

4.1.1.1 Geografisch-genetische Gruppen

Der NJ-Baum (Abb. 7), basierend auf genetischen Distanzen (Nei & Li 1979), zeigt bis auf einige Proben der zentraleuropäischen Mittelgebirge sowie Proben vom Ost- und Westhang des Col Larche in den französischen Südwest-Alpen eine deutliche Zuordnung der Individuen in ihre jeweiligen Populationen. Der Baum trennt die Proben zunächst einmal in zwei große Gruppen auf. In die erste Gruppe fallen alle Proben aus **Nordwest-/Zentral-Europa** (im Folgenden NW/Z-Europa). Weniger

deutlich ist die weitere Untergliederung innerhalb dieser nordwest-/zentraleuropäischen Populationsgruppe in ein Cluster mit Proben aus zentraleuropäischen (deutschen) Mittelgebirgen (EG, TH, HZ, RH, EI) und ein Cluster mit Proben aus dem westlichen und nordwestlichen Europa (VO, CE) inklusive der zwei schottischen (KE, SC) und der West-Alpen-Population (LT). In der zweiten Gruppe stehen die drei Populationen CL, LA und TE aus den **Südwest-Alpen** (im Folgenden SW-Alpen) den Proben aus **Süd-Europa** (im Folgenden S-Europa) gegenüber. Die S-Europa-Gruppe ist in weitere fünf Cluster unterteilt: (1) eine südwesteuropäische Gruppe mit den Populationen der Pyrenäen (PT, PU, PI) und aus Nordspanien (SL), (2) eine Apennin-Gruppe (PZ, PO), (3) die Nordost-Alpen (EB, PR), (4) die spanische Sierra Nevada (SI) und (5) Bulgarien.

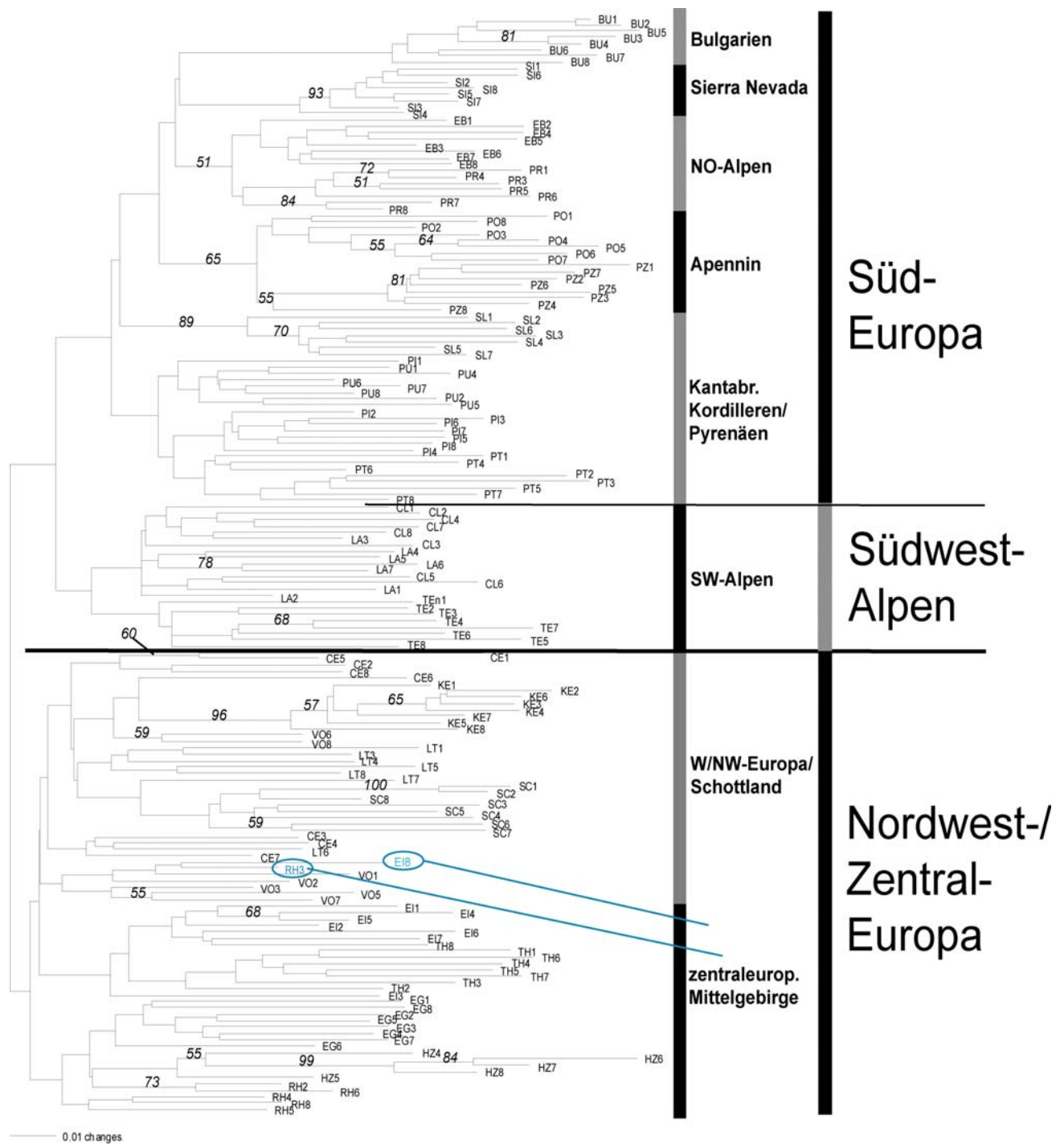


Abb. 7: NJ-Baum für 173 *M. athamanticum* AFLP-Phänotypen aus 23 Populationen basierend auf genetischen Distanzen (Nei 1979) mit Bootstrap-Werten > 50% nach 1000 Wiederholungen. Die Stellung der Individuen Rh3 und Ei8 (blau markiert) entspricht nicht der geografischen Substrukturierung im Datensatz. Für Populationsabkürzungen siehe Tabelle 1.

Dabei sind die zwei Populationen aus dem italienischen Apennin mit einem Bootstrap-Wert von 65 am deutlichsten unterstützt. Die Zwischenstellung der Populationsgruppe aus den SW-Alpen wird im Phylogramm (Abb. 8) mit fast identischen Astlängen zur nördlichen bzw. südlichen Gruppe deutlich.

Nordwest-/Zentral-Europa

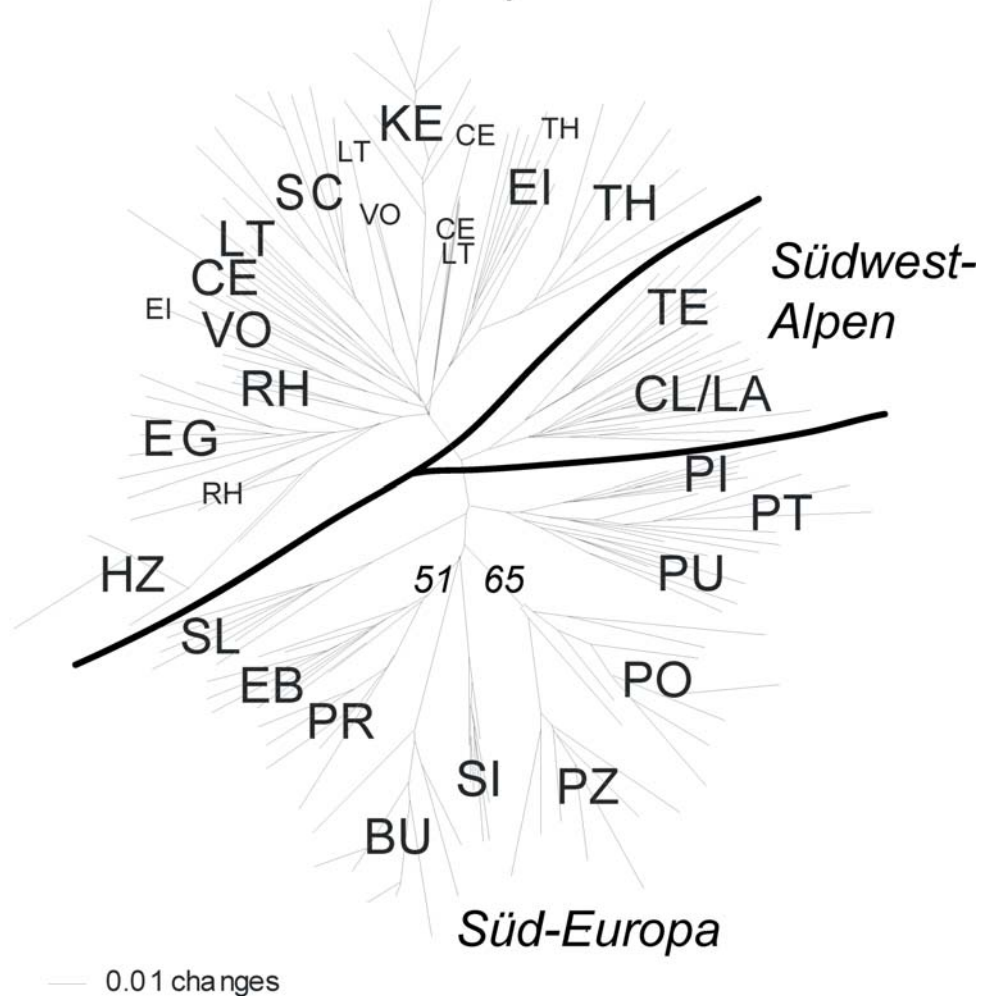


Abb. 8: NJ-Phenogramm der AFLP-Phänotypen von 173 Individuen aus 23 Populationen von *M. athamanticum*. Die Darstellung basiert auf den genetischen Distanzen (Nei & Li 1979). Für Äste, die Populationen bzw. Populationscluster trennen, ist die Bootstrapunterstützung bei > 50% angegeben (bei 1000 Wiederholungen). Für Populationsabkürzungen siehe Tabelle 1.

Die Clusteranalyse der genetischen Distanzen zwischen allen paarweisen Kombinationen der Populationen (Abb. 9) zeigt die gleiche Differenzierung im Datensatz, wobei die Populationen HZ, KE und BU auf einem vergleichsweise hohen Level isoliert dargestellt werden.

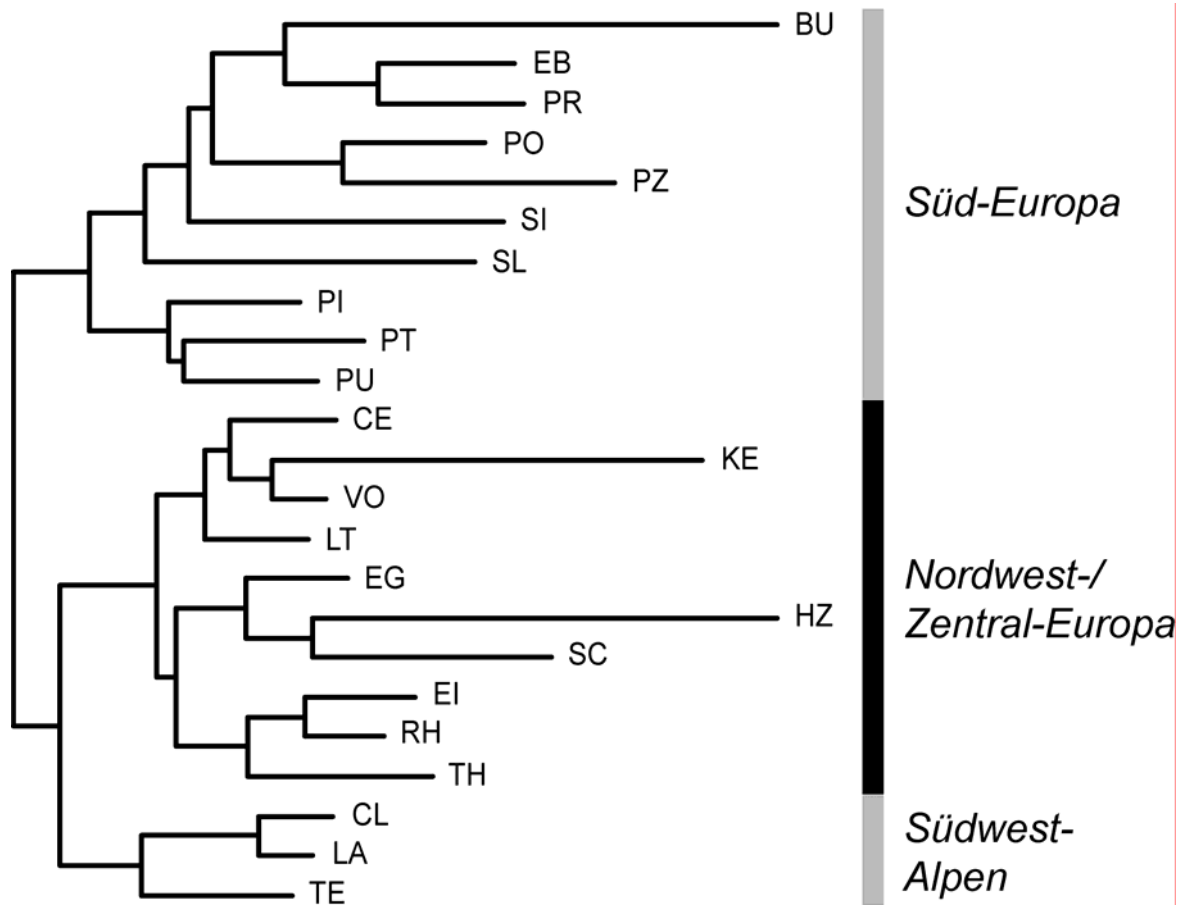


Abb. 9: NJ-Baum der 23 Populationen und korrespondierende geografische Regionen berechnet auf Basis von Nei's genetischen Distanzen (Nei 1978). Abkürzungen und Details zu den Populationen in Tabelle 1.

Auch die Hauptkoordinaten(PCO)-Analyse aller 173 AFLP-Phänotypen (Abb. 10) ermöglicht eine Untergliederung des Datensatzes. Entlang der ersten Hauptkoordinate, die 22,5% der Gesamtvariation im Datensatz erklärt, sind in einem gestaffelten Übergang Individuen mit tendenzieller Nord-Süd-Ausrichtung in drei Gruppen voneinander getrennt, die mit den geografischen Regionen der Distanzanalysen korrespondieren.

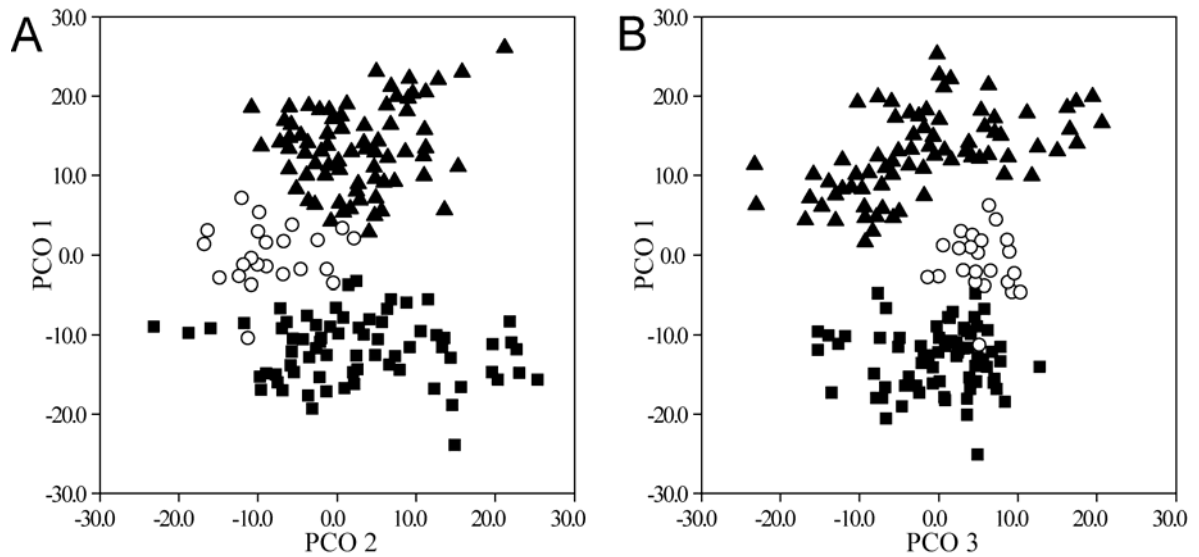


Abb. 10: Hauptkoordinaten(PCO)-Analyse der 173 AFLP-Phänotypen von *M. athamanticum* auf Basis ihrer quadrierten Euklidischen Distanzen. (A) Hauptordinate 1 gegen Hauptordinate 2, (B) Hauptordinate 1 gegen Hauptordinate 3. Diese drei Achsen erklären 22,52% (1), 11,19% (2) und 8,86% (3) der Gesamtvariation im Datensatz. Schwarze Quadrate: Nordwest-/Zentral-Europa; offene Kreise: Südwest-Alpen; schwarze Dreiecke: Süd-Europa. Der offene Kreis innerhalb der Nordwest-/Zentral-Europa-Gruppe symbolisiert ein Individuum der Population TE (siehe Text).

Eine zwischen südlichen und nördlichen Proben intermediäre Stellung nehmen hierbei wiederum Individuen aus den SW-Alpen ein, wobei ein Individuum aus der TE-Population (Col det Tende, SW-Alpen) in die NW/Z-Europa-Gruppe fällt. Die individuelle MST-Analyse belegt aber die Eigenständigkeit dieser SW-Alpengruppe, mit der nördlichen als auch der südlichen Gruppe ist sie nur mit einem MST-Ast verbunden.

Um die Struktur im Datensatz deutlicher darzustellen, wurden weitere PCO-Analysen durchgeführt, die nur den Datensatz für NW/Z-Europa oder S-Europa umfassten, jeweils inklusive dem Material aus den SW-Alpen. Die PCO-Analyse der *M. athamanticum*-Proben aus NW/Z-Europa und den SW-Alpen stellt das Material aus dem nordwest- und zentraleuropäischen Populationen mit Ausnahme der deutlich isoliert clusternden schottischen Population KE als unstrukturierte Punktwolke dar (Abb. 11). Es bestätigt sich das Bild der individuellen Clusteranalysen, welche die

Populationen aus NW/Z-Europa im Gegensatz zu denen aus S-Europa als schwach strukturiert und somit genetisch geringer differenziert charakterisiert.

Die separate PCO-Analyse von den *M. athamanticum*-Proben aus S-Europa und den SW-Alpen zeigt deutlich die vergleichsweise stärkere Differenzierung und geografische Gruppenbildung der südeuropäischen Populationen (Abb. 11).

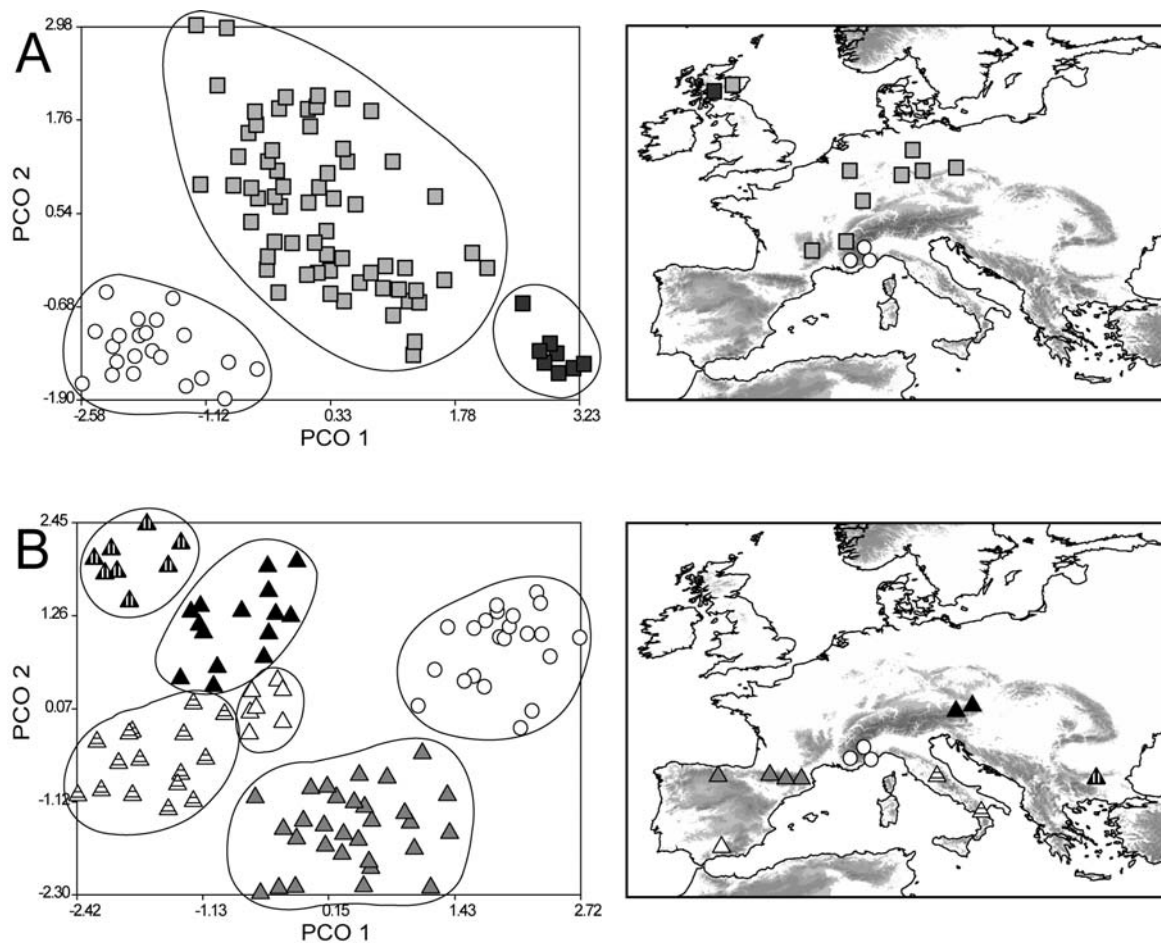


Abb. 11: Hauptkoordinaten(PCO)-Analyse der AFLP-Phänotypen von *M. athamanticum*. (A) 96 AFLP-Phänotypen aus den 13 Populationen der Nordwest-/Zentral-Europa und der Südwest-Alpen-Gruppe, Hauptkoordinate 1 (11,49%) gegen Hauptkoordinate 2 (8,62%); (B) 100 AFLP-Phänotypen aus den 13 Populationen der Süd-Europa und der Südwest-Alpen-Gruppe, Hauptkoordinate 1 (11,13%) gegen Hauptkoordinate 2 (9,12%). Quadrate: Nordwest-/Zentral-Europa, Kreise: Südwest-Alpen, Dreiecke: Süd-Europa.

In dem zweidimensionalen Plot der ersten zwei Hauptkoordinaten, die 11,4% bzw. 8,62% der gesamten Variation im Datensatz beschreiben, können neben dem SW-Alpen fünf klar umrissene Cluster identifiziert werden. Sie korrespondieren entweder mit diskreten Populationen oder mit geografisch deutlich abgegrenzten Regionen. Populationscluster bilden die Individuen aus Bulgarien (BU) und der Sierra Nevada (SI). Geografische Cluster bilden die Populationen der Pyrenäen (PI, PT, PU) zusammen mit der benachbarten Population der spanischen Sierra Pena Labra (SL), die beiden italienischen Populationen aus dem zentralen (PZ) und südlichen Apennin (PO) und schließlich das Material der beiden beprobten ostalpinen Populationen (EB, PR). Dieses Bild stützt wiederum die individuellen Clusteranalysen, welche die Populationen aus S-Europa als deutlich strukturierte und genetisch differenzierte Gruppe charakterisieren.

Eine weitere PCO-Analyse zur Aufklärung der genetisch-geografischen Struktur von *M. athamanticum* wurde mit den in der Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) errechneten F_{ST} -Werte der 23 Populationen durchgeführt (Abb. 12).

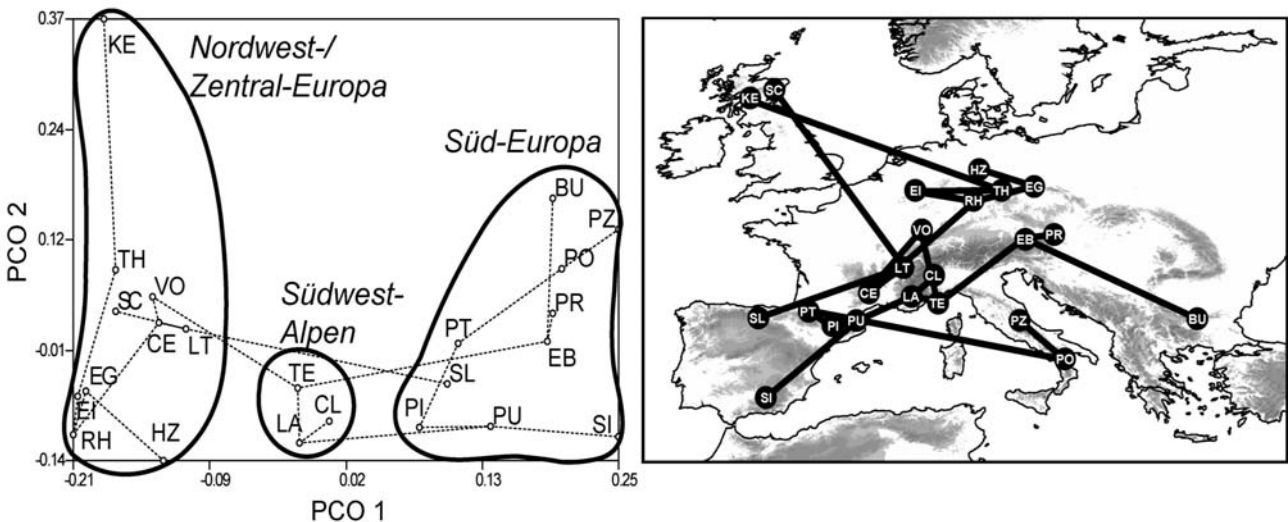


Abb. 12: Hauptkoordinaten(PCO)- und Minimum-Spanning-Tree(MST)-Analyse der paarweisen AMOVA- F_{ST} -Werte der 23 untersuchten Populationen von *M. athamanticum*, Hauptordinate 1 gegen Hauptordinate 2. Diese beiden Achsen erklären 25,54% und 12,37% der Gesamtvariation im Datensatz. Für Populationsabkürzungen siehe Tabelle 1.

Sie belegt die bereits in den vorherigen Analysen gezeichnete biogeografische Großstruktur von *M. athamanticum* mit zwei großen Populationsgruppen in NW/Z-Europa und S-Europa sowie einer intermediären Gruppe von Populationen aus den SW-Alpen. Das Minimum Spanning-Network (MST), das die im n-dimensionalen Raum am nächsten liegenden Proben miteinander verbindet, weist die Gruppe der SW-Alpen als geografisch-genetische Übergangsguppe zwischen NW/Z-Europa und S-Europa aus, indem sie zu beiden großen geografischen Populationsclustern mit MST-Ästen verbunden ist.

Um die genetische Struktur im AFLP-Datensatz von *M. athamanticum* aufzudecken, wurde außerdem eine modellbasierte Clusteranalyse durchgeführt. Die Ergebnisse dieses Verfahrens bestätigen die Resultate der NJ- und PCO-Analysen. Die Likelihood-Werte steigen wie erwartet mit zunehmender Zahl angenommener Populationen bzw. Cluster (K) an und erreichen ab $K = 11$ ein Werteplateau (Abb. 13). Mit der Ausnahme des Modells bei $K = 6$ werden mit Erhöhung von K die Cluster in sukzessive kleinere geografischen Einheiten unterteilt. Bei dem 2-Cluster Modell ($K = 2$) werden Individuen aus S-Europa auf der einen von Individuen aus den SW-Alpen und NW/Z-Europa auf der anderen Seite voneinander getrennt. Im $K = 3$ Modell wird als nächstes die SW-Alpen-Gruppe getrennt plus den Individuen aus den Pyrenäen. Dieses Cluster teilt sich im Folgenden ($K = 4$) in Material aus den SW-Alpen auf der einen und Material aus den Pyrenäen plus Individuen aus der benachbarten nordspanischen Population SL auf der anderen Seite. Im nächsten Modell ($K = 5$) wird das Material aus der südspanischen Sierra Nevada (SI) noch zur Pyrenäen-Nordspanien Gruppe hinzugefügt. Hingegen werden das gesamte restliche Material aus S-Europa in ein Apenninen-Cluster (PZ, PO) und ein Cluster mit ostalpinen (EB, PR) und bulgarischen Individuen (BU) getrennt. Im Modell $K = 6$ zeigt sich das erste Mal eine Trennung innerhalb der NW/Z-Europa Gruppe mit einem separaten Cluster aus Material des Thüringer Waldes (TH) und der schottischen Population KE. Darüber hinaus zeigen auch Individuen anderer NW/Z-Europa Populationen partielle Zugehörigkeit zu diesem Cluster (SC, CE, VO). In den nachgelagerten Modellen mit $K = 7-11$ werden die bereits bestehenden südeuropäischen Cluster schrittweise in kleinere, regionale Cluster unterteilt. Außerdem wird die Population aus dem Harz von der NW/Z-Europa-Gruppe separiert (Abb. 14).

Das modellbasierte Clusterverfahren unterstützt am deutlichsten die Unterteilung des Datensatzes in zwei Hauptcluster durch das Modell $K = 2$. Gestützt wird das durch die Tatsache, dass der Zuwachs der Likelihood gemessen im Zuwachs von $\Pr(X | K)$ in der Analyse fortlaufend großer K 's am höchsten ist, für $K > 2$ sind zunehmend geringere Zuwachswerte ermittelt worden. Das bedeutet, dass der Informationsgewinn im $K = 2$ -Modell wichtiger für die Strukturierung des Datensatzes ist als die Information der Modelle mit $K > 2$. Darüber hinaus gaben 5 unabhängige Berechnungen für das Modell $K = 2$ das gleiche Ergebnis der Strukturierung, wohingegen die Berechnungen für die Modelle $K = 3-23$ unterschiedliche Resultate für die Clusterung lieferten.

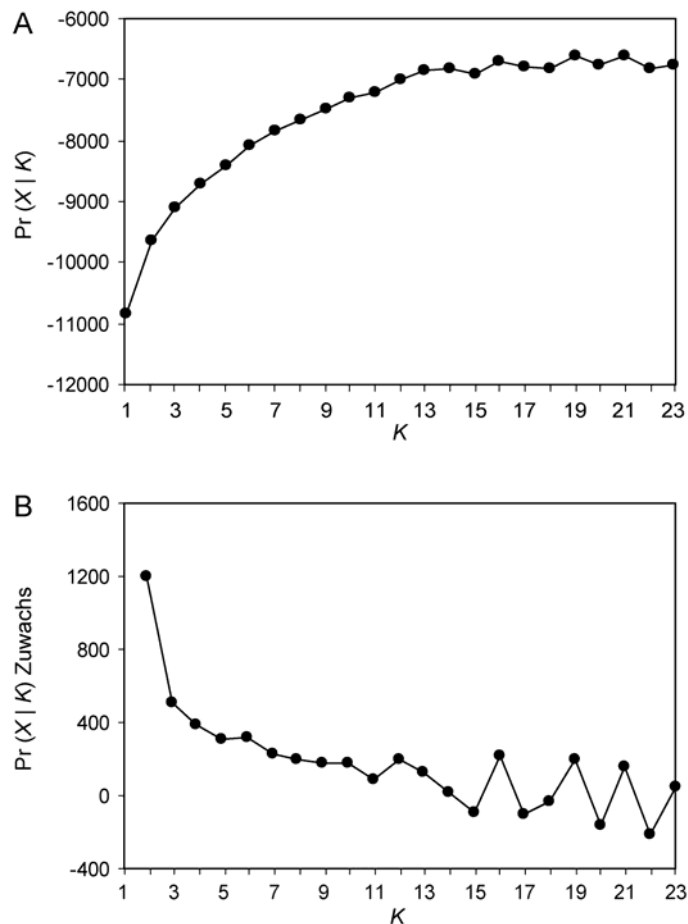


Abb. 13: Ergebnisse der modellbasierten Clusteranalyse. Likelihood der Daten für K -Cluster (A) und Zuwachs der Likelihood für $K+1$ (B).

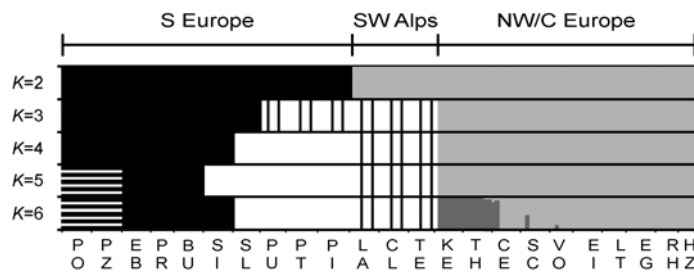


Abb. 14: Ergebnisse der modellbasierten Clusteranalyse für $K = 2-6$. Jedes Cluster ist durch eine eigene Signatur gekennzeichnet, Individuen und Zuteilungsfrequenzen einzelner Individuen zu den Clustern sind durch vertikale Säulen repräsentiert. Die Abbildungen für jedes K basieren auf dem jeweils höchsten gemessenen Likelihood-Wert. Die Zuordnung der Cluster zu den geografischen Regionen der NJ- und PCO-Analysen ist oberhalb der Säulengrafik angegeben. Abkürzungen und weitere Details finden sich in Tabelle 1.

Zusammengefasst ermöglichen die Clusteranalysen der genetischen Distanzen, die individuellen und populationsbezogenen PCO- und MST-Analysen und die modellbasierte Clusteranalyse die Definition von drei geografischen Gruppen im AFLP-Datensatz von *M. athamanticum*:

- (1) Nordwest-/Zentral-Europa (NW/Z-Europa),
- (2) Südwest-Alpen (SW-Alpen),
- (3) Süd-Europa (S-Europa).

4.1.1.2 Genetische Diversität innerhalb der Populationen und Regionen

Um die genetische Diversität innerhalb der 23 untersuchten Populationen von *M. athamanticum* zu beschreiben, wurden Shannons diversity Index H_{SH} , der Prozentsatz aller polymorphen AFLP-Fragmente innerhalb jeder Population ($\%P_{pop}$) und Nei's gene diversity (h) berechnet. Die Werte dieser Diversitätsindices sind signifikant miteinander korreliert (Tab. 4, Spearman's paarweiser Rangkorrelationskoeffizient $\%P_{pop}$ vs. H_{SH} : 0,993; H_{SH} vs. h : 0,915; $\%P_{pop}$ vs. h : 0,902; p jeweils $< 0,001$). Auf Ebene der 23 untersuchten Populationen sind nach dem percentage of polymorphic loci zwei Probensätze aus den SW-Alpen ($CL = 28,44\%$,

TE = 28,44%) genetisch am diversesten, gefolgt von der Population CE (= 27,06%) im französischen Zentralmassiv. Die geringste Diversität nach %P_{pop} findet sich in der südspanischen Sierra Nevada (SI = 14,68%), der schottischen Kenmore-Population (KE = 16,51%), und in der mitteldeutschen Rhön (RH = 16,97%). Nach Shannons index H_{SH} ist die Reihenfolge TE (= 0,222), CL (= 0,217), TH (= 0,216). Die genetisch einheitlichsten Populationen sind SI (= 0,104); KE (= 0,124) und BU (= 0,141). Die geografische Verteilung der genetischen Diversität der Populationen nach dem Index Nei's gene diversity (h) ist in Abbildung 15 dargestellt.

Tab. 4: Genetische Diversität in den 23 untersuchten Populationen von *M. athamanticum* in Beziehung zu genetisch definierten geografischen Populationsgruppen. Gesamt (T) oder Durchschnittswerte (M) der Gruppen und die Standardabweichung (in Klammern) sind angegeben. Abkürzungen und weitere Details finden sich in Tabelle 1.

Region	Populations-Code	N	Anzahl polymorpher Loci	Percentage of polymorphic loci (%P _{pop})	Shannon's Index (H _{SH})	Nei's gene diversity (h)	(fixierte private Fragmente)
Nordwest-/Zentral-Europa	CE	8	59	27,06%	0,206826	0,0829	7
	KE	8	36	16,51%	0,124334	0,0617	4
	LT	7	57	26,15%	0,207343	0,0892	-
	SC	8	55	25,23%	0,200633	0,0868	1
	VO	7	51	23,39%	0,184185	0,0805	-
	EG	8	53	24,31%	0,192149	0,0899	2
	EI	8	54	24,77%	0,193542	0,0845	4
	HZ	5	44	20,18%	0,168964	0,0763	-
	RH	6	37	16,97%	0,142453	0,0612	1
Südwest-Alpen	TH	8	57	26,15%	0,216231	0,0916	2
				M: 23,07% (3,84%)	M: 0,184 (0,030)	M: 0,080 (0,011)	T: 21
	CL	8	62	28,44%	0,216979	0,0967	1
Südwest-Alpen	LA	7	50	22,94%	0,182451	0,0761	1
	TE	8	62	28,44%	0,221868	0,1039	4
Süd-Europa				M: 26,61% (3,18%)	M: 0,207 (0,021)	M: 0,092 (0,014)	T: 6
	PI	8	49	22,48%	0,170403	0,0740	3
	PT	8	56	25,69%	0,206546	0,0821	2
	PU	7	44	20,18%	0,159419	0,0703	1
	SI	8	32	14,68%	0,104478	0,0494	5
	SL	7	50	22,94%	0,174471	0,0763	6 (2)
	BU	8	39	17,89%	0,140577	0,0694	6 (1)
	EB	8	42	19,27%	0,15682	0,0671	1
	PO	8	47	21,56%	0,172006	0,0844	5
	PR	7	40	18,35%	0,15311	0,0607	2
Süd-Europa	PZ	8	46	21,10%	0,161093	0,0821	1
				M: 20,41% (3,08%)	M: 0,160 (0,026)	M: 0,072 (0,011)	T: 35

Beim Vergleich der populationsbezogenen genetischen Diversität zwischen den Regionen (Tab. 4) zeigen alle Indices die höchsten Werte in den SW-Alpen

($\%P_{\text{pop}}$: $26,61 \pm 3,18\%$; H_{SH} : $0,207 \pm 0,021$; h : $0,92 \pm 0,014$). Die Populationsgruppe aus NW/Z-Europa Populationen hat die zweithöchsten Diversitätswerte ($\%P_{\text{pop}}$: $23,07 \pm 3,84\%$; H_{SH} : $0,184 \pm 0,030$; h : $0,080 \pm 0,011$). Vergleichsweise wenig divers sind die südeuropäischen Populationen ($\%P_{\text{pop}}$: $20,41 \pm 3,08\%$; H_{SH} : $0,160 \pm 0,026$; h : $0,072 \pm 0,011$). Dabei zeigen sich signifikante Unterschiede im Vergleich zwischen SW-Alpen und S-Europa (Mann Whitney *U*-Test, $\%P_{\text{pop}}$ $p = 0,022$; H_{SH} $p = 0,018$) als auch zwischen NW/Z-Europa und S-Europa (Mann Whitney *U*-Test, h $p = 0,045$)

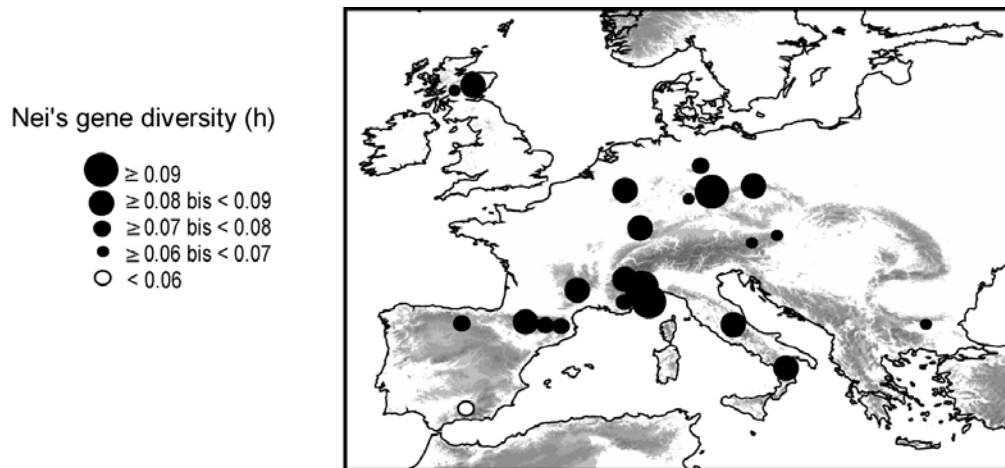


Abb. 15: Nei's gene diversity (h) in den 23 arealweit untersuchten Populationen von *M. athamanticum*.

Als weiterer Diversitätsmarker wurde die Anzahl und regionale Verteilung einzelner Fragmente analysiert und vor einem geografischen Hintergrund visualisiert (Abb. 16). Eine hohe Anzahl populationspezifischer (privater) Fragmente (F_{pr}) findet sich in den Populationen der Cevennen (CE), in der Sierra Pena Labra (SL), Bulgarien (BU), gefolgt von der Sierra Nevada (SI), Süd-Appennin (PO), Kenmore/Schottland (KE), der Eifel (EI) und dem Col de Tende in den SW-Alpen (TE). Keine privaten Fragmente haben hingegen Populationen im Harz (HZ), den Vogesen (VO) und am Col du Lautaret in den Westalpen (LT). Überdies sind die untersuchten Populationen der Sierra Pena Labra (SL) und der Stara Planina (BU) durch fixierte private Fragmente (F_{prf}), also Fragmente, die in allen Individuen der Population vorkommen, gekennzeichnet.

private und
fixierte private Fragmente

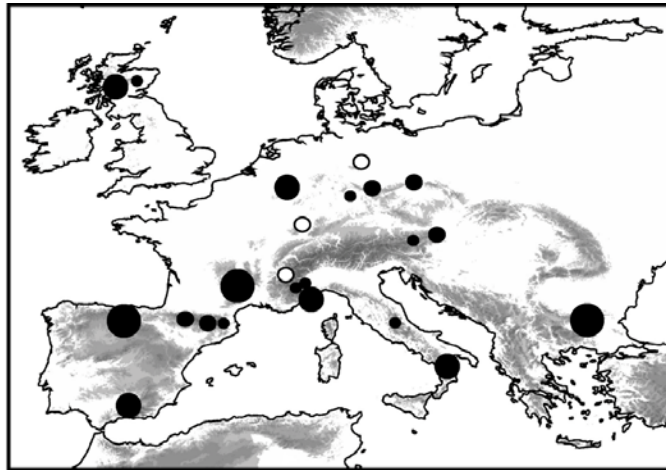


Abb. 16: Private (F_{pr}) und fixierte private Fragmente (F_{prf}) in den 23 untersuchten Populationen von *M. athamanticum*. Sehr große Punkte: $F_{pr}+F_{prf} \geq 6$; große Punkte: $F_{pr}+F_{prf} = 4, 5$; mittelgroße Punkte: $F_{pr}+F_{prf} = 2, 3$; kleine Punkte: $F_{pr}+F_{prf} = 1$; offene Kreise: $F_{pr}+F_{prf} = 0$ (vgl. Tab. 4).

Zusammengefasst zeigen die Diversitätsindices und die Verteilung privater Fragmente, dass Populationen mit hoher genetischer Diversität und einer vergleichsweise hohen Zahl privater bzw. fixierter privater Fragmente über das gesamte Areal von *M. athamanticum* verteilt sind.

4.1.1.3 Genetische Differenzierung zwischen Populationen und Regionen

Auf Basis des gesamten oder Teilen des AFLP-Datensatzes wurden neben den Cluster- und Ordinationsverfahren auch Analysen der molekularen Varianz (AMOVA) durchgeführt (Tab. 5), um die genetische Variabilität innerhalb und zwischen den Populationen zu untersuchen. Die AMOVA wurde für den gesamten Datensatz sowie innerhalb der geografischen Gruppierungen berechnet.

Im kompletten Datensatz ohne definierte geografische Struktur liegt zwischen den 23 Populationen 46,6% der gesamten Variation. Die hierarchische AMOVA ermittelte zwischen den drei auf Grundlage der Cluster- und Ordinationsanalysen gebildeten Gruppen NW/Z-Europa, SW-Alpen und S-Europa 16,9% der gesamten Variation. 33% der Variation verbleiben zwischen den Populationen der drei Gruppen. Beim Vergleich der separat durchgeführten Gruppenanalysen ohne hierarchische

Struktur zeigt sich, dass die südeuropäischen Regionen mit 47,1% Variation zwischen den Populationen am stärksten differenziert ist. Innerhalb der nördlichen Gruppe beträgt die Variation unter den Populationen dagegen nur 36,4%. Eine demgegenüber nochmals deutlich reduzierte Differenzierung zeigt sich mit 18,2% in den SW-Alpen.

Tab. 5: Analysen der molekularen Varianz (AMOVA) der *M. athamanticum* AFLP-Phänotypen. Neben der Differenzierung des kompletten Datensatzes (Total) sind die Werte für die intraregionale Differenzierung der drei geografischen Hauptgruppen (NW/Z-Europa, S-Europa, SW-Alpen) dargestellt. Deren Abgrenzung basiert auf den Ergebnissen der Cluster- und PCO-Analysen (Abb. 7-12). Angegeben sind Freiheitsgrade (df), Summe der Quadrate (SSD), Varianzkomponenten (CV), Prozentanteil der Gesamtvarianz (%total). Die Signifikanzwerte (p) für die Varianzkomponenten zwischen den Regionen sind nach 1000 Permutationen berechnet.

	<i>df</i>	<i>SSD</i>	<i>CV</i>	<i>%total</i>	<i>p</i>
Gruppierung					
Total					
Zwischen Populationen	22	1694,868	8,8909	46,58	< 0,001
Innerhalb der Populationen	150	1529,479	10,19652	53,42	
Nordwest-/Zentral-Europa					
Zwischen Populationen	9	499,178	6,13946	36,37	< 0,001
Innerhalb der Populationen	63	676,657	10,74059	63,63	
Süd-Europa					
Zwischen Populationen	9	647,268	8,15227	47,06	< 0,001
Innerhalb der Populationen	67	614,446	9,17084	52,94	
Südwest-Alpen					
Zwischen Populationen	2	64,408	2,65089	18,19	< 0,001
Innerhalb der Populationen	20	238,375	11,91875	81,81	

Die Analyse des isolation-by-distance-Musters wurde auf Basis der Matrices der paarweisen F_{ST} -Werte und der geografischen Distanzen der Populationen (Anhangstab. 1 & 3) durchgeführt. Für den kompletten Datensatz mit allen Populationen (Abb. 17) zeigt die lineare Regression eine signifikant positive Beziehung ($y = 0,00014 x + 0,31511$; $r = 0,6887$; $p < 0,001$). Abbildung 18 zeigt die lineare Regression der südeuropäischen und der nordwest/zentraleuropäischen Populationsgruppe. In S-Europa zeigt sich eine signifikant positive Beziehung ($y = 0,000105 x + 0,34514$; $r = 0,7205$; $p < 0,0001$). Hingegen ist innerhalb der nördlichen

Evolutionslinie die genetische Distanz nicht positiv mit der geografischen Distanz korreliert ($y = 0,00007 x + 0,3093$; $r = 0,255$; $p = 0,1307$).

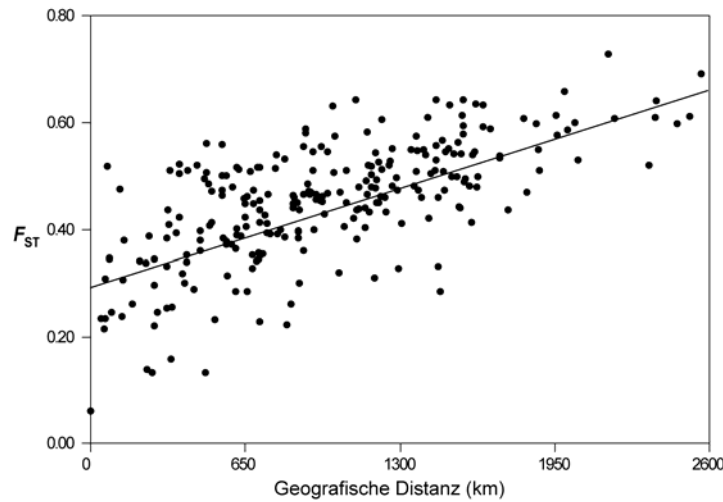


Abb. 17: Plot der F_{ST} -Werte zwischen allen 23 Populationen von *M. athamanticum* gegen ihre geografischen Distanzen. Bei dieser arealweiten Betrachtung spiegelt die Regressionsgerade einen signifikant positiven Zusammenhang wider, sie zeigt somit ein isolation-by-distance-Muster ($y = 0,00014 x + 0,31511$; $r = 0,6887$; $p < 0,001$).

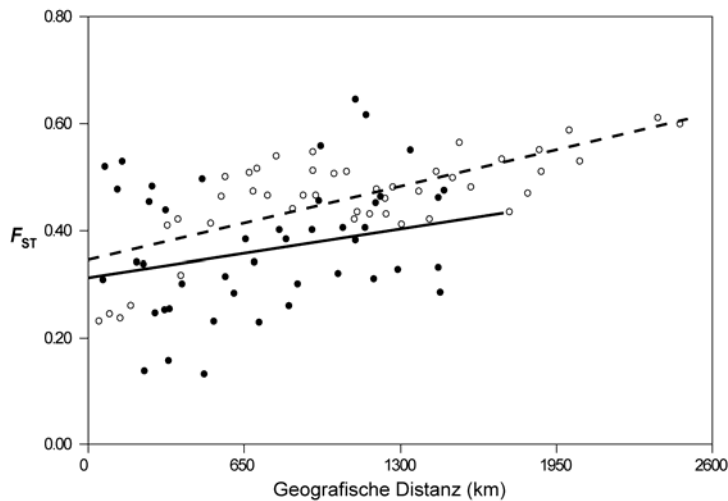


Abb. 18: Plot der F_{ST} -Werte zwischen Populationen von *M. athamanticum* gegen ihre geografischen Distanzen innerhalb der zwei großen geografischen Gruppen der Cluster- und PCO-Analysen. Schwarze Punkte und durchgezogene Regressionslinie symbolisieren die Ergebnisse für NW/Z-Europa, offene Kreise und gestrichelte Linie symbolisieren den Vergleich innerhalb von S-Europa. Eine isolation-by-distance-Beziehung zeigt sich in S-Europa ($y = 0,000105 x + 0,34514$; $r = 0,7205$; $p < 0,0001$), dagegen nicht in NW/Z-Europa ($y = 0,00007 x + 0,3093$; $r = 0,255$; $p = 0,1307$).

4.1.2 ITS- und ETS-Sequenzen

Für die intraspezifische Verwandtschaftsanalyse von *M. athamanticum* wurden von je einem Individuum aus 24 europaweit untersuchten Populationen (23 Populationen analog zu den AFLP-Untersuchungen plus 1 Individuum aus Montenegro) ITS- und ETS-Sequenzen generiert (Anhangstab. 5 & 6). Das Alignment der kombinierten ITS1- und ITS2-Region resultierte bei allen Individuen in einer insgesamt 440bp-langen Sequenz. Innerhalb der vollständigen ITS-Region waren 8 Nukleotidpositionen variabel (ITS-1: 4 Positionen/ITS-2: 4 Positionen). Das Alignment der ETS-Sequenzen führte zu einer Insertion an der Position 318. Inklusive dieser Insertion hatte das Alignment insgesamt eine Länge von 646 Basenpaaren. Innerhalb dieses Abschnittes waren inklusive der Insertion 12 Nukleotidpositionen variabel. Die ETS-Region war mit einem Anteil von 1,86 % variabler Positionen nur gering informativer als die ITS-Region mit 1,82 % variablen Positionen.

4.1.2.1 *Maximum Parsimony-Phylogramm*

In dem Maximum Parsimony (MP)-Phylogramm der kombinierten ITS/ETS-Analyse (Abb. 19) ist eine basale, in sich unaufgelöste Gruppe west- und nordwesteuropäischer Individuen (VO, LT, SC, KE, CE) mit 88% Bootstrapunterstützung (BS) deutlich von den übrigen Individuen separiert. Eine gut unterstützte Gruppe (BS = 86) bilden die Proben aus den Nordostalpen (EB, PR). Aufgrund der geringen Anzahl informativer Merkmale sind die Individuen aus dem zentralen Europa (EI, TH, RH, HZ, EG), den Pyrenäen (PT, PU, PIA), dem restlichen Spanien (SL, SI) sowie Zentralitalien (PZ) nur gering intraspezifisch strukturiert. Ausgehend von dieser Gruppe zeigt sich zwischen den Proben der SW-Alpen (CL, LA, TE) auf der einen und den Proben aus dem östlichen Mediterranengebiet (PO, MA, BU) auf der anderen Seite eine deutliche Separierung (BS = 99), wobei letztere wiederum eine sequenzielle Abfolge in östliche Richtung zeigt (BS = 88).

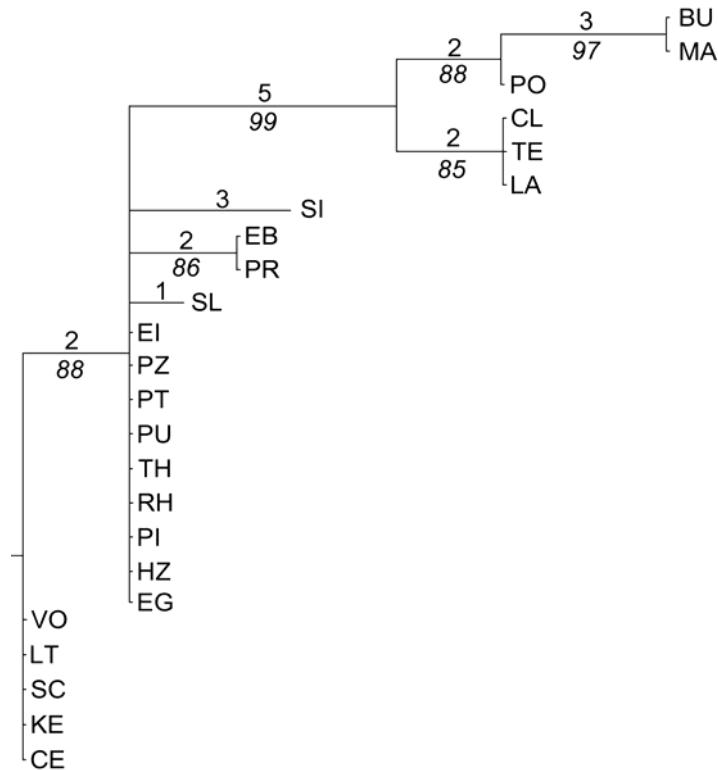


Abb. 19: Maximum parsimony-Phylogramm des kombinierten ITS-ETS-Sequenzdatensatzes von 24 Individuen von *M. athamanticum*. Die Zahlen über den Ästen geben die Anzahl der Nucleotidsubstitutionen, die Zahlen unter den Ästen die Bootstrap-Unterstützung > 50% nach 1000 Wiederholungen an.

4.1.2.2 Haplotypennetzwerk

Das Haplotypennetzwerk basiert auf den kombinierten ITS/ETS-Sequenzen. Insgesamt wurden mit dieser Sequenzabfolge acht Haplotypen detektiert (Abb. 20). Im Zentrum des Netzwerks steht ein weit verbreiteter Haplotyp, der in den Mittelgebirgen Deutschlands (EI, HZ, RH, TH, EG), den Pyrenäen (PI, PT, PU) und dem zentralen Apennin (PZ) nachgewiesen wurde. Ein Drittel aller Individuen gehören zu diesem Haplotyp. Er bildet ausgehend von der Annahme, dass interne und häufige Haplotypen vergleichsweise älter sind, die Wurzel des Netzwerkes (Castelloe & Templeton 1994). Um ihn liegen 4 Haplotypen aus den Nordostalpen (EB, PR), den spanischen Kordillern (SL), der Sierra Nevada (SI) sowie dem west- und nordwestlichem Europa (KE, SC, VO, CE, LT). Letzterer ist aus einem großen Areal belegt und vermutlich durch Expansionsereignisse charakterisiert. Am zentralen Ast

des Netzwerkes liegen weitere Haplotypen aus den SW-Alpen (CL, LA, TE) und dem südlichen Apennin (PO). Von Letzterem aus bilden Individuen aus Montenegro (MA) und Bulgarien (BU) den Spitzenhaplotyp des Netzwerkes. Die Länge des Balkan/Süditalien-Astes im Haplotypennetzwerk weist auf eine alte Differenzierung und Isolation dieser Gruppe hin. Die Beziehungen zwischen den Gruppen bleiben aber insgesamt unklar. Das spiegelt den Mangel an sequenzbasierten Informationen wider.

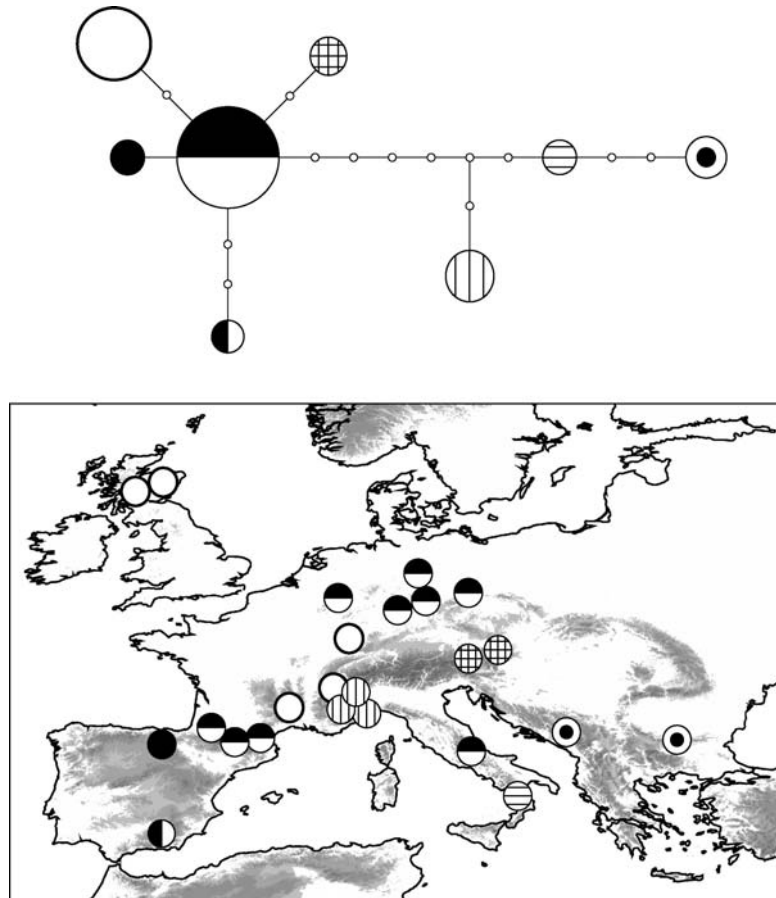


Abb. 20: Haplotypennetzwerk und geografische Verbreitung der Haplotypen der kombinierten ITS-ETS Sequenzdaten von *M. athamanticum*. Die Größe der Kreise im Haplotypennetzwerk reflektiert die Anzahl an Individuen pro Haplotypen.

4.2 Mitteleuropäische populationsgenetische Studie

4.2.1 AFLPs

Für die populationsgenetische Studie auf dem Fokus von 14 beprobten mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum* standen nach der AFLP-Analyse mit drei Primerkombinationen insgesamt 128 Fragmente zwischen 230 und 420 bp Länge zur Auswertung zur Verfügung. Alle 210 *M. athamanticum*-Proben konnten mit der Merkmalsmatrix individuell unterschieden werden, die sampling-Prozedur mit dem Abstand von 10 Metern zwischen beprobten Individuen war wie bei der Aufsammlung für die phylogeografische Studie erfolgreich und klonale Effekte können für die durchgeführten Analysen ausgeschlossen werden. Die individuelle Anzahl der Fragmente reichte von 30 (MSW 7) bis 75 (EG 6). Die durchschnittliche Anzahl der Fragmente lag bei 56,4.

4.2.1.1 Geografisch-genetische Gruppen im zentralen Mitteleuropa

Das Gebiet der populationsgenetischen Studie mitteleuropäischer *M. athamanticum*-Vorkommen ist Bestandteil der NW/Z-Europa-Gruppe der arealweiten phylogeografischen Studie. In den Clusteranalysen der phylogeografischen Untersuchung wurden, wie oben dargelegt, die NW/Z-europäischen Populationen mit Ausnahmen einer schottischen Population, als untereinander vergleichsweise homogen und gering genetisch differenziert charakterisiert. Daher wurde als erstes überprüft, ob der neu erstellte und stark erweiterte Datensatz mit 210 Individuen aus 15 Populationen (die phylogeografische Studie deckt in diesem Gebiet 42 Individuen aus 6 Populationen ab) die geografisch-genetische Struktur innerhalb der zentraleuropäischen Vorkommen von *M. athamanticum* feiner auflöst.

Auf Basis der 210 individuellen AFLP-Phänotypen erbrachte die NJ-Analyse (nicht dargestellt) keine interpretierbare Untergliederung des Datensatzes. Auch die Hauptkoordinaten-Analyse der 210 Individuen zeigt kein eindeutiges Bild in der genetischen Struktur der mitteleuropäischen Vorkommen von *M. athamanticum*. Die beiden wichtigsten Hauptkoordinaten (PCO1, PCO2) erklären gemeinsam 24,9% der Varianz im Datensatz. Ihnen liegt der Scatterplot der Abbildung 21 zugrunde. Dieser zweidimensionale Plot zeigt mit einigen Ausnahmen eine große, fast kontinuierliche

Punktewolke. Um den Informationsgehalt der Analyse zu erhöhen, wurde die Populationszugehörigkeit der einzelnen Individuen auf die entsprechenden Punkte des Plots aufgetragen.

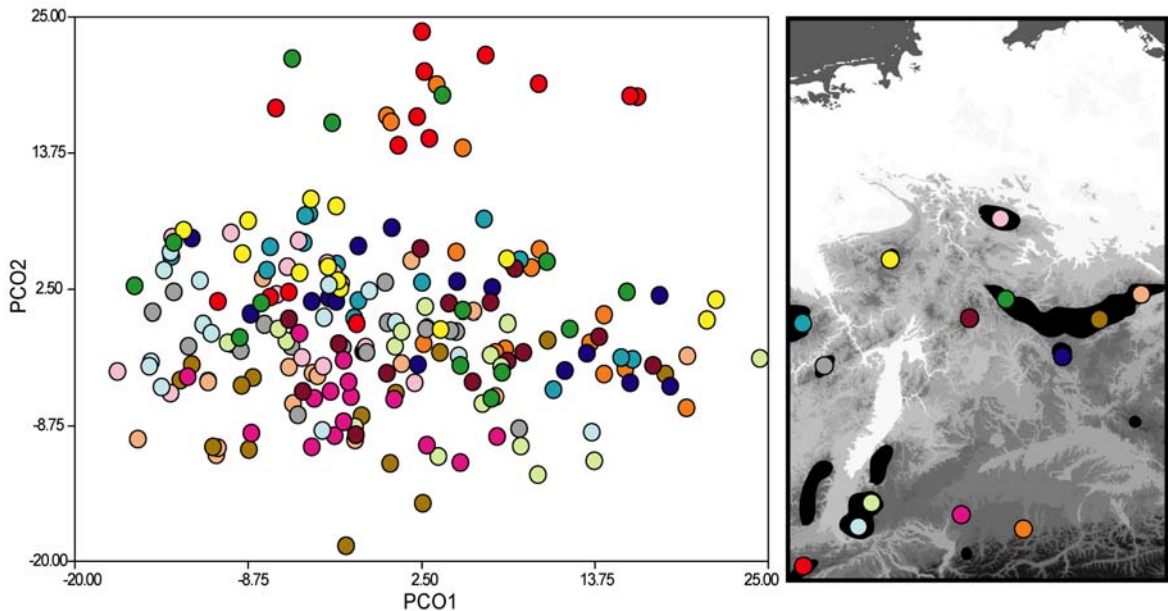


Abb. 21: Ergebnisse der Hauptkoordinatenanalyse von 210 mitteleuropäischen *M. athamanticum*-Individuen aus 14 Populationen basierend auf ihren Euklidischen Distanzen. Dargestellt ist ein zweidimensionaler Scatterplot der beiden ersten Hauptkoordinaten (PCO 1, PCO 2), die 14,7% bzw. 10,2% der gesamten Variation im Datensatz erklären. Die Individuen sind gemäß ihrer Herkunft, die in der nebenstehenden Karte dargestellt ist, eingefärbt. In der Karte wird zudem das Verbreitungsgebiet der Art in Mitteleuropa gezeigt.

Bei dieser Darstellung können einige Tendenzen beobachtet werden:

1. der Großteil der Individuen aus dem Schweizer Jura (JUR, rote Punkte) ist zusammen mit einzelnen Individuen aus dem bayerischen Alpenvorland (BAY, orange Punkte) und dem Thüringer Wald (THU, dunkelgrüne Punkte) deutlich von den restlichen mitteleuropäischen Proben getrennt.

2. Die Populationen aus dem Harz (HAR, rosa Punkte), dem Hunsrück (HUN, graue Punkte) und aus Oberschwaben (OBS, lila Punkte) sind weit überwiegend in der linken Hälfte der Grafik positioniert. Dem entgegen sind die Individuen aus dem bayerischen Alpenvorland (BAY, orange Punkte) auf die rechte Seite der Grafik

beschränkt. Alle anderen Populationen zeigen entlang der 1. Achse keine klare Clusterung.

3. Entlang der 2. Achse sind neben der bereits erwähnten deutlichen Abtrennung von Material aus dem Schweizer Jura, den bayerischen Voralpenland und dem Thüringer Wald die beiden benachbarten Populationen aus dem Ost-Erzgebirge (ERZ, beige Punkte), dem West-Erzgebirge (FBG, braune Punkte) sowie aus Oberschwaben (OBS, lila Punkte) in der unteren Hälfte der Grafik konzentriert. Die Population aus dem Rothaargebirge (ROT, gelbe Punkte) hingegen beschränkt sich auf den mittleren Abschnitt der 2. Achse.

In der Clusteranalyse der genetischen Distanzen zwischen allen paarweisen Kombinationen der Populationen (Abb. 22) sind zwei Gruppen zu differenzieren. Die erste Gruppe wird aus den Populationen aus dem bayerischen Alpenvorland (BAY), dem Jura (JUR), dem Thüringer Wald (THU), der Eifel (EIF) und dem Rothaargebirge (ROT) gebildet. Das zweite Cluster umfasst die restlichen Populationen. Die Populationen aus dem Jura (JUR), dem Harz (HAR), aus Oberschwaben (OBS) und der Rhön (RHO) sind auf einem hohen Level isoliert.

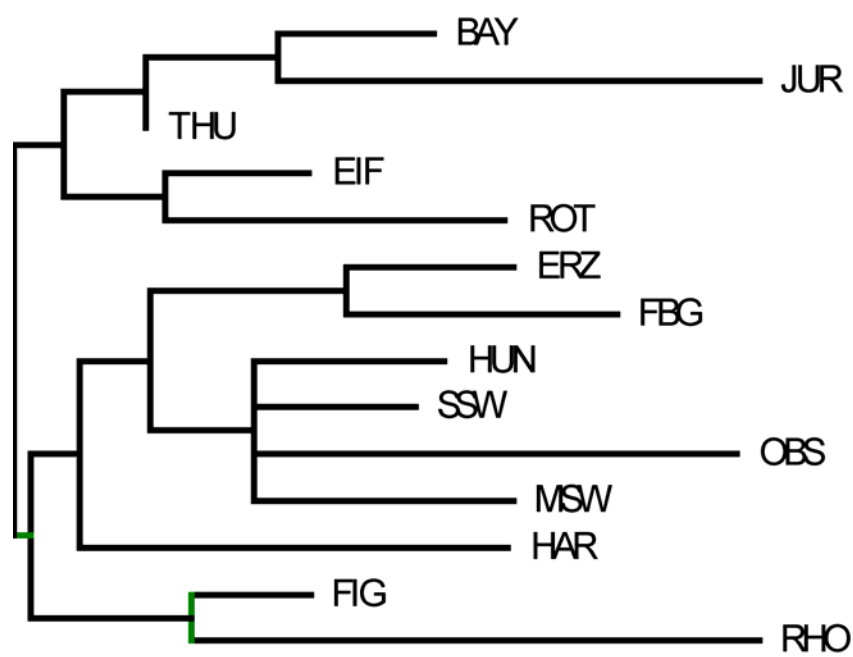


Abb. 22: NJ-Baum der 14 mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum* berechnet auf Basis von Nei's genetischen Distanzen (Nei 1978). Abkürzungen und weitere Details zu den Populationen finden sich in Tabelle 2.

Auf Basis der F_{ST} -Werte der 14 Populationen, die der Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) entstammen, wurde eine weitere populationsbezogene PCO- und MST-Analyse durchgeführt (Abb. 23).

Zu allererst verdeutlichen beide Analyse die klare Separierung von Populationen aus dem Südwesten des mitteleuropäischen Teilareals von *Meum* (OBS, SSW, MWS, HUN). Von den restlichen Populationen deutlich abgegrenzt sind auch die zentral im Scatterplot gelegenen Populationen aus dem Nordosten (FBG, ERZ, HAR), die mit einem MST-Ast miteinander verbunden sind. Weitere Gruppierungen werden durch diese populationsbezogene Analyse nicht aufgedeckt. Die Populationen aus dem nordwestlichen Verbreitungsgebiet (EIF, ROT) bilden mit den zentral (THU, FIG) und den südlich gelegenen Population (BAY, JUR) eine große, heterogene Gruppe.

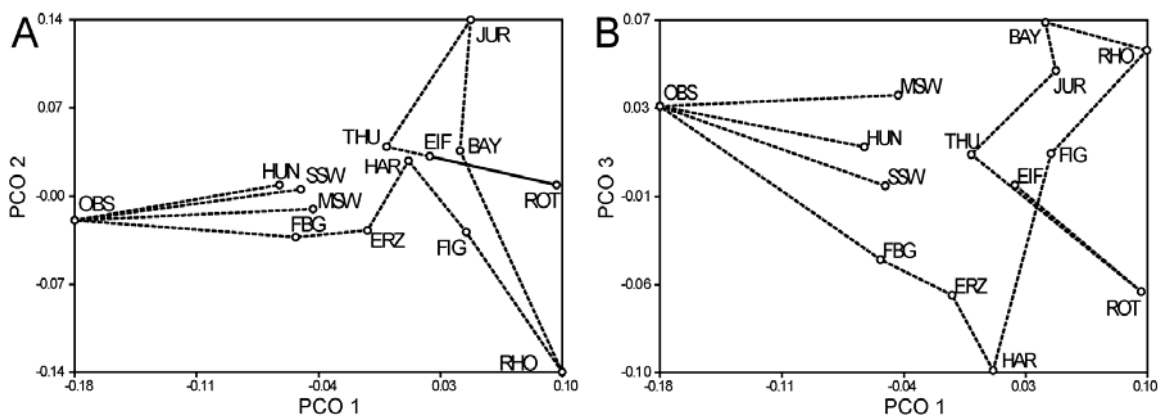


Abb. 23: Hauptkoordinaten- und Minimum-Spanning-Tree-Analyse der paarweisen AMOVA- F_{ST} -Werte der 14 mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum*. Hauptkoordinate 1 gegen Hauptkoordinate 2 (A) bzw. Hauptkoordinate 3 (B). Diese drei Achsen erklären 40,24% und 27,17% bzw. 19,91% der Gesamtvariation im Datensatz. Abkürzungen und weitere Details zu den Populationen finden sich in Tabelle 2.

Ein weiter differenziertes Bild der genetischen Struktur der 14 mitteleuropäischen *M. athamanticum*-Populationen zeigen die Ergebnisse der modellbasierten Clusteranalyse. Die Likelihood der Daten steigt wie erwartet mit zunehmender Zahl angenommener Populationen bzw. Cluster (K) an und erreicht ab $K = 8$ ihr Werteplateau (Abb. 24). Mit Erhöhung von K werden die Cluster also in

sukzessive kleinere geografische Einheiten unterteilt. Ab dem Modell mit $K = 6$ separieren sich analog zum NJ-Baum die genetisch isolierten Populationen (RHO, HAR, OBS) in eigenen Clustern. Da das Ziel der modellbasierten Clusteranalyse die biologisch sinnvoll interpretierbare Strukturierung des Datensatzes in geografisch-genetische Gruppen ist, wurde jenes Modell als Grundlage für gruppenbezogenen Folgeanalysen gewählt, dass bei der höchsten Likelihood (Wert für $\Pr(X | K)$) die einzelne Population noch populationsübergreifenden Gruppen zuordnet („capture of the major structure in the data“: Pritchard et al. 2000, vgl. Abb. 25).

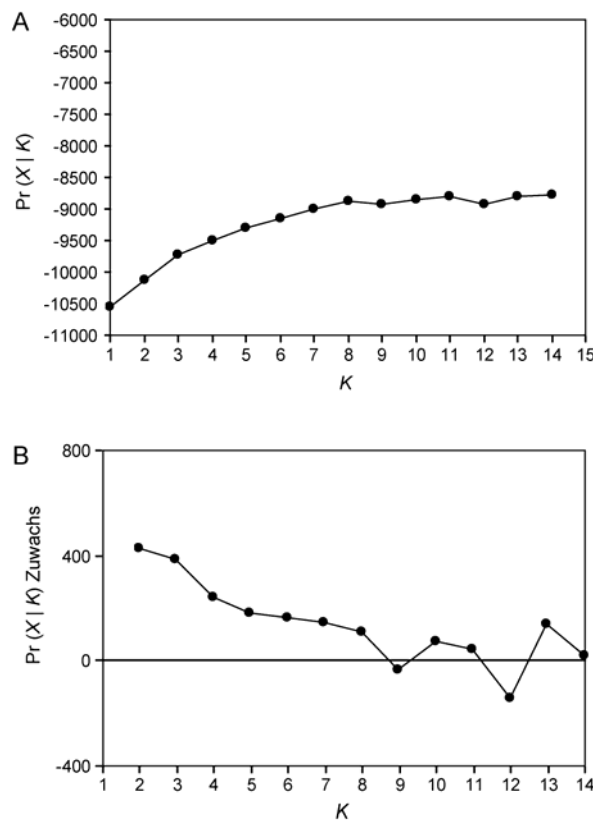


Abb. 24: Ergebnisse der modellbasierten Clusteranalyse. Likelihood der Daten für K -Cluster (A) und Zuwachs der Likelihood für $K+1$ (B).

Die Ergebnisse im Modell mit $K = 5$ (Abb. 25) liegen generell in Übereinstimmung zur vorhergehenden NJ-Analyse. Allerdings werden die in der NJ-Analyse isoliert stehenden Populationen aus der Rhön (RHO), dem Harz (HAR) und aus Oberschwaben (OBS) in der modellbasierten Clusteranalyse zu geografisch-

genetischen Gruppen zugeordnet. Außerdem besteht ein Konflikt in der Zuordnung der Population aus dem Thüringer Wald (THU), die anhand ihrer Allelfrequenzen allerdings als Übergangsgruppe charakterisiert ist.

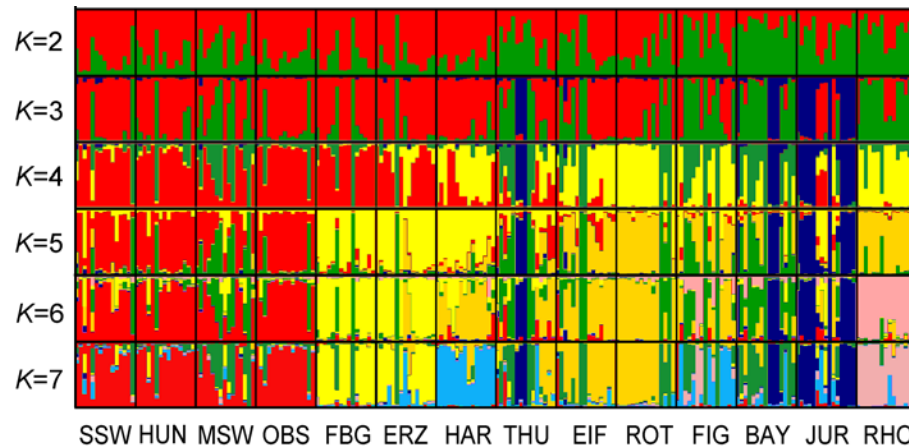


Abb. 25: Ergebnisse der modellbasierten Clusteranalyse für $K = 2-7$. Individuen und Zuteilungsfrequenzen einzelner Individuen zu den Clustern sind durch vertikale Säulen repräsentiert. Die Abbildungen für jedes K basieren auf dem jeweils höchsten gemessenen Likelihood-Wert. Abkürzungen und weitere Details zu den Populationen siehe Tabelle 2.

Insgesamt bilden die Populationen aus der Eifel (EIF), dem Rothaargebirge (ROT), dem Fichtelgebirge und der Rhön (RHO) eine Gruppe. Ein weiteres Cluster bilden die Populationen vom Nordostrand des Areals von *M. athamanticum*: Harz (HAR), Ost-Erzgebirge (ERZ) und West-Erzgebirge (FBG). Die beiden Populationen aus dem Schwarzwald (MSW, SSW), dem Hunsrück (HUN) und aus Oberschwaben (OBS) fallen in einer weiteren Gruppe zusammen. Und schließlich bilden die Populationen aus dem Thüringer Wald (THU) und dem bayerischen Alpenvorland (BAY) eine Gruppe, die durch ihre Allelfrequenzen als Übergangsgruppe charakterisiert sind. Bezüglich der Gruppierung der *Meum*-Population aus dem Thüringer Wald besteht ein Konflikt zwischen NJ- und der modellbasierten Clusteranalyse. Die separierte Stellung der auch geografisch isoliert stehenden Population aus dem Schweizer Jura (JUR) wird durch die modellbasierten Clusteranalyse weiter gestützt. Sie ist durch eigene Allele gekennzeichnet, die in nennenswertem Umfang auch in der Übergangsgruppe (THU, BAY) auftreten.

Zusammengefasst ermöglichen die Analysen zur geografisch-genetischen Struktur der mitteleuropäischen *M. athamanticum*-Populationen die Separierung von fünf unterschiedlich stark charakterisierten Gruppen:

(1) NW-Gruppe mit Populationen aus der Eifel (EIF), dem Fichtelgebirge (FIG), dem Rothaargebirge (ROT) und der Rhön (RHO),

(2) NO-Gruppe mit Populationen aus dem Ost-Erzgebirge (ERZ), dem Zentral-Erzgebirge (FBG) und dem Harz (HAR),

(3) SW-Gruppe mit Populationen aus dem südlichen Schwarzwald (SSW), dem mittlerem Schwarzwald (MSW), dem Hunsrück (HUN) und aus Oberschwaben (OBS),

(4) Z(entral)-Gruppe mit Populationen aus dem Thüringer Wald (THU) und dem bayerischen Alpenvorland (BAY),

(5) Schweizer Jura (JUR).

4.2.1.2 Genetische Distanzen, gene flow und sekundärer Kontakt zwischen mitteleuropäischen Populationen

90 der insgesamt 91 paarweisen genetischen Distanzen (F_{ST} -Werte) zwischen den mitteleuropäischen Populationen (vgl. Anhangstab. 2) waren hoch signifikant ($p < 0,0001$). Der höchste F_{ST} -Wert (der zwischen 0 und 1 variiert) wurde mit 0,3125 zwischen den Populationen aus der Rhön (RHO) und Oberschwaben (OBS) ermittelt. Der niedrigste Wert betrug 0,02 zwischen der Population im Thüringer Wald (THU) und der Eifel (EIF).

Auf Basis der paarweisen F_{ST} -Werte wurde der Genfluss $N_e m$ als die Anzahl der Migranten zwischen Populationen pro Generation berechnet (Wright 1931). Die durchschnittliche effektive Migrationsrate zwischen den 14 Populationen betrug 1,86. Den geringsten durchschnittlichen Genfluss zu allen benachbarten Populationen haben die Populationen der Rhön ($N_e m = 0,93$) und aus Oberschwaben ($N_e m = 1,03$), den höchsten durchschnittlichen Austausch zu den übrigen Populationen haben die

Population aus dem Thüringer Wald ($N_e m = 3,6861$) und der Eifel ($N_e m = 2,7714$). Auf Basis der Strukturierung des AFLP-Datensatzes in den Clusteranalysen wurden zudem die Migrationsraten innerhalb und zwischen den geografisch-genetischen Gruppen bestimmt (Tab. 6).

Tab. 6: Effektive Anzahl der Migranten ($N_e m$) zwischen allen 14 mitteleuropäischen *M. athamanticum*-Populationen (Total), zwischen Populationen innerhalb der geografisch-genetischen Gruppen und zwischen Populationen zwischen den geografisch-genetischen Gruppen. Die Werte sind Durchschnittswerte aller verglichenen Populationen. Für Populationsabkürzungen siehe Tabelle 2.

Gruppierung	Effektive Anzahl der Migranten $N_e m$
Total	1,86
SW-Gruppe (HUN-MSW-OBS-SSW)	2,98
NW-Gruppe (EIF-ROT-RHO-FIG)	1,63
NO-Gruppe (ERZ-FBG-HAR)	2,64
Z-Gruppe (BAY-THU)	4,73
Zwischen SW – NW	1,31
Zwischen SW – NO	1,55
Zwischen SW – Z	2,18
Zwischen NW – NO	1,37
Zwischen NW – Z	4,18
Zwischen NO – Z	1,69

Dabei zeigt sich deutlich, dass die höchsten Migrationsraten zwischen den geografisch-genetischen Populationsgruppen immer unter Beteiligung der zentralen Übergangsguppe (Populationen THU, BAY) gemessen werden und überdies auch innerhalb dieser Gruppe der im Vergleich größte Wert für den Genfluss festgestellt wurde ($N_e m = 4,73$).

Außerdem wurde für die einzelnen Populationen der proportionale Anteil der Genpools in den jeweiligen Populationen bestimmt (Tab. 7).

Tab. 7: Prozentualer Anteil der Genpools in den 14 mitteleuropäischen *M. athamanticum*-Populationen. Für Populationsabkürzungen siehe Tabelle 2.

<i>Population</i>	<i>Cluster 1</i>	<i>Cluster 2</i>	<i>Cluster 3</i>	<i>Cluster 4</i>	<i>Cluster 5</i>
BAY	6,6	2,9	20,4	27,2	42,9
EIF	7,1	17,9	49,7	3,5	21,8
ERZ	78,6	2,0	8,9	1,4	9,1
FBG	73,9	6,8	2,7	0,9	15,7
FIG	12,3	5,6	47,3	1,4	33,4
HAR	74,4	5,0	12,4	2,2	6,0
HUN	6,8	79,6	2,5	1,4	9,6
JUR	16,7	5,4	5,6	66,1	6,3
MSW	10,7	46,5	3,2	1,6	38,0
OBS	5,2	80,7	1,3	0,8	12,0
RHO	1,8	1,7	85,7	0,7	10,0
ROT	9,0	1,7	70,7	1,2	17,3
SSW	12,5	67,7	6,2	2,6	11,0
THU	17,4	20,3	11,3	20,5	30,5

Auf Grundlage der genetisch definierten geografischen Gruppen in Mitteleuropa wurden die Zuordnungen der einzelnen Individuen zu diesen Gruppen vorgenommen und die Ergebnisse populationsbezogen dargestellt (Abb. 26).

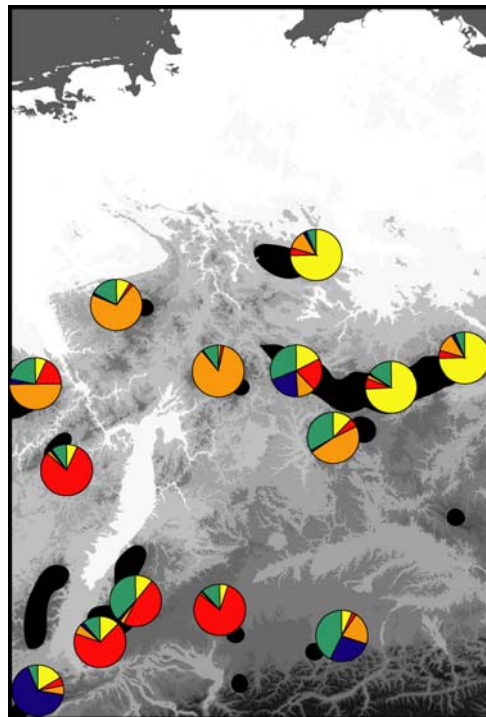


Abb. 26: Anteil von fünf Genpools im mitteleuropäischen Verbreitungsgebiet von *M. athamanticum* in den 14 untersuchten Populationen auf Basis der Strukturierung des mitteleuropäischen Datensatzes in $K = 5$.

Neben den drei Gruppen NW, NO und SW, die über einen hohen Anteil gruppenspezifischer Allelfrequenzen gut definiert sind, ist die Zentral-Gruppe mit den Populationen THU und BAY durch einen hohen Durchmischungsgrad verschiedener Genpools gekennzeichnet (vgl. Tab. 7). Es handelt sich um Populationen, die in einem höheren Maße Austausch mit Individuen aus benachbarten Populationsgruppen hatten. Diese Gruppe trägt die Eigenschaften einer Kontaktzone, wobei die Populationen aus dem Thüringer Wald mit annähernd gleichen Anteilen an allen fünf Genpools (17,4%, 20,3%, 11,3%, 20,5%, 30,5%) am deutlichsten als Kontaktzonenpopulationen auffällt.

Zur Charakterisierung der geografisch-genetischen Gruppen wurde die binäre Fragmentmatrix analysiert. Dabei wurde überprüft, ob Populationen bzw. Gruppen private, seltene oder zerstreut auftretende Fragmente besitzen und ob sich innerhalb der Gruppen Gradienten bezüglich der Anzahl der privaten, seltenen oder zerstreuten Fragmente erkennen lassen (Tab. 8).

Tab. 8: Private, seltene und zerstreute Fragmente in Gruppen und Populationen des mitteleuropäischen Teilareals von *M. athamanticum*. Für Populationsabkürzungen siehe Tabelle 2.

Gruppe	Pop.	private Fragmente		seltene Frag. (- 25%)		zerstreute Frag. (26-50%)		Frag. -50%
		in Pop.	in Gruppen	in Pop.	in Gruppen	in Pop.	in Gruppen	in Pop.
Südwest	SSW	0	3	31	36	28	28	59
	HUN	0		27		28		55
	MSW	1		29		28		57
	OBS	0		15		20		35
Nordost	FBG	0	4	29	34	28	29	57
	ERZ	1		29		29		58
	HAR	0		19		29		48
Nordwest	RHO	0	4	17	31	25	29	42
	EIF	1		24		28		52
	ROT	0		16		25		41
	FIG	0		18		28		46
Jura	JUR	1	1	25	13	28	28	53
Zentral	THU	0	0	29	36	29	29	58
	BAY	0		19		27		46

Die Südwest-Gruppe der mitteleuropäischen *Meum*-Vorkommen (Abb. 27), die von den Populationen aus dem Schwarzwald (SSW, MSW), Hunsrück (HUN) und Oberschwaben (OBS) gebildet wird, trägt drei gruppenspezifische Fragmente. Alle drei Fragmente sind in der Population MSW vertreten, zwei in der Population HUN und eines jeweils in den Populationen SSW und OB. Die Population MSW aus dem mittleren Schwarzwald besitzt zudem ein populationspezifisches Fragment. Von den insgesamt 64 in der Gruppe auftretenden seltenen und zerstreuten Fragmenten trägt die Population aus dem südlichen Schwarzwald (SSW) die höchste Anzahl (59), gefolgt von der Population MSW (57) und der Population aus dem Hunsrück (HUN, 55). Die Population aus Oberschwaben besitzt hingegen nur 35 (54,7%) der seltenen und zerstreuten Fragmente.

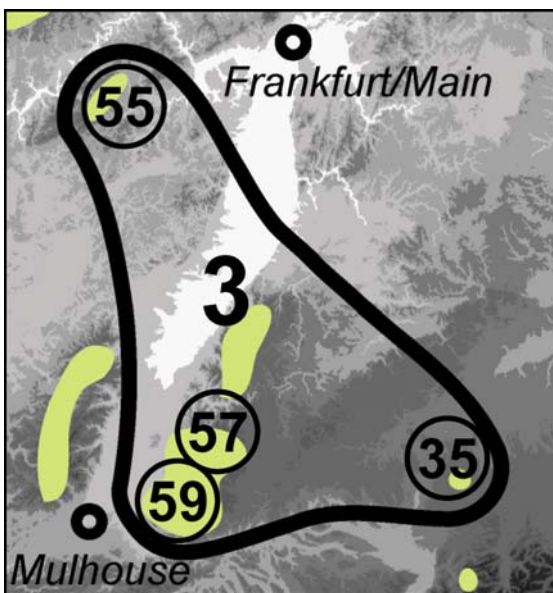


Abb. 27: Anzahl der gruppenspezifischen (privaten) Fragmente (3) und der seltenen und zerstreuten Fragmente (in Kreisen) in Populationen der Südwest-Gruppe des mitteleuropäischen Teilareals von *M. athamanticum*. Grüne Flächen bilden die Verbreitung der Art ab.

Die Nordost-Gruppe der Populationen aus dem Erzgebirge (ERZ, FBG) und dem Harz (HAR) hat vier gruppenspezifische Fragmente (Abb. 28). Alle vier Fragmente sind in der Population ERZ vertreten, zwei in der Population FBG und

eines in der Population HAR. Die Population aus dem Ost-Erzgebirge (ERZ) trägt außerdem ein populationsspezifisches Fragment. Von den insgesamt 63 in der Gruppe auftretenden seltenen und zerstreuten Fragmenten trägt die Population aus dem Ost-Erzgebirge 58 und dem West-Erzgebirge (FBG) 57 Fragmente. Die Population aus dem Harz besitzt hingegen nur 48 (76,2%) der seltenen und zerstreuten Fragmente der Gruppe.

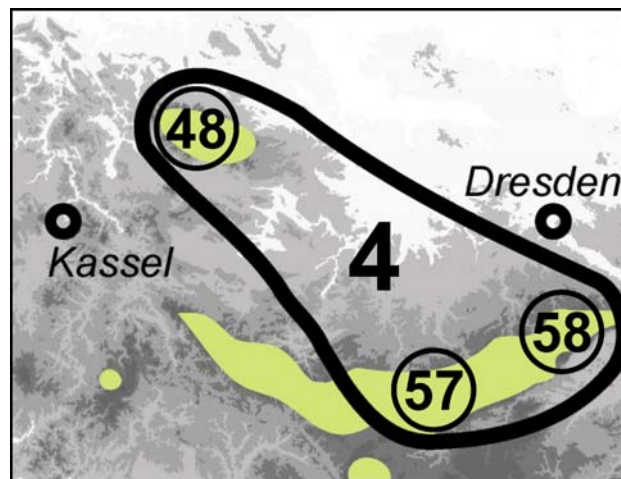


Abb. 28: Anzahl der gruppenspezifischen (privaten) Fragmente (3) und der seltenen und zerstreuten Fragmente (in Kreisen) in Populationen der Nordost-Gruppe des mitteleuropäischen Teilareals von *M. athamanticum*. Grüne Flächen bilden die Verbreitung der Art ab.

Die Nordwest-Gruppe des mitteleuropäischen *Meum*-Areal (Abb. 29) wird von den Populationen aus der Eifel (EIF), dem Rothaargebirge (ROT), der Rhön (RHO) und dem Fichtelgebirge gebildet (FIG). Sie trägt vier gruppenspezifische Fragmente. Zwei dieser Fragmente tauchen in den Populationen EIF, RHO und FIG auf und eines in der Population ROT. Die Population aus der Eifel hat zudem ein populationsspezifisches Fragment. Von den insgesamt 60 in der Gruppe auftretenden seltenen und zerstreuten Fragmenten besitzt die Population EIF die höchste Anzahl (52), gefolgt von der Population FIG (46), der Population RHO (42) und der Population ROT (41).



Abb. 29: Anzahl der gruppenspezifischen (privaten) Fragmente (3) und der seltenen und zerstreuten Fragmente (in Kreisen) in Populationen der Northwest-Gruppe des mitteleuropäischen Teilareals von *M. athamanticum*. Grüne Flächen bilden die Verbreitung der Art ab.

Die Zentral-Gruppe der Populationen aus dem Thüringer Wald (THU) und dem bayerischen Alpenvorland (BAY) besitzt kein gruppen- oder populationspezifisches Fragment (Abb. 30). Von den insgesamt 65 in der Gruppe auftretenden seltenen und zerstreuten Fragmenten trägt die Population THU 58, die Population BAY 46 Fragmente.

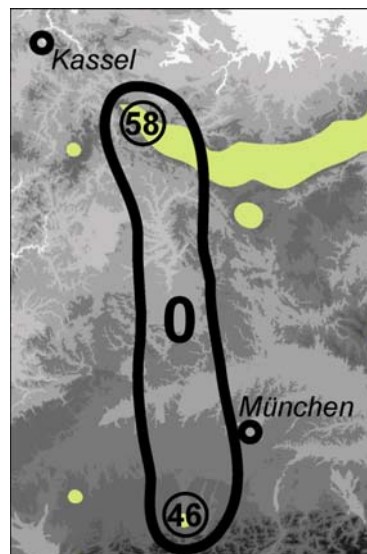


Abb. 30: Anzahl der gruppenspezifischen (privaten) Fragmente (3) und der seltenen und zerstreuten Fragmente (in Kreisen) in Populationen der Zentral-Gruppe des mitteleuropäischen Teilareals von *M. athamanticum*. Grüne Flächen bilden die Verbreitung der Art ab.

Die Population aus dem Schweizer Jura besitzt ein privates Fragment und 53 seltene und zerstreute Fragmente.

Zusammengefasst zeigen die Analysen zum Genfluss, zu den Genpools und der Verteilung der Fragmente deutliche Unterschiede auf dem Niveau der Populationen und Gruppen an. Der höchste Genfluss herrscht zwischen der Population THU und EIF, der niedrigste zwischen OBS und RHO. Die durchschnittlich höchste Austauschrate zu allen anderen Populationen hat die Population THU, die geringsten RHO. Bei einem paarweisen Gruppenvergleich herrschen die höchsten Migrationsraten immer unter Beteiligung der Z-Gruppe (THU, BAY), gruppenintern liegen hier auch die höchsten Austauschraten. Die fünf vorherrschenden sind in unterschiedlichem Maße an Aufbau der einzelnen Populationen beteiligt. Eine große Affinität zu einem Genpool haben die Populationen RHO (85,7%), OBS (80,7%) und ERZ (78,6%). Die Populationen THU und BAY der Z-Gruppe konstituieren sich demgegenüber am stärksten aus unterschiedlichen Genpools. Darüber ist diese Gruppe, im Gegensatz zur NW-, NO-, SW- Gruppe sowie die Population aus dem Schweizer Jura, durch das Fehlen populations- und gruppenspezifische Fragmente gekennzeichnet.

4.2.1.3 Genetische Diversität

Als Maß für die genetische Diversität innerhalb der 14 untersuchten mitteleuropäischen Populationen wurden drei verschiedenen Diversitätsindices berechnet: (1) Shannons diversity index H_{SH} , (2) der Prozentsatz aller polymorphen AFLP-Fragmente innerhalb jeder Population ($\%P_{pop}$) und (3) Nei's gene diversity (h) (Tab. 9).

Tab. 9: Genetische Diversität und Populationsgröße der 14 untersuchten mitteleuropäischen *M. athamanticum* Populationen. Die Standardabweichungen sind in Klammern angegeben. Für Populationsabkürzungen siehe Tabelle 2.

<i>Population</i>	<i>N</i>	<i>Anzahl polymorpher Loci</i>	<i>Percentage of polymorphic loci</i>	<i>Shannon's Index</i>	<i>Nei's gene diversity</i>	<i>Populationsgröße (Individuen, geschätzt)</i>
BAY	15	74	57,81%	0,44298	0,1716	< 100
EIF	15	78	60,94%	0,46124	0,1919	1000
ERZ	15	81	63,28%	0,48700	0,2048	10000
FBG	15	81	63,28%	0,48610	0,2025	10000
FIG	15	68	53,12%	0,42718	0,1633	1000
HAR	15	66	51,56%	0,39774	0,1755	10000
HUN	15	77	60,16%	0,46057	0,1843	1000
JUR	15	77	60,16%	0,44296	0,1863	150
MSW	15	84	65,62%	0,51053	0,1917	10000
OBS	15	54	42,19%	0,31500	0,1360	150
RHO	15	60	46,88%	0,35100	0,1393	< 100
ROT	15	64	50,00%	0,38972	0,1711	250
SSW	15	84	65,62%	0,51405	0,2174	10000
THU	15	83	64,84%	0,50454	0,1991	10000
Mittelwert		73,6	57,53% (7,53%)	0,44219 (0,06064)	0,1810 (0,0234)	

Der Spearman-Rang-Korrelationskoeffizient (r_s) zeigte eine signifikant positive Beziehung zwischen den drei berechneten Diversitätsindices (vgl. Tab. 10).

Tab. 10: Ergebnisse der Rangkorrelationsanalyse (spearman r_s) und deren Signifikanzwerte (p) für die Beziehung zwischen den verschiedenen Diversitätsindices der molekularen Varianz für 14 mitteleuropäische Populationen von *M. athamanticum* (Signifikanzniveau = 0,05).

<i>Vergleich</i>	<i>r_s</i>	<i>p</i>
%P _{pop} vs h	0,934956	0,000001
H _{SH} vs h	0,929671	0,000001
%P _{pop} vs H _{SH}	0,990083	0,000000

Nach dem percentage of polymorphic loci tragen die beprobten Populationen aus dem Thüringer Wald (THU = 68,75), dem südlichen und dem mittleren Schwarzwald (SSW, MSW = 65,62) die höchste genetische Diversität. Die niedrigsten

Werte nach $\%P_{pop}$ finden sich in den Populationen der Rhön (RHO = 46,88) und in Oberschwaben (OBS = 42,19). Ein vergleichbares Bild zeigt sich bei der Berechnung von Nei's Index h (vgl. Abb. 31), der ebenfalls die Populationen im Schwarzwald (SSW = 0,2174) und dem Thüringer Wald (THU = 0,2096) als die genetisch diversesten ausweist und für die Population aus der Rhön (0,1393) und aus Oberschwaben (0,1360) wiederum die niedrigsten Werte ermittelt. Nach Shannons index H_{SH} kommen die genetisch diversesten Populationen aus dem Thüringer Wald (THU = 0,52001) und dem Süd-Schwarzwald (SSW = 0,51405), die genetisch einheitlichsten Populationen aus Oberschwaben (OBS = 0,315) und aus der Rhön (0,351).

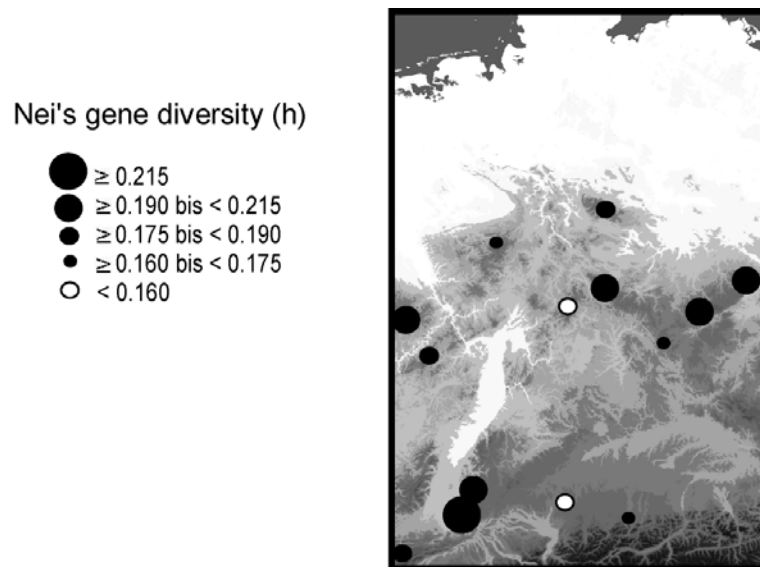


Abb. 31: Nei's gene diversity (h) in den 14 untersuchten mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum*

4.2.1.4 Genetische Differenzierung

Neben den Cluster- und Ordinationsverfahren wurde auch der Mitteleuropa-Datensatz von *M. athamanticum* einer AMOVA unterzogen, um das Ausmaß der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen den Populationen und geografisch-genetischen Gruppen zu untersuchen. Bei Berücksichtigung des kompletten Datensatzes und ohne hierarchische Gliederung der Varianzkomponenten entfällt

15,13% der Variation auf den Vergleich zwischen den Populationen. Die übrigen 84,87% entfallen auf die Varianz innerhalb der Populationen. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Untersuchungsergebnissen zur arealweiten Phylogeografie von *M. athamanticum*, bei denen die NW/Z-Europa-Gruppe als vergleichsweise schwach genetisch differenziert charakterisiert wurde.

Tab. 11: Analysen der molekularen Varianz (AMOVA) der mitteleuropäischen *M. athamanticum* AFLP-Phänotypen. Neben der Differenzierung des kompletten Datensatzes (Total) ist die intraregionale Differenzierung der vier geografisch-genetischen Populationsgruppen dargestellt, deren Separierung auf den Ergebnissen der Clusteranalysen basiert. Angegeben sind Freiheitsgrade (df), Summe der Quadrate (SSD), Varianzkomponenten (CV) und Prozentanteile der Gesamtvarianz (%total). Die Signifikanzwerte (p) für die Varianzkomponenten zwischen den Regionen sind nach 1000 Permutationen berechnet. Abkürzungen der Populationen finden sich in Tabelle 2.

Gruppierung	df	SSD	CV	%total	p
Total					
Zwischen Populationen	13	673,762	2,51474	15,13	< 0,001
Innerhalb der Populationen	196	2764,933	14,10680	84,87	
5 Gruppen					
Zwischen den 5 Gruppen	4	311,617	0,92513	5,52	< 0,001
Zwischen Populationen der 5 Gruppen	9	362,144	1,74210	10,39	< 0,001
Innerhalb der Pop. der 5 Gruppen	196	2764,933	14,10680	84,10	
SW-Gruppe (HUN-SSW-MSW-OBS)					
Zwischen Populationen	3	112,900	1,55333	9,78	< 0,001
Innerhalb der Populationen	56	802,667	14,33333	90,22	
NW-Gruppe (EIF-ROT-RHO-FIG)					
Zwischen Populationen	3	141,817	2,28704	14,99	< 0,001
Innerhalb der Populationen	56	726,133	12,96667	85,01	
NO-Gruppe (ERZ-FBG-HAR)					
Zwischen Populationen	2	81,511	1,74519	10,69	< 0,001
Innerhalb der Populationen	42	612,267	14,57778	89,31	
Z-Gruppe (THU-BAY)					
Zwischen Populationen	1	27,433	0,80921	5,02	< 0,001
Innerhalb der Populationen	28	428,267	15,29524	94,98	

Bei einem Szenario, das gestützt durch die Clusteranalysen eine Unterteilung in 5 geografische Gruppen innerhalb des mitteleuropäischen Teilareals von *Meum* unterstellt, ermittelt die hierarchische AMOVA zwischen den fünf Gruppen 5,52% der gesamten Variation und 10,39% zwischen den Populationen der Gruppen.

Beim Vergleich der separat durchgeführten Gruppenanalysen ohne hierarchische Struktur zeigt sich, dass das Cluster Eifel-Rothaargebirge-Rhön-Fichtelgebirge mit 14,99% Variation zwischen den Populationen am stärksten differenziert ist. Innerhalb der heterogenen Gruppe Bayerische Voralpen- Thüringer Wald beträgt die Variation unter den Populationen dagegen nur 5,02%. Die genetische Differenzierung auf Basis der AMOVA- F_{ST} -Werte war zwischen den Populationen in allen 4 Populationsgruppen hochsignifikant (Tab. 11).

Auf Grundlage der paarweisen F_{ST} -Werte und der geografischen Distanzen der Populationen (Anhangstab. 2 & 4) wurde die isolation-by-distance-Beziehung für den kompletten Datensatz als auch für die geografisch-genetischen Gruppierungen untersucht. Für den kompletten Datensatz mit allen Populationen (Abb. 32) zeigt die lineare Regression keine signifikant positive Beziehung ($y = 0,00007 x + 0,1281$; $r = 0,16887$; $p = 0,1099$).

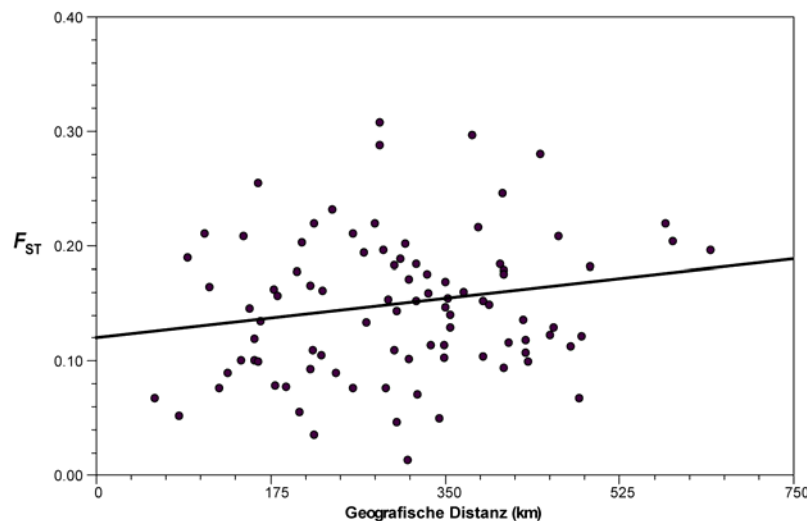


Abb. 32: Plot der F_{ST} -Werte zwischen den 14 untersuchten mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum* gegen ihre geografischen Distanzen. Die Beziehung zeigt keine signifikante Beziehung, ein isolation-by-distance-Muster wird nicht belegt. Das bedeutet, dass zwischen den Populationen ein Genfluss herrscht bzw. In jüngerer Zeit genetischer Austausch stattgefunden hat. ($y = 0,00007 x + 0,1281$; $r = 0,16887$; $p = 0,1099$).

Auch die linearen Regressionen der vier Populationscluster zeigen keine signifikant positive Beziehung (Tab. 12). Somit ist weder im gesamten noch in genetisch definierten Teilen des Datensatzes die genetische Distanz positiv mit der geografischen Distanz korreliert.

Tab. 12: Ergebnisse der linearen Regression zwischen den AMOVA- F_{ST} -Werten und den geografischen Distanzen (Luftlinie) zwischen den 14 mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum* und innerhalb der geografisch-genetischen Gruppen. Neben den Regressionskoeffizienten (R^2) sind Mantel's Korrelationskoeffizient (r) und der p-Wert des Mantel-Test angegeben. Für Populationsabkürzungen siehe Tabelle 2.

Gruppierung	Lineare Regression	R^2	Mantels r	p
Total	0,00007x + 0,1281	0,285	0,16887	0,1099
SW-Gruppe (HUN-SSW-MSW-OBS)	0,0001x + 0,0774	0,06	0,24489	0,4171
NW-Gruppe (EIF-ROT-RHO-FIG)	0,0003x + 0,1191	0,059	0,24217	0,5001
NO-Gruppe (ERZ-FBG-HAR)	0,0004x + 0,0432	0,415	0,64454	0,3392
Z-Gruppe (THU-BAY)	0,0001x – 0,0947	0,461	-0,67905	0,8281

4.2.1.5 Korrelation zwischen genetischer Diversität und Populationsgröße

Die Populationsgrößen der untersuchten 14 mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum* variierten stark. Die individuenchwächste ist die Population im bayerischen Alpenvorland (BAY). Hier konnten nur weniger als 100 Exemplare von *M. athamanticum* gezählt werden. Populationen im Schwarzwald, dem Erzgebirge, im Harz und im Thüringer Wald haben hingegen mehr als 10 000 Individuen (Tab. 9, Abb. 33).

Populationsgröße

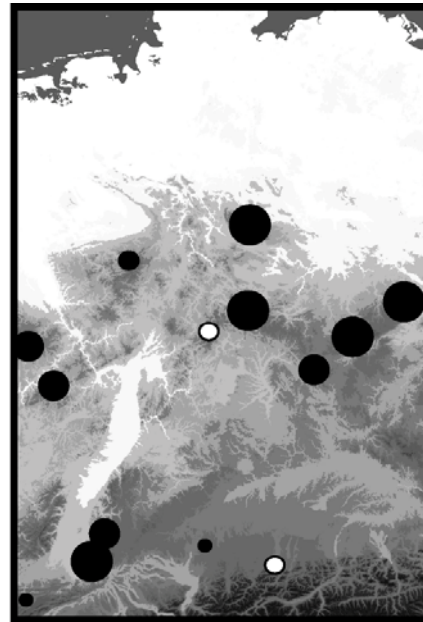
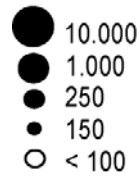


Abb. 33: Populationsgröße (Anzahl der Individuen, geschätzt) der 14 untersuchten mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum*.

Der Spearman-Rang-Korrelationskoeffizient zeigt eine signifikant positive Beziehung zwischen der Populationsgröße und allen drei berechneten Indices der genetischen Diversität (vgl. Tab. 13).

Tab. 13: Ergebnisse der Rangkorrelationsanalyse (spearman r_s) zwischen verschiedenen Diversitätsindices und den Populationsgrößen in 14 mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum* (Signifikanzniveau = 0,05).

Vergleich	r_s	p
%P _{pop} vs. Populationsgröße	0,650643	0,011744
H _{SH} vs. Populationsgröße	0,704340	0,004920
h vs. Populationsgröße	0,747649	0,002110

Die signifikant positive Regression zwischen Populationsgröße und dem Diversitätsindex Nei's gene diversity (h) ist in Abbildung 34 dargestellt. Das bedeutet zumindest für die untersuchten mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum*, je größer eine Population ist, desto größer ist ihre molekulare Varianz.

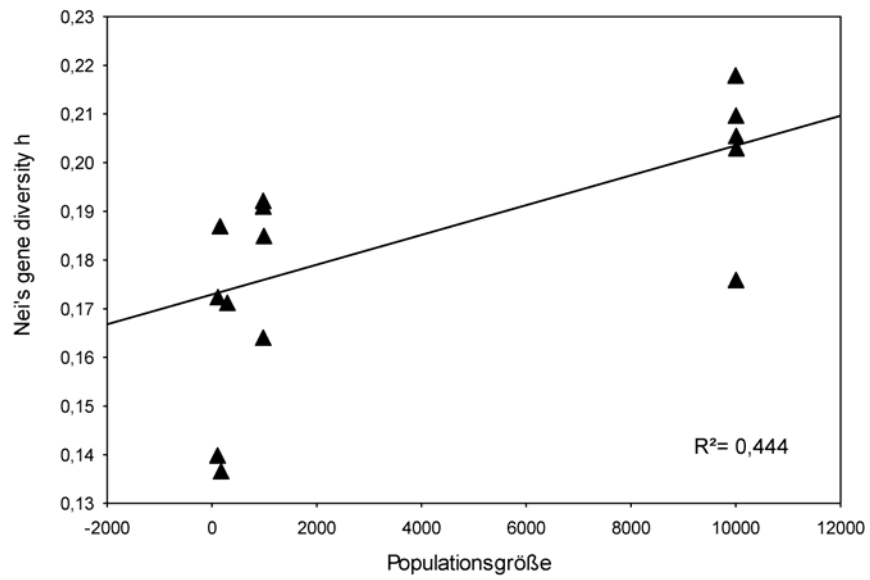


Abb. 34: Lineare Regression der Populationsgröße und der genetischen Diversität (Nei's gene diversity h) zwischen 14 mitteleuropäischen Populationen von *M. athamanticum*. Die Beziehung ist signifikant positiv ($y = 0,000034 x + 0,1684$; $R^2 = 0,444$; $p = 0,0093$).

5 Diskussion

5.1 Nord-Süd-Differenzierung

Die Ergebnisse der individuellen (Abb. 7) als auch der populationsbezogenen NJ-Analyse (Abb. 8), der Hauptkomponenten-Analysen (Abb. 10-12) und der modellbasierten Clusteranalyse (Abb. 14) zeigen, dass der tiefste Einschnitt in der biogeografischen Struktur von *M. athamanticum* eine Nord-Süd-Differenzierung der Populationen ist. Die Nordgruppe bilden Populationen aus dem nordwestlichen und zentraleuropäischen Verbreitungsgebiet der Art. Die Südgruppe umfasst alle Populationen der iberischen Halbinsel, des Apennin, der Ostalpen und des Balkans. Ähnliche Muster einer Nord-Süd-Differenzierung wurden bei phylogeografischen Untersuchungen an den Arten *Trollius europaeus* (Després *et al.* 2002), *Ranunculus glacialis* (Schönswetter *et al.* 2003) und *Carex digitata* (Tyler 2002) aufgedeckt. Die Analysen dokumentieren darüber hinaus eine zwischen diesen beiden, genetisch eigenständigen Linien stehende Übergangsguppe in den SW-Alpen. Die Nord-Süd-Differenzierung steht vermutlich im Zusammenhang mit der maximalen Vereisung der Würmeiszeit, die den Genfluss zwischen den Regionen südlich und nördlich der europäischen Hochgebirgsketten wirksam unterbunden hat.

Dieses großmaßstäbige Muster wird von den ITS/ETS Sequenzdaten allerdings nicht uneingeschränkt unterstützt (vgl. Abb. 19 & 20). Wird die Anzahl an Nukleotidsubstitutionen zwischen Populationen als Hinweis für den Grad der genetischen Separierung gewertet, teilt der ITS/ETS-Datensatz die 24 untersuchten Populationen in eine süd/südost-europäische Gruppe (MA, BU, PO), an die die SW-Alpen-Gruppe angeschlossen ist (CL, LA, TE) auf der einen von dem gesamten übrigen Material auf der anderen Seite. Basierend auf der Annahme, dass die Evolutionsrate der ITS- und ETS-Region langsamer ist als die genetische Differenzierung, die durch die AFLP-fingerprints der gesamten genomischen DNA erfasst wird (Després *et al.* 2002, Kauseurud 2005), wird hier postuliert, dass der ITS/ETS-Datensatz geografisch-genetische Beziehungen einer älteren, vermutlich spätpliozän-frühpleistozänen Zeitepoche widerspiegelt. Somit wird das Signal der starken biogeografischen Strukturierung, verursacht durch den ausgeprägten Wechsel von Kalt- und Warmzeiten des Pleistozäns, vor allem durch die AFLP-fingerprints erfasst. Abgesehen von dem Haplotyp der SW-Alpen reflektieren die ITS/ETS-Sequenzdaten, dass in SE-Europa die Vegetation weniger stark von den

klimatischen Oszillationen des Quartärs beeinflusst war als in SW-Europa und in dem zentral- und nordwesteuropäischen Gebieten nördlich der Gebirgsketten der Pyrenäen und der Alpen. Darüber hinaus signalisieren die Sequenzdaten von *M. athamanticum* deutlich die engen Beziehungen zwischen dem südlichen Apennin und der Balkanhalbinsel. Diese Verbindung über die im Tertiär und Quartär mehrfach existente Landverbindung über die nördliche und mittlere Adria belegen neben paläontologischen Untersuchungen (Rögl 1998, Popov et al. 2004) auch molekulargenetische Studien (Kropf 2002: *Anthyllis montana*, Fineschi et al. 2002: *Quercus pubescens*). Letztendlich muss aufgrund der Tatsache, dass die Haplotypen nicht regional sortiert sind und in den Analysen nur jeweils ein Individuum aus den 24 Populationen sequenziert wurde der gesamte ITS/ETS Datensatz bezüglich der spätquartären Biogeografie von *M. athamanticum* mit Vorsicht interpretiert werden. Daher stützt sich die folgende Diskussion hauptsächlich auf die Analysen der AFLP Phänotypen.

5.2 Differenzierung zwischen Populationen

M. athamanticum besiedelt heute in disjunkten Teilarealen höhere Lagen der süd- und zentraleuropäischen Gebirge und der zentral- und nordwesteuropäischen Mittelgebirge (vgl. Abb. 4). Die Art ist aufgrund ihres Gesamtareals als temperates Florenelement eingestuft, ihre ökologische Konstitution bedingt allerdings eine Restriktion auf kühl-ozeanische Standorte (Bruehlheide & Lieberum 2001). Die starke Isolation der inselhaft verbreiteten Populationen (vgl. Abb. 2) kommt in der Analyse der molekularen Varianz zum Ausdruck (Tab. 5). Hierbei konnten 46,6% der gesamten Variation zwischen den 23 untersuchten Populationen ermittelt werden. Dieses Maß entspricht dem Wert anderer, ebenfalls auf Ebene ihres Gesamtareals untersuchter europäischer Pflanzenarten mit disjunkter Verbreitung in europäischen Gebirgen. So konnten Kropf et al. (2002) für die sumediterran-montane *Anthyllis montana* 42,37% der gesamten Variation und für die hauptsächlich in europäischen Hochgebirgen vorkommende Art *Pritzelago alpina* 45,37% der gesamten Variation zwischen den Populationen ermitteln (Kropf et al. 2003). Dagegen wurde bei einer phylogeografischen Untersuchung europäischer Populationen von *Trollius europaeus* nur 36% der Gesamtvariation zwischen Populationen gemessen (Després et al.

2002), wobei bei dieser Untersuchung weite Bereiche des europäischen Areal nicht berücksichtigt wurden.

5.3 Persistenz im Periglazialgebiet

Im Modell der postglazialen Migration temperater Arten sind die expandierenden Populationen durch eine reduzierte genetische Diversität ausgezeichnet, da sie nur einen Bruchteil der Genotypen der südlichen Refugialgebiete tragen (Nichols & Hewitt 1994, Hewitt 1996, Ibrahim et al. 1996, Demesure et al. 1996, Dumolin-Lapègue et al. 1997, Ferris et al. 1998). Die Berechnungen von drei signifikant miteinander korrelierten Diversitätsindices für die 23 Populationen von *M. athamanticum* zeigen hingegen, dass Populationen mit hoher genetischer Diversität nicht konzentriert im südlichen Arealteil von *M. athamanticum* liegen, sondern über das gesamte Areal verteilt sind (vgl. Tab. 4, Abb. 15). So wurden die höchsten Werte für den Shannon's diversity Index H_{SH} , abgesehen von den SW-Alpen-Populationen, im nördlichen (TH = 0,216, LT = 0,207, CE = 0,207) als auch im südlichen Teilareal (PT = 0,207) ermittelt. Beim Vergleich zwischen den geografisch-genetischen Gruppen NW/Z-Europa, SW-Alpen und S-Europa zeigt die nördliche Evolutionslinie (NW/Z-Europa), die fast durchweg Populationen des mitteleuropäischen Periglazialraums und damit vermeintlich postglazial besiedelter Gebiete repräsentiert, sogar signifikant höhere Werte genetischer Diversität (Mann Whitney *U*-Test, Nei's *h*: $p = 0.045$) als die südeuropäische Gruppe. Das traditionelle biogeografische Modell der postglazialen Rekolonisation nördlicher Breiten durch die temperaten Arten ist deshalb nicht auf *M. athamanticum* übertragbar. Die Untersuchung belegen hingegen, dass *Meum* zumindest das letzte glaziale Maximum im Periglazialgebiet überdauerte. Untersuchungen an anderen Arten bestätigen die genetische Verarmung der Phalanxpopulationen. So ermittelten Després et al. (2002) für *Trollius europaeus* als auch Schönswetter et al. (2003) für *Ranunculus glacialis* bei ihren AFLP-Untersuchungen die niedrigsten absoluten und durchschnittlichen Diversitätswerte in Populationen im skandinavischen Teilareal der Arten, die höchsten hingegen in den Alpen und den Pyrenäen.

Einen weiteren Hinweis auf eine Persistenz von *Meum* im Periglazialgebiet nördlich und nordwestlich der Alpen, zumindest während dem letzten glazialen

Maximum, ergibt die Analyse der Verteilung privater Fragmente (Tab. 4, Abb. 16). Generell ist davon auszugehen, dass Populationen mit unabhängiger Evolution in Verbindung mit hohem Alter und geografischer Isolation durch eigene molekulare Marker (private Fragmente) charakterisiert sind (Comes & Kadereit 1998, Stehlik et al. 2001, Tribsch et al. 2002). Bei *Meum* sind Populationen mit einer hohen Anzahl an privaten Fragmenten aber nicht auf den Südtteil des Areal beschränkt (SI, $F_{pr} = 5$; SL, $F_{pr} = 6$; PO, $F_{pr} = 5$; BU, $F_{pr} = 6$), sondern besiedeln auch das Gebiet von NW/Z-Europa (CE, $F_{pr} = 7$; KE, $F_{pr} = 4$; EI, $F_{pr} = 4$).

Zwei weitere Beobachtungen können als Hinweis für die periglaziale Existenz nördlicher Populationen angeführt werden: (1) Bei der Annahme einer nordgerichteten postglazialen Migration wäre zu erwarten, dass sich die kältetolerante Art *Meum* (vgl. Bruelheide & Lieberum 2001) in Mitteleuropa wesentlich weiter nach Norden ausgebreitet hätte, wo sie abgesehen von den Britischen Inseln heute aber nicht vorkommt. Außerdem fehlt *Meum* weiten Teilen der Alpen, wo sie bei einer expansiven Reaktion wesentlich größere Gebiete besiedelt haben müsste. Hier ist sie aber nur in den Westalpen und einigen Bereichen der Ostalpen weiter verbreitet (vgl. Abb. 4). (2) Die im periglazialen Mitteleuropa vorherrschenden Permafrostböden waren durch eine hohe, von Temperaturwechseln und Verlagerungsprozessen geprägte Dynamik gekennzeichnet (Walter & Straka 1970). Dass *M. athamanticum* mit diesen Standortbedingungen durchaus zurechtkommt, zeigen die aktuellen Vorkommen der Art auf ebenfalls hochdynamischen, von Frostwechseln beeinflussten Standorten auf Schutthalden in den spanischen Kordilleren, in stark bewegtem Grobschutt in bachbegleitenden Staudenfluren in Zentralspanien oder auf Rohböden an Steilhängen in den Pyrenäen, den Alpen und den nordspanischen Kordilleren (pers. Beob.).

Im Gegensatz zu den bisher untersuchten Arten, die massive Arealveränderungen aufgrund der klimabedingten Wiederbesiedelung des periglazialen Mitteleuropas belegen (Hewitt 1996, Comes & Kadereit 1998, Taberlet et al. 1998, Hewitt 2000), weisen die Ergebnisse bei *M. athamanticum* auf ein wesentlich statischeres Bild hin. Das Verhalten der Art zeigt deutliche Parallelen zur submediterran-montanen *Anthyllis montana*, die ebenfalls vergleichsweise statisch auf die quartären Klimaschwankungen reagiert hat (Kropf et al. 2002). *Meum* hat vermutlich regional differenziert und kleinräumig auf die pleistozänen Klimawechsel

reagiert. Bei den Teilarealen handelt es sich daher insgesamt um einen Komplex evolutionärer Einheiten unterschiedlicher raum-zeitlicher Entstehung.

5.4 Nördliche Durchmischung vs. südliche Isolation

Ein weiteres interessantes Ergebnis zeigen die Untersuchungen zur regionalen genetischen Variabilität bezogen auf die geografischen Gruppen der Cluster- und Ordinationsanalysen (Tab. 5). Die genetische Differenzierung zwischen Populationen ist in S-Europa sehr hoch (47,06%). Im Vergleich dazu ist die Differenzierung zwischen den Populationen in NW/Z-Europa niedriger (36,4%). Auch der intraregionale Vergleich auf Basis der geografischen Substrukturierung des Datensatzes weist die nördliche Gruppe (7,9% Variation zwischen zwei Untergruppen) als wesentlich weniger differenziert als die südwest- und südosteuropäische Gruppe (13,6% bzw. 16,6% Variation zwischen zwei Untergruppen) aus.

Auch das isolation-by-distance-Muster zeigt deutliche Unterschiede zwischen den Populationsgruppen aus NW/Z-Europa und S-Europa. Die lineare Regression der südlichen Gruppe zeigt eine signifikant positive Beziehung. Hingegen ist innerhalb der nördlichen Evolutionslinie die genetische Distanz nicht positiv mit der geografischen Distanz korreliert (vgl. Abb. 18). Das zeigt, dass zwischen den Populationen der nördlichen Gruppe in vergleichbar jüngerer Zeit ein genetischer Austausch (geneflow) stattgefunden hat, hingegen in S-Europa andauernde Isolation der Populationen zur genetischen Drift und einer divergenten Evolution führte.

Die Entwicklung nördlich und nordwestlich der Alpen hat also insgesamt einen anderen Verlauf genommen als in den Regionen südlich der Alpen. Die geringere Variation im Norden ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass es dort in den Kaltphasen zu longitudinalen und latitudinalen Migrationen aus den Mittelgebirgen in die Beckenlagen kam, was einen genetischen Austausch benachbarter Populationen ermöglichte (Hewitt 1996, Hewitt 2000). Vor dem Hintergrund, dass die Kaltzeiten im späten Pleistozän bis zu 100000 Jahre andauerten (Bennett 1997, Rutherford & D'Hondt 2000), stand für die nördlichen Populationen von *M. athamanticum* genügend Zeit zu einer periglazialen Durchmischung zur Verfügung, die sich postglazial durch sekundären Kontakt in den Hochlagen der Mittelgebirge fortsetzte.

Hingegen sind die südlichen Populationen von altitudinalen Wanderungsbewegungen gekennzeichnet, der genetische Austausch zwischen benachbarten Populationen war somit geringer (Hewitt 1996, Hewitt 2000, Gutierrez Larena et al. 2002). Während also südliche Populationen von *M. athamanticum* auf die Warmphasen und dem downshift nutzbarer Lebensräume mit einem kleinräumigen Ausweichen innerhalb der Gebirgszüge reagierten, bildeten sich in den intramontanen, collinen Beckenlagen zwischen den orografisch weniger differenzierten zentraleuropäischen Mittelgebirge vermutlich größere zusammenhängende Periglazialpopulationen vgl. Abb. 35).

Zentral-Europa

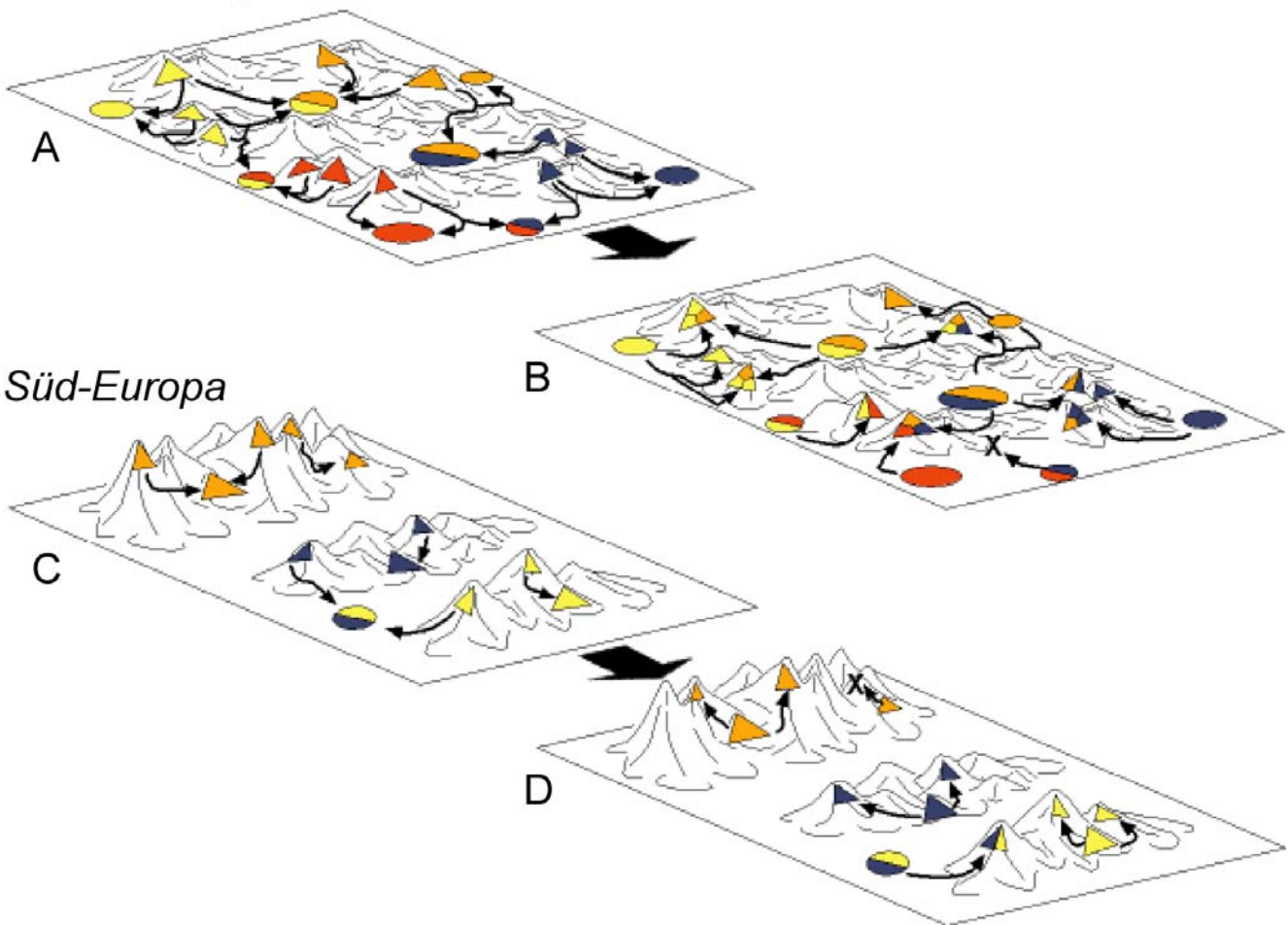


Abb. 35: Modell der Diversifikation von *M. athamanticum* im zentralen (A, B) und südlichen Europa (C, D) während des Spätquartärs, Kreise: Beckenpopulationen, Dreiecke: Gebirgspopulationen. (A) Klimawandel führt zu Arealausweitung im Zuge longi- und latitudinaler Migration. Initiale, montane Populationen (Dreiecke orange, blau, gelb, rot) besetzten Habitate in den Becken- und Tallagen zwischen Mittelgebirgen und bilden dort größere, durchmischte Genpools in intramontanen Populationen (Kreise). In vielen Fällen

kommt es dabei zu einem primären Kontakt zwischen verschiedenen Mittelgebirgspopulationen (Kreise gelb/orange, blau/orange, gelb/rot). (B) Erneuter Klimawandel führt zu Arealkontraktion. Die größtenteils durchmischten Populationen weichen in Mittelgebirge zurück oder erlöschen, falls kein Ausweichpotenzial vorhanden ist (X). Über die vermischten Beckenlagenpopulationen erreichen Genotypen neue Gebirgszüge (Dreiecke gelb/rot, orange/blau). Sekundäre Kontaktzonen entstehen im Bereich von Populationen bzw. Mittelgebirgen, in denen sich Genotypen unterschiedlicher Herkunft mischen (Dreiecke gelb/orange/blau, rot/orange/blau). Primärer und sekundärer Kontakt wirken der genetischen Verarmung entgegen und nivellieren die genetische Differenzierung zwischen den Mittelgebirgen.

(C) Klimawandel führt zu geringfügiger Arealausweitung im Zuge der altitudinalen Arealabsenkung. Initiale, alpin-subalpine Populationen (Dreiecke orange, blau, gelb) besetzten Habitate in mittleren und tieferen Lagen der Gebirgszüge und bilden dort größere, zum Teil durchmischte gebirgsinterne Genpools in Populationen (große Dreiecke) innerhalb der jeweiligen Gebirgszüge. In seltenen Fällen kommt es zu einem primären Kontakt zwischen verschiedenen Gebirgspopulationen in höher gelegenen Beckenlagen (Kreis blau/gelb). (D) Erneuter Klimawandel führt zu Arealkontraktion. Die gebirgsinternen Populationen weichen innerhalb der Gebirgszüge zurück, manifestieren die genetische Differenzierung zwischen den Gebirgszügen oder erlöschen, falls kein Ausweichpotenzial vorhanden ist (X). Migration und die Isolation auf kleine Habitatinseln der Gebirgshochlagen führt zur genetischen Verarmung durch Bottlenecks. Über die vermischten Beckenlagenpopulationen erreichen Genotypen neue Gebirgszüge (Dreieck blau/gelb) und reduzieren teilweise die genetische Differenzierung zwischen den Gebirgszügen.

5.5 Nördliche Durchmischung

Die Vermutung, dass *M. athamanticum* zumindest in dem letzten Glazial in Mitteleuropa weiträumige Populationen gebildet hat, stützt die Tatsache, dass *M. athamanticum* heute mit einer ausgesprochenen Konsequenz die zentraleuropäischen Mittelgebirge zwischen dem französischen Zentralmassiv und den Westkarpaten besiedelt. Sie fehlt nur wenigen Mittelgebirgsbereichen (vgl. Abb. 2 & 6).

Die Ergebnisse des zweiten AFLP-Datensatzes für 14 mitteleuropäische *Meum*-Populationen, welcher genauere populationsgenetische Daten lieferte, bestätigt die Untersuchungen der arealweiten Phylogeografie in Bezug auf das

nördliche Teilareal. AMOVA-Analysen (15,13% der Variation zwischen den Populationen; Tab. 11) und das Fehlen einer isolation-by-distance-Beziehung (Abb. 32) zeigen, dass es sich bei den mitteleuropäischen Populationen um eine relativ homogene Gruppe handelt. Individuelle NJ und PCO-Analysen (Abb. 21) zeigen keine geografisch-genetische Struktur. Mit modellbasierten (Abb. 25) und populationsbezogenen Clusteranalysen (Abb. 22) lässt sich allerdings eine geografische Struktur in diesem Gebiet aufdecken. Demnach bilden die 14 untersuchten mitteleuropäischen Populationen von *Meum* insgesamt fünf geografisch-genetische Gruppen.

Die Analyse der geografischen Verteilung der Allelfrequenzen weist dabei eine putative Kontaktzone zwischen dem Erzgebirge-Harz-Cluster (NO-Gruppe), dem Eifel-Rothaargebirge-Rhön-Fichtelgebirge-Cluster (NW-Gruppe) und dem Schwarzwald-Hunsrück-Oberschwaben-Cluster (SW-Gruppe) aus (Abb. 26). Zu dieser Kontaktzone (Z-Gruppe) sind die Populationen aus dem Thüringer Wald (THU) und dem bayerischen Alpenvorland (BAY) zu rechnen. Im Gegensatz zu den drei vorgenannten Gruppen (NW-, NO-, SW-Gruppe), die sich durch das Auftreten gruppen- und populationspezifischer privater Fragmente (vgl. Abb. 27 – 29, Tab. 8) als Refugialgebiete charakterisieren lassen, besitzt die Z-Gruppe weder populations- noch gruppenspezifische Fragmente (Abb. 30). Vor allem die Population aus dem Thüringer Wald ist in der STRUCTURE-Analyse am deutlichsten als Mischpopulationen gekennzeichnet und besitzt annähernd gleiche Anteile an den fünf detektierten Genpools in Mitteleuropa (Tab. 7). Zwischen dieser und allen übrigen Gruppen wurden zudem die höchsten effektiven Migrationsraten ermittelt (Tab. 6). Die hohe genetische Diversität in dieser Population (Nei's gene diversity h : 0,1991; Durchschnitt aller 14 Populationen: 0,181) ist das Ergebnis einer Anreicherung von Loci durch den postglazialen Kontakt.

Auch für andere Arten wurden sekundäre Kontaktzonen in Mitteleuropa auf Basis phylogeografischer Untersuchungen beschrieben, vor allem aber für Arten, die sich nachweislich aus verschiedenen südost- und südwesteuropäischen Refugien wieder vollständig in dieses Gebiet ausbreiteten (Taberlet et al. 1998, Hewitt 1999).

5.6 Südliche Isolation

Die geografische Isolation der südeuropäischen Populationen von *Meum*, die sich deutlich in ihren genetischen Eigenschaften widerspiegelt, ist vor allem das Resultat klimabedingter Fragmentierung. Neben den Ergebnissen der AMOVA wird die stärkere Isolation und Differenzierung zwischen südlichen *Meum*-Populationen auch in anderen AFLP-Analysen deutlich. In den NJ-Analysen haben Individuen bzw. Populationen aus S-Europa längere interne Äste (vgl. Abb. 7-9) und das modellbasierte Clusterverfahren errechnet höhere Wahrscheinlichkeiten für eine Differenzierung innerhalb der Südgruppe (vgl. Abb. 13 & 14). Zudem sind südliche Populationen durch einen vergleichsweise höheren Anteil privater Marker sowie fixierte private Marker gekennzeichnet (vgl. Tab. 4). Überdies belegen die ITS/ETS-Sequenzdaten durch die teilweise Präsenz sehr isolierter Haplotypen in den Populationen BU, MA, PO, SI (vgl. Abb. 19 & 20) die starke Differenzierung von *M. athamanticum* in S-Europa. Dabei reflektieren vor allem Populationen des südlichen Arealrandes (BU, SI, SL) eine Kette von Isolationsereignissen, die vermutlich bis in das Tertiär zurückreichen. So liefern phylogeografische Untersuchungen, die an einer Reihe unterschiedlicher Artengruppen wie Rotiferen (Gomez & Lunt 2004), Käfern (Gomez-Zurita et al. 2000), Eidechsen (Paulo et al. 2002), Salamandern (Alexandrino et al. 2002) und Pflanzen (Gutierrez Larena et al. 2002) in Spanien durchgeführt wurden, Hinweise für das Überdauern pleistozäner Linien in verschiedenen iberischen Gebirgszügen.

Auffälligerweise verhält sich *M. athamanticum* bezüglich ihrer Habitatwahl in S-Europa auch wesentlich plastischer als im nördlichen Verbreitungsgebiet. Im Süden besiedelt sie, wie bereits erwähnt, eine breite Palette an Offenland-Lebensräumen, die aufgrund der hohen Temperaturen und der Aridität allerdings räumlich stark beschränkt sind (Deffontaine et al. 2005). Die ökologischen Rahmenbedingungen sind für die Verbreitungsrestriktion und somit auch die starke genetische Differenzierung im südlichen Europa also mitverantwortlich.

5.7 Refugien nördlich der Alpen

Der Kern der NW/Z-europäischen Gruppe, der bis auf die beiden schottischen Populationen und eine Population aus den Westalpen geschlossen im

mitteleuropäischen Periglazialgebiet liegt, ist der zentraleuropäische Mittelgebirgsraum. Er zieht sich vom französischen Zentralmassiv über triassische und hercynische Gebirgszüge in der Schweiz, Deutschland, Österreich und Tschechien bis zu den Sudeten in der Slowakei. Abgesehen von einigen lokalen Gletscherbildungen war dieses Gebiet während dem letzten glazialen Maximum eisfrei (Lang 1994). Pedologische Klimazeugen wie Eiskeile, Kryoturbation, Strukturböden und Pingos weisen darauf hin, dass im gesamten Periglazialgebiet Permafrostbedingungen herrschten. Die Temperaturen lagen durchschnittlich 12 – 16 °C tiefer als heute (Washburn 1979). Im zentralen, eisfreien Teil der Britischen Inseln wird eine bis zu 10 °C niedrigere Temperatur angenommen (Williams 1975).

Im Rahmen der „refugial debate“ wird seit einigen Jahren kontrovers diskutiert, inwiefern der mitteleuropäische Periglazialraum als Refugialgebiet für temperate Pflanzen- und Tierarten fungieren konnte (Willis & Whittaker 2000, Tzedakis et al. 2002, Stewart 2003, Tzedakis et al. 2003). Die Vielzahl phylogeografischer Untersuchungen, speziell an Tierarten, lässt keinen Zweifel daran, dass im periglazialen Mitteleuropa mikroklimatisch begünstigte Standorte existierten, an denen temperate Arten pleistozäne Kaltphasen überdauern konnten (z.B. Kotlik & Berrebi 2002, Hänfling et al. 2002, Trewick et al. 2002, Pfenninger et al. 2003, Nieberding et al. 2005). Molekulargenetische Untersuchungen, die eine solche Möglichkeit für temperate, krautige Pflanzen in Betracht ziehen, sind allerdings bisher nicht durchgeführt worden.

Bereits am Anfang des letzten Jahrhunderts gab es einige Arbeiten, die die Rolle und Lage glazialer Refugien im periglazialen Mitteleuropa mit Hilfe arealgeografischer Analysen aufzuhellen versuchten. Auf der Basis arealgeografischer und pflanzensoziologischer Analysen vermutet Bresinsky (1965), dass die periglaziale Dryas-Kältsteppe (Frenzel et al. 1992, Lang 1994) im nördlichen Alpenvorland von vereinzelt Kolonien temperat-präalpiner Arten wie *Astrantia major*, *Carex ornithopoda* oder *Pleurospermum austriacum* durchsetzt war. Bei *Aposeris foetida* wurden disjunkte Vorkommen im periglazialen Alpenvorland in Verbindung mit einer fehlenden Ausbreitungsfähigkeit und der offensichtlichen Unfähigkeit, angrenzende und potenziell geeignete Standorte zu besiedeln, als glaziale Refugien gedeutet. Ein anderes Beispiel ist der Alpenschwemmling *Laserpitium siler*. Er fehlt oberhalb seines heutigen Vorkommens in den voralpinen

Lechauen und ihren Zuflüssen. Andererseits ist die Art trotz geeigneter Standorte kein Bestandteil der benachbarten Isarauen, tritt hingegen bei Eintritt der Isar in den Alpenraum plötzlich verbreitet auf. Bresinsky (1965) bevorzugt als Erklärung für dieses Arealbild auch hier ein vermutlich glaziales Refugium in den voralpinen Lechauen, möglicherweise auch im Bereich der nördlich anschließenden Jura-Kalkstufe.

Die Vermutung, dass auch *M. athamanticum* zumindest die letzte Eiszeit in mehreren unabhängigen periglazialen Refugien überstanden hat, legen die individuellen und populationsbezogenen Diversitäts- und Varianzanalysen nahe. Das deutlichste Signal liefern dabei die Werte der Population im französischen Zentralmassiv (CE). Sie ist genetisch diverser als jede untersuchte südeuropäische Population ($\%P_{pop} = 27,06$; $H_{SH} = 0,2068$; $h = 0,0829$) und trägt zudem die zweithöchste Anzahl privater Fragmente ($F_{pr} = 7$; vgl. Tab. 4). Da weder die Clusteranalysen noch die AMOVA- F_{ST} -Werte Hinweise für eine Verbindung mit, und die postglaziale Einwanderung aus den Pyrenäen oder den Südwest-Alpen liefern, aber enge Beziehungen zu den Vogesen (VO), zur Westalpenpopulation (LT) und zu Schottland (SC) anzeigen (vgl. Abb. 7 & 12), wird hier ein Refugium im Umfeld des französischen Zentralmassivs postuliert. Den Populationen der Vogesen (VO) und der Westalpen (LT) fehlen private Fragmente, was auf ein vergleichsweise junges Alter schließen lässt. Sie sind vermutlich postglaziale Kolonisierer.

Ein weiteres Refugium lag vermutlich im Bereich der Eifel (EI), deren untersuchte Population im AFLP-Datensatz zur arealweiten Phylogeografie durch eine hohe Anzahl privater Fragmente gekennzeichnet ist ($F_{pr} = 4$, vgl. Tab. 4). Die detaillierte Untersuchung der 14 mitteleuropäischen Populationen unterstützt diese These. Die modellbasierte Clusteranalyse weist eine geografisch-genetische Gruppe aus, die aus den Populationen der Eifel (EIF), dem Rothaargebirge (ROT), der Rhön (RHO) und dem Fichtelgebirge gebildet wird (Abb. 24). Bei der Berechnung von Nei's diversity index h zeigt die Population der Eifel (EIF) mit 0,1919 einen überdurchschnittlichen Grad genetischer Diversität (Durchschnitt aller 14 mitteleuropäischen Populationen: Nei's $h = 0,1818$; vgl. Tab. 9). Darüber hinaus trägt sie ein privates Fragment (vgl. Tab. 8). Innerhalb dieser Gruppe besteht ein deutlicher Gradient der genetischen Diversität, ausgedrückt in den Diversitätsindices (Tab. 9) und der Verteilung privater, seltener und zerstreuter Fragmente (Tab. 8, Abb. 29).

Demnach sind die Populationen in tendenzieller West-Ost-Richtung genetisch verarmt. Vor dem Hintergrund, dass *Meum* im letzten Glazial in tiefere Bereiche als heute, vermutlich die intramontanen Beckenlagen, gedrängt wurde, könnten die periglazialen Rückzugsgebiete der nordwestlichen mitteleuropäischen Gruppe im Bereich der Jülicher Börde, der Ville und der Kölner Bucht gelegen haben.

Das Auftreten privater Fragmente ($F_{pr} = 2$; vgl. Tab. 4) in der Population des Erzgebirges (EG) und die überdurchschnittlich hohe genetische Diversität in beiden AFLP-Datensätzen (EG (vgl. Tab. 4); ERZ, FBG (vgl. Tab. 9)) geben zudem Hinweise darauf, dass rund um den Gebirgsbogen des Erzgebirges ein Refugialzentrum von *M. athamanticum* gelegen hat. Im mitteleuropäischen Datensatz ist eine klare genetische Verarmung in Richtung der Population aus dem Harz (HAR) festzustellen (Abb. 28). Das glaziale Refugium dieser Gruppe liegt daher tendenziell im Vorland des östlichen Erzgebirges.

In der mitteleuropäischen Studie wurden auch Populationen aus dem Schwarzwald (SSW, MSW), dem Hunsrück (HUN) und Oberschwaben (OBS) untersucht, die auf Basis der populationsbezogenen und der modellbasierten Clusteranalyse eine Gruppe bilden. Die Population aus dem Südschwarzwald (SSW) weist mit die höchsten Werte genetischer Diversität im mitteleuropäischen Teilareal der Art auf (Nei's $h = 0,2174$; vgl. Tab. 9), zudem trägt die Population aus dem mittleren Schwarzwald ein privates Fragment, was insgesamt auf die Existenz eines periglazialen Refugiums im Bereich des Schwarzwaldes hindeutet. Die Diversitätsindices und die Verteilung der Fragmente belegen eine graduelle genetische Verarmung von den beiden Schwarzwald-Populationen in Richtung der Populationen im Hunsrück und in Oberschwaben (Abb. 27), die vermutlich auf Flaschenhalseffekte im Zuge der postglazialen Wiederbesiedlung zurückzuführen ist.

Für die Population aus dem Thüringer Wald konnten auf Basis beider Datensätze eine hohe genetische Diversität festgestellt werden. Die Analyse des mitteleuropäischen Datensatzes zeigt allerdings, dass es sich bei der Population zusammen mit dem Vorkommen in dem bayerischen Alpenvorland (BAY) um eine sekundären Kontaktgruppe handelt. Hier fehlen populations- als auch gruppenspezifische Fragmente (Tab. 8, Abb. 30), die hohe genetische Diversität ist vermutlich das Resultat der starken Durchmischung der verschiedenen mitteleuropäischen Genpools (vgl. Abb 26).

Für temperate krautige Pflanzen fehlen vergleichbar stark auflösende Untersuchungen zu periglazialen mitteleuropäischen Refugien. Lediglich Schmitt & Seitz (2001) geben konkrete Hinweise darauf und vermuten, dass die heute in vielen mitteleuropäischen Mittelgebirgen beheimatete Lepidoptere *Erebia medusa* das letzte glaziale Maximum partiell zwischen den Westalpen und dem französischen Zentralmassiv überdauerte.

Die isolierten Areale von *M. athamanticum* in den schottischen Highlands und den nordenglischen Cheviot Hills waren während der Würm-Eiszeit, wie der Grossteil der nördlichen Britischen Inseln, von Eis bedeckt (Bowen et al. 2002). Die beiden untersuchten *Meum*-Populationen aus Schottland sind in einem Fall mit einer überdurchschnittlich hohen Anzahl privater Fragmente ausgestattet, im anderen Fall durch eine überdurchschnittliche hohe Diversität gekennzeichnet (Tab. 4). Die Eigenschaften dieser beiden Populationen legen in Verbindung mit dem statischen Verhalten der Art gegenüber den klimatischen Oszillationen die Vermutung nahe, dass auf oder im Umfeld der Britischen Inseln ein glaziales Refugium bestand. Diese Ergebnisse kollidieren mit der traditionellen Annahme, dass sich die temperate Flora und Fauna der Britischen Inseln aus Rekolonisierern aus dem südlichen Europa konstituiert (Hewitt 1996, 2000). So wurde das Auftreten von *Pinus sylvestris* in Schottland lange Zeit als ein Beispiel für Fernausbreitung angesehen (Birks 1989). Neuere Untersuchungen postulieren hingegen ein separates, irisches Refugium von *Pinus sylvestris* (Sinclair et al. 1999). Und auch andere Untersuchungen unterstützen die Vermutung, dass es im Bereich von Südengland bzw. der damals existenten Landverbindung zum europäischen Kontinent kryptische Refugien temperater Arten gab (Stewart & Lister 2001, Hänfling et al. 2002, Tzedakis 2003, Nieberding et al. 2005).

5.8 Südeuropäische Refugien

Im spanischen Teil der südeuropäischen Gruppe leben heute geografisch und genetisch stark isolierte, reliktsche Populationen von *M. athamanticum*. Das bestätigt die These der Besiedelung der iberischen Halbinsel durch temperate Arten während der quartären Klimadepressionen (Hewitt 1996, Taberlet et al. 1998). Es liegen aber keine Hinweise dafür vor, dass sich die spanischen Populationen an einer

postglazialen Besiedelung Mitteleuropas beteiligt haben, wobei vermutlich weniger die Barrierewirkung der Pyrenäen als das insgesamt statische Verhalten der Art als Ursache zu sehen ist. Die plausibelste Interpretation scheint zu sein, dass die beprobten Populationen der Sierra Nevada und der Sierra Pena Labra sehr alte, womöglich tertiäre Relikte repräsentieren (Leute 1969, Leute 1970, Weinert 1970, Meusel et al. 1978), die als isolierte Populationen die Abfolge pleistozäner Klimawechsel in den Höhenlagen oder Randbereichen spanischer Gebirgszüge überdauert haben, wobei Diversifikationsereignisse primär im kaltzeitgeprägten Gebirgsumfeld stattfand (Kadereit et al. 2004). Und zumindest die beprobte Population der zentralen Pyrenäen (PI), die sich durch mittelmäßige Persönlichkeit, aber große Diversität auszeichnet (vgl. Tab. 4, Abb. 15 & 16), scheint sich ebenfalls direkt aus Reliktpopulationen des letzten glazialen Maximums zu konstituieren. Die andauernde Isolation der Populationen verschiedener spanischer Gebirgsmassive ist vermutlich der Grund für (1) den vergleichsweise hohen Anteil der Variation zwischen den Populationen der Gruppe, (2) die immer noch deutliche Variation zwischen den beiden Populationen der Sierra Nevada und der Sierra Pena Labra und den Pyrenäen-Populationen, (3) die hohe Anzahl privater Fragmente in Populationen der Sierra Nevada und der Sierra Pena Labra und (4) die zusätzliche Fixierung zweier privater Fragmente in der nordspanischen Population aus der Sierra Pena Labra. Inzwischen gibt es eine Reihe von Studien, die multiple Refugialräume auf der iberischen Halbinsel beschreiben (z.B. Gomez et al. 2000, Queney et al. 2001, Rendell & Ennos 2002, Alexandrino et al. 2002) und die Untersuchung an dem Amphib *Salamandra salamandra* detektiert mit dem Massiv der Sierra Nevada und den kantabrischen Kordilleren die selben glazialen Refugien (Steinfartz et al. 2000, Garcia-Paris et al. 2003), wie sie für *M. athamanticum* anzunehmen sind. Die Eigenständigkeit der *M. athamanticum* Bestände der Sierra Nevada und der Sierra Pena Labra wurde auch von Taxonomen registriert. Sie stuften die Vorkommen der Pena Labra als Unterart ssp. *labranum* und die Populationen der Sierra Nevada als Unterart ssp. *nevadense*, teilweise sogar als eigene Art *M. nevadense* ein (Leute 1969, Leute 1970, Weinert 1970, Meusel et al. 1978). Allerdings ist die Anerkennung der beiden Unterarten umstritten (Tutin 1968, Villar 2003) und Exemplare vom Typus der ssp. *nevadense* kommen auch in anderen Hochlagen S-Europas vor (Villar 2003, pers. Beob.).

Innerhalb der südeuropäischen Gruppe scheinen Populationen aus Italien auf der einen und den Ostalpen und dem Balkan auf der anderen Seite zwei weitere distinkte Refugien für *M. athamanticum* darzustellen. Die alte Verwandtschaft zwischen den Populationen im südlichsten Apennin und dem Balkan belegen die Ergebnisse der ersten Sequenzanalysen (vgl. Abb. 19 & 20). In der jüngeren und älteren Erdgeschichte gab es über die heutige Adria hinweg mehrfach direkte Austauschmöglichkeiten zwischen den beiden Halbinseln (Rögl 1998, Popov et al. 2004). Im Süden des Balkans und der Apenninen existieren heute ebenso wie in Spanien Populationen, die als alt und isoliert eingestuft werden können. Neben den Populationen der spanischen Sierra Pena Labra (SL) und der Sierra Nevada (SI) fällt besonders die Population der bulgarischen Stara Planina (BU) durch ihre allopatrische Differenzierung und genetische Verarmung auf (vgl. Tab. 4, Abb. 15 & 16). Die starke biogeografische Differenzierung dieser „rear edge“-Populationen (Hampe & Petit 2005) von *M. athamanticum* und die damit verbundenen genetischen und ökologischen Eigenschaften decken sich mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen. Sie zeigen, dass rear edge-Populationen in Regionen auftreten, die geeignete Bedingungen für das Überdauern von Populationen unter warm- als auch kaltzeitlichen Bedingungen bieten (Tzedakis 2002). Diese Regionen sind durch eine heterogene Topografie geprägt, die den Populationen das Erreichen zusagender Habitate durch vergleichsweise geringe altitudinale Migrationen ermöglichen. So sind diese Populationen heute auffälligerweise Weise auf besondere Habitatinseln innerhalb ansonsten zur Besiedelung ungeeigneter Landschaften beschränkt (Hampe & Petit 2005). Ihre lange anhaltende Isolation und ihr erfolgreiches Überleben trotz teilweise geringer Populationsgrößen deuten darauf hin, dass demografische Prozesse nicht zum Aussterben kleiner Populationen von *Meum* führen müssen. Vermutlich ist ihre genetische Plastizität, die sich in einer hohen regionalen Diversität aufgrund einer starken Differenzierung widerspiegelt (Comps et al. 2001, Castric & Bernatchez 2003, Martin & McKay 2004), ein Grund für ihr erfolgreiches Überdauern.

Das Gesamtbild der südlichen Gruppe korrespondiert mit einer Vielzahl palynologischer und phylogeografischer Untersuchungen, in denen die iberische Halbinsel, der Apennin und der Balkan als bedeutende Refugialräume der pleistozänen Kaltphasen identifiziert wurden (Huntley & Birks 1983, Bennett et al. 1991, Berglund et al. 1996, Hewitt 1996, Taberlet et al. 1998). Der physiogeografischen und klimatischen Komplexität dieser Gebiete kommt dabei eine

entscheidende Bedeutung zu. Sie ermöglichte Arten einerseits, durch bereits kleinräumige Arealverschiebungen wieder nutzbare Lebensräume zu erreichen. Andererseits begünstigte die Heterogenität und Fragmentierung nutzbarer Lebensräume die intraspezifische Differenzierung der Refugialpopulationen.

5.9 Die SW-Alpen

Die Populationen der SW-Alpen nehmen in allen Cluster- und PCO-Analysen eine Übergangsposition ein (Abb. 7-10). Aufgrund der Untersuchungsergebnisse wird hier postuliert, dass die Südwestalpen eine sekundäre Kontaktzone von *M. athamanticum* repräsentieren. Vor allem der sehr hohe Grad genetischer Diversität in zwei Populationen aus diesem Gebiet (Nei's h : TE = 0,1039, CL = 0,0967; Shannon's H_{SH} : TE = 0,222, CL = 0,217) und die geringe Zahl privater Allele werden als Unterstützung für diese Hypothese angebracht (Tab. 4). Die hohe genetische Diversität ist demzufolge das Ergebnis der Durchmischung räumlich getrennter und genetisch differenzierter Linien, was auch die geringe Anzahl privater Fragmente erklären würde.

Der Übergangscharakter der SW-Alpen kommt weiterhin dadurch zum Ausdruck, dass hier der einzige durchgehend von *M. athamanticum* besiedelte Alpenbereich liegt (vgl. Abb. 2), obwohl im gesamten übrigen Alpengebiet durchweg Lebensräume existieren, die von der Art besiedelt werden könnten. Als Grund für das zerstückelte und inselhafte Alpenareal der Art wird ihre kalkscheu angeführt (Hegi 1965, Oberdorfer 1994). Dass diese Argumentation unzutreffend ist, zeigen die Vorkommen der Art im Bereich der östlichen Kalkalpen, im Schweizer Jura oder auf Altmoränenschottern des Alpenvorlandes.

Während des letzten glazialen Maximums war das heutige SW-Alpen-Areal von *M. athamanticum* komplett vereist (Penck & Brückner 1909, Denton & Hughes 1981, Velichko & Isavea 1992). An keiner anderen Stelle reichte der alpine Eisschild so nah an das Mittelmeer wie am Südabfall der Westalpen. Dieses Gebiet stellte für viele Organismen also eine wirksame Ausbreitungsbarriere dar. Mit der postglazialen Klimaverbesserung und der damit einhergehenden Wiederbesiedelung vermischten sich in diesem Alpenabschnitt Genotypen, die zuvor wirksam getrennt waren und bildeten eine Kontaktzone. Dieses Phänomen ist vor allem durch Untersuchungen an

Tierarten gut studiert (z.B. Barton & Hewitt 1981, Flanagan et al. 1999; Deschamps-Cottin 2000, Garnier et al. 2004). Diese Kontaktzone wurde auch im Rahmen der ersten, das Gesamtareal umfassenden phylogeografischen Untersuchung an der submediterran verbreiteten und montanen Art *Anthyllis montana* (Kropf et al. 2002) nachgewiesen. Während die südwestalpinische suture zone bei *Anthyllis montana* eine West-Ost-Separierung der genetischen Linien belegt, ist sie bei *M. athamanticum* allerdings der Kristallisationspunkt der Nord-Süd-Differenzierung. Der Hypothese, dass die SW-Alpen eine Kontaktzone von *M. athamanticum* darstellen, widerspricht allerdings die Beobachtung eines vergleichsweise stark separierten ITS/ETS-Haplotypen (Abb. 19 & 20).

Die Betrachtung der Proportion und der Verteilung der genetischen Diversität (vgl. Tab. 4) zeigt, dass die TE-Population den vergleichsweise älteren Genotyp der SW-Alpen repräsentiert. Die beiden weiter westlich gelegenen Populationen, vom Osthang (CL) und Westhang (LA) des Col Larche, tragen deutlich weniger private Fragmente, wobei die Population am Westhang zudem genetisch deutlich verarmt ist. Diese Befunde zusammengenommen könnten einen Hinweis darauf geben, dass das glaziale Refugium am Ostabfall der Nord-Süd ausgerichteten SW-Alpen lag.

Zwei weitere arealgeografisch plausibel erscheinende Kontaktzonen konnten zumindest auf Ebene der großräumigen phylogeografischen Untersuchungen nicht bestätigt werden. So zeigen weder die zwei Populationen der Nordostalpen (EB und PR) genetische Beziehungen zu Populationen in nördlich davon gelegenen deutschen Mittelgebirgen (Populationen RH, EG, TH), noch können genetische Ähnlichkeiten zwischen den Populationen der Pyrenäen (PI, PU, PT) und dem französischen Zentralmassiv (CE) registriert werden.

5.10 Folgerungen aus der arealweiten und mitteleuropäischen Untersuchung für den Schutz von *Meum athamanticum*

Meum athamanticum ist in den meisten Ländern ihres Vorkommens durch gesetzliche Regelungen geschützt bzw. in Roten Listen, die die Schutzbedürftigkeit von Tier- und Pflanzenarten dokumentieren, aufgeführt. Über ihre allgemeine Gefährdung besteht somit auf nationalen Ebenen offensichtlich Klarheit. Auf europäischer Ebene sind Vorkommen von *Meum* indirekt durch ihre enge Bindung an

Lebensraumtypen, die in der europäischen Flora-Fauna-Habitat(FFH)-Richtlinie (Richtlinie 92/43/EWG des Rates vom 21. Mai 1992 zur Erhaltung der natürlichen Lebensräume sowie der wildlebenden Tiere und Pflanzen: COUNCIL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES 1992) aufgelistet sind, abgesichert. So wird sie für die Lebensraumtypen „artenreiche Borstgrasrasen, montan und submontan auf dem europäischen Festland (Eu-Nardion)“ und „Berg-Mähwiesen“ als Charakterart aufgeführt (EUROPEAN COMMISSION 1995, Ssymank et al. 1998). Für diese Lebensraumtypen in allen ihren geografischen Ausprägungen gilt, dass für sie Schutzgebiete ausgewiesen werden müssen, die in einem kohärenten europäischen Netzwerk NATURA 2000 allen charakterisierenden Arten dieser Lebensräume ein langfristiges Überleben sichern sollen.

Darüber hinaus fordert die FFH-Richtlinie in Artikel 10, dass für Arten der FFH-Richtlinie Informationen zu ihrer genetischen Situation und dem Genaustausch zwischen Populationen zusammengetragen werden sollen, um die Wirksamkeit von Stütz- und Revitalisierungsmaßnahmen im Zuge von Biotopverbundkonzepten zu verifizieren und zu verbessern. Explizit ist *Meum athamanticum* in den Tier- und Pflanzenarten betreffenden Anhängen II, IV und V der FFH-Richtlinie nicht aufgeführt, als typischer Bestandteil von FFH-Lebensraumtypen liefert sie aber konkrete Anhaltspunkte für Stütz- und Revitalisierungsmaßnahmen.

Aus den hier durchgeführten Untersuchungen zur arealweiten Phylogeografie sowie der Populationsgenetik im mitteleuropäischen Teilareal können für den Schutz von *M. athamanticum* einige Schlussfolgerungen gezogen werden.

Dabei muss als erstes konstatiert werden, dass es sich aufgrund der nachgewiesenen glazialen Persistenz im nordwestlichen und mittleren Europa, der starken Differenzierung in Südeuropa und dem hohen temporalen und genetischen Isolationsgrad einiger südeuropäischer Populationen, bei den Teilvorkommen von *Meum* insgesamt um einen Komplex evolutionärer Einheiten verschiedener raumzeitlicher Entstehung und genetischer Charakteristik handelt.

Die geografisch stark isolierten und kleinen (pers. Mitteilung D. Dimitrov, pers. Beob.) Populationen in Bulgarien, der spanischen Sierra Nevada und der nordspanischen Sierra Pena Labra tragen mit ihrer ausgeprägten Eigenständigkeit, die durch eine hohe Zahl eigener Marker zum Ausdruck kommt (vgl. Tab. 4),

erheblich zur gesamten genetischen Diversität von *M. athamanticum* bei. Allerdings ist es umstritten, ob der Schutz vieler kleiner und isolierter Populationen eine höhere Effizienz hat als die Sicherung großer zusammenhängender Populationen. Millar & Libby (1991) plädieren dafür, dass Populationen aus dem Arealzentrum höhere Priorität genießen und dass das Ausmaß genetischer Diversität innerhalb der Populationen qualitativ wichtiger sei, als deren genetische Eigenständigkeit. Die Berücksichtigung beider Faktoren scheint allerdings aus zwei Gründen notwendig zu sein.

Zum einen herrscht Einigkeit darüber, dass das adaptive Potenzial gegenüber Umweltveränderungen in genetisch diversen Populationen höher ist, als in genetisch einheitlichen Populationen, da durch Kreuzungen unter wenigen genetisch sehr ähnlichen Individuen schlechte Finesseigenschaften verstärkt vererbt werden und Inzucht zur verringerten Reproduktion führt (Charlesworth & Charlesworth 1987, Oostermeijer et al. 1994, Fischer & Matthies 1998, Schmidt & Jensen 2000). Genetische Diversität ist die Voraussetzung, damit sich Arten an wechselnde Umweltbedingungen anpassen, Krankheiten überleben und den negativen Konsequenzen der Inzucht entgehen können. Daher wird der Grad an genetischer Diversität in einer Population als wichtiger direkter Parameter, für die Überlebenschance einer Art an einer Lokalität betrachtet (Fischer 1998). Überregional handelt es sich bei den genetisch diversen Populationen von *Meum* also um schützenswerte Genreservoirs, die einen hohen Anteil am gesamten Genpool ausmachen.

Auf der anderen Seite wurde die Bedeutung der durch ein hohes Maß an Eigenständigkeit (private Fragmente) gekennzeichneten Populationen des hinteren Arealrandes (rear-edge-Populationen) für das langfristige Überleben und die Evolution von Arten bisher unterschätzt (Hampe & Petit 2005). Da Artbildung ein langsamer Prozess ist, ist davon auszugehen, dass überwiegend über lange Zeiträume isolierte Populationen Ausgangspunkte der Speziation sind (Jansson & Dynesius 2002). Die Tatsache, dass stärkere Differenzierungen und ältere genetische Linien, zumindest in den gemäßigten Breiten, meistens im geografischen Gebiet der rear-edge-Populationen auftreten, unterstreicht die Bedeutung dieser Populationen für die Aufrechterhaltung der Biodiversität im Quartär (Martin & McKay 2004, Hampe & Petit 2005). Das ökologische Verhalten und die genetischen Eigenschaften der

rear-edge-Populationen von *Meum* unterscheiden sich stark von den Populationen des restlichen Areals, und einige Schutzmaßnahmen, wie beispielsweise Biotopverbundkonzepte oder populationsstützende Wiederansiedlungen sind sogar kontraproduktiv für den Erhalt der genetischen Eigenschaften dieser Populationen. Da sie zudem geringe Flächenausdehnungen haben und zumeist individuenarm sind (pers. Mitteilung D. Dimitrov, pers. Beob.), ergibt sich für sie im europäischen Maßstab die höchste Schutzpriorität.

Im mitteleuropäischen Maßstab können die montanen und subalpinen Lagen der zentraleuropäischen Mittelgebirge als Biodiversitätszentren bezeichnet werden (vgl. Meusel et al. 1965, Meusel et al. 1978, Meusel et al. 1992, Jalas & Suominen 1972-1994, Jalas et al. 1996, Jalas et al. 1999) und vor dem Hintergrund des starken Verlustes an Arten und ihrer Lebensräume in Mitteleuropa haben sie Refugialcharakter. Die effektive Sicherung dieser Biodiversitätszentren setzt die Kenntnis auch der genetischen Diversität und ihrer Verteilung voraus.

Im mitteleuropäischen Teilareal ist *M. athamanticum* in einigen Gebirgszügen wie dem südlichen Schwarzwald, Thüringer Wald, Erzgebirge oder Harz weit verbreitet und ungefährdet (Sebald et al. 1992, Wolff-Straub et al. 1999, Schulz 1999, Korsch et al. 2002). Anders ist die Situation allerdings für die zwei Populationen aus der Rhön (RHO) und aus Oberschwaben (OBS) einzuschätzen. In der Studie des mitteleuropäischen Teilareals von *M. athamanticum* sind diese beiden Populationen durch die höchsten genetischen Distanzen von allen anderen Populationen getrennt (RHO = 0,7636; OBS = 0,7502; Durchschnitt aller Populationen: 0,5278; vgl. Anhangstab. 2). Beiden Lokalitäten ist gemeinsam, dass sie nur eine geringe Flächenausdehnung haben (< 2 ha, pers. Beob.) und dass beide Standorte offensichtlich keine idealen Bedingungen für die Existenz von *M. athamanticum* bieten. An beiden Lokalitäten sind die Individuen von *Meum* an den Randbereich genutzter Wiesen verdrängt und kommen nur mit wenig vital erscheinenden Einzelexemplaren in der Grünlandfläche vor. Sie sind nicht mehr als kennzeichnende Arten der dort vorherrschenden Grünlandgesellschaften anzusprechen, sondern sind vielmehr mit typischen Saum-, Waldrand- und Brachearten, wie *Ranunculus serpens*, *Trifolium medium*, *Deschampsia flexuosa* oder *Luzula luzuloides* assoziiert (pers. Beob.). Zudem tragen beide Populationen die niedrigsten Werte der genetischen Diversität (Nei's h: RHO = 0,1383; OBS = 0,1360; Durchschnitt aller Populationen =

0,1818; vgl. Tab. 9). Darüber hinaus sind beide Populationen durch eine Reihe geomorphologischer Barrieren von den nächsten *Meum*-Populationen isoliert. So sind die Rhöner Population und die nächstliegenden Populationen im Thüringer Wald durch die Beckenlage des Grabfeldes und das Werratal voneinander getrennt. Die Population in Oberschwaben wird nach Osten von der Population im bayerischen Alpenvorland durch die Iller- und Lechauen, nach Westen von den Populationen im Schwarzwald durch das Linzgau und das Donautal separiert. Die genetisch-geografische Isolation lässt im Zusammenhang mit deutlich reduzierter genetischer Diversität (Tab. 8 & 9) und geringen Populationsgrößen darauf schließen, dass die Differenzierung beider Populationen rezent ist und durch lokale Flaschenhalseffekte verursacht wurde. Beide Populationen repräsentieren, im Gegensatz zu den genetisch verarmten und geografisch isolierten absoluten Außenrändern der Populationen im südlichen Europa (rear edge), innere Außenränder (inner rear edges) geografisch-genetischer Arealkompartimente. Aus naturschutzgenetischen Gesichtspunkten hat im mitteleuropäischen Teilareal von *Meum* die Sicherung und Entwicklung der Populationen in der Rhön und Oberschwaben höchste Priorität.

Prinzipiell ist davon auszugehen, dass genetische Variation und die damit verbundene Anpassungsfähigkeit an Umweltveränderungen mit der Populationsgröße zunimmt, mit dem Grad der Isolation aber abnimmt (Ellstrand & Elam 1993, Menges & Dolan 1998). Die Populationsgröße ist somit ein wichtiger indirekter Parameter für die Überlebenschance einer Art an einer Lokalität (Fischer 1998). In einer Reihe von Studien wurde gezeigt, dass kleine und fragmentierte Populationen eine geringere genetische Diversität aufweisen als große Populationen (Prober & Brown 1994, Godt et al. 1996, Fischer & Matthies 1998, Menges & Dolan 1998, Reisch 2002). Dieser Zusammenhang kann mit den hier ausgewerteten AFLP-Daten zumindest für das mitteleuropäische Teilareal auch für *M. athamanticum* belegt werden (vgl. Abb. 34). Daher sollte neben dem naturschutzgenetischen Fokus auf den insgesamt genetisch diversen Populationen, den südeuropäischen rear-edge-Populationen und den rezent genetisch verarmten Populationen in Mitteleuropa die Sicherung aller individuenarmer Teilvorkommen im Interesse des Artenschutzes von *M. athamanticum* liegen.

5.11 Die Rolle der mitteleuropäischen Mittelgebirge in der spätquartären Vegetationsgeschichte Europas

An dieser Stelle sollen die Ergebnisse der Arbeit noch einmal auf eine zentrale Fragestellung fokussiert werden, nämlich darauf, inwiefern die mitteleuropäischen Mittelgebirge, abgelesen an der historischen Biogeografie von *M. athamanticum*, eine besondere Rolle in der spätquartären Vegetationsgeschichte temperater Arten in Europa eingenommen haben. Dabei soll unter Bezug auf die Ergebnisse und Diskussionen der vorherigen Kapitel ein etwas allgemeineres Bild der potenziellen biogeografischen Entwicklung temperat-montaner Arten in Mitteleuropa gezeichnet werden.

Es ist anzunehmen, dass *M. athamanticum* eine südeuropäische, vermutlich südwesteuropäische Herkunft hat (Meusel et al. 1978). In welchen Zeiträumen und ob wiederholt oder einmalig eine Kolonisierung des mitteleuropäischen Teilareals stattgefunden hat, ist auf Basis des momentan vorliegenden Datenmaterials noch nicht zu klären. Zumindest konnte aber nachgewiesen werden, dass *Meum* während dem letzten glazialen Maximum, der Würmeiszeit, in Mitteleuropa persistent war (vgl. Kap. 5.3). Das bedeutet, dass die Art im davor liegenden Interglazial, der Eem-Warmzeit, bereits in einigen mitteleuropäischen Mittelgebirgen anwesend war. Die starke genetische Homogenität der zentraleuropäischen Populationen (vgl. Kap. 5.5), verglichen mit der Situation der starken Isolation in – und Differenzierung zwischen – südeuropäischen subalpin-alpinen Lagen (vgl. Kap. 5.6), legt die Vermutung eines kaltzeitbedingten Kontaktes von Populationen verschiedener Mittelgebirgsbereiche nahe (vgl. Kap. 5.4, Abb. 35). Das bedeutet, dass im Bereich der Rückzugsgebiete der mitteleuropäischen Tal- und Beckenlagen Habitate existiert haben müssen, die einer temperat-montanen Art ein Überdauern ermöglichten. Die physiogeografische Komplexität im mitteleuropäischen Mittelgebirgsraum und ihren angrenzenden Tal- und Beckenräumen wird bei der Rekonstruktion der periglazialen Vegetationsverhältnisse aber häufig unterschätzt. Auf die landschaftsökologische Heterogenität während der Kaltphasen kann indirekt aus der aktuellen Vegetationsbedeckung in Mitteleuropa geschlossen werden. So beschreibt die potenziell natürliche Vegetation im engeren mitteleuropäischen Mittelgebirgsraum mitsamt ihren Rand- und Übergangsbereichen eine ganze Palette von Vegetationstypen, von den zonalen Buchenwaldgesellschaften über azonale Erlen- und Weidengesellschaften und Blockschuttgesellschaften zu extrazonalen

Schluchtwäldern, Mooren, subalpinen und xerothermen Offenlandgesellschaften (Ellenberg 1996, Bohn & Neuhäusl 2004). Diese reliefbedingte Variabilität ist auch für die Vegetation des periglazialen Mitteleuropas anzunehmen, denn die orogeografische Differenzierung hat sich bereits während des Altpleistozäns manifestiert (Semmel 1996). An die Stelle der aktuellen zonalen, azonalen und extrazonalen Vegetation sind dabei entsprechende Pflanzengesellschaften getreten (vgl. Lang 1994). Inzwischen deuten auch einige molekulare Untersuchungen darauf hin, dass es im mitteleuropäischen Periglazialgebiet mikroklimatisch begünstigte „Landschaftstaschen“ gab, die ein glaziales Überdauern auch temperater Arten begünstigten (z.B. Kotlik & Berrebi 2002, Hänfling et al. 2002, Trewick et al. 2002, Pfenninger et al. 2003, Nieberding et al. 2005, vgl. Kap. 5.7). Aufgrund des klimabedingten downshifts der Vegetationszonen während der Würmvereisung (vgl. Hewitt 1996, Hewitt 2000) spielten aber weniger die Mittelgebirgslagen als vielmehr die zwischen ihnen liegenden intramontanen Becken- und Tallagen die entscheidende Rolle für die „Überwinterung“ von *Meum*. Während die montanen Mittelgebirgslagen von kälte- und trockenheitsadaptierten Arten besiedelt waren, fungierten die intramontanen Übergangsräume unter anderem als Kontaktzonen von persistierenden, kältetoleranten temperaten Arten und waren somit Orte der genetischen Durchmischung vormals getrennter Populationen. Dabei sind die Kaltphasen, im Gegensatz zu den klassischen Modellen der Arealreduktion temperater Arten (Hewitt 1996, Taberlet et al. 1998), zumindest bei einer regionalen Betrachtung von Mitteleuropa Phasen der Arealexpansion gewesen. Die Mittelgebirgslagen spielten hingegen in den interglazialen Warmzeiten eine entscheidende Rolle für das Überleben der kältetoleranten, periglazial persistierenden temperaten Arten. Diese Landschaftsräume bildeten im Zuge der klimabedingten Anhebung der Vegetationszonen den Rückzugsraum aus den tieferen Lagen. Hier kumulierten die kältezeitlich durchmischten Becken- und Tallagen-Populationen und in Kontaktzonen fand ein überregionaler genetischer Transfer zwischen verschiedenen Mittelgebirgen statt. Die wärmezeitliche Restriktion auf höhere Mittelgebirgslagen bedeutet, wiederum bezogen auf Mitteleuropa, dass die Warmzeiten nicht die Phasen einer Arealexpansion sondern einer Arealkontraktion waren.

5.12 Ausblick

Das hier geschilderte Szenario stützt sich auf die genetischen Untersuchungen an *M. athamanticum*. Aufgrund der Verteilung und Menge der untersuchten Proben konnten im Rahmen dieser Arbeit einige Sachverhalte allerdings nicht bzw. nur mit Einschränkung behandelt werden. Dazu zählt zum einen die Rolle der intermediären SW-Alpen-Gruppe. Gerade in diesem postulierten Kontaktbereich der zwei genetischen Hauptlinien von *M. athamanticum* sollte eine regionale Untersuchung der Populationsstrukturierung auf Grundlage einer wesentlich feiner aufgelösten Beprobung inklusive der angrenzenden Regionen (Westalpen, nordwestlicher Apennin, Schweizer Südalpen) durchgeführt werden, um die spannenden Fragen zu klären, ob die Südwestalpen-Populationen: (1) von Osten oder Westen besiedelt wurden, ihre Refugium also am Ost- oder Westhang der Alpen lag, und (2) in welcher Form benachbarte Populationsgruppen aus dem nördlichen bzw. südlichen Teilareal an der Wiederbesiedelung der ehemals vergletscherten Westalpen beteiligt waren, sich die SW-Alpen-Populationen also aus nördlichen oder südlichen Vorfahren konstituiert. Vor dem Hintergrund, dass der Ursprung von *M. athamanticum* höchstwahrscheinlich in tertiären Hochgebirgen des Submediterraneanraums liegt (Meusel et al. 1978), stellt sich zudem die Frage, ob neben den Südwestalpen noch andere Gebiete als Quellen der ursprünglichen mitteleuropäischen Populationen fungiert haben könnten.

Eine weitere offene Frage betrifft die Vorkommen von *M. athamanticum* in Schottland und dem Norden Englands. Die zwei in dieser Arbeit untersuchten schottischen Populationen sind sich nicht in dem Maße genetisch ähnlich, wie es aufgrund ihrer geografischen Lage und Isolation zu erwarten gewesen wäre. Unter Einbezug noch weiterer Populationen der Britischen Inseln sollte hier die Frage nach einer möglichen multiplen Besiedelung durch postglaziale Migration aus einem nahe gelegenen Refugium in Süd-England und/oder long distance dispersal aus anderen mitteleuropäischen Refugien überprüft werden.

Neben diesen auf die spezielle Situation von *M. athamanticum* bezogenen offenen Fragen sollte die Überprüfung der oben diskutierten Hypothesen in Zukunft anhand phylogeografischer Analysen weiterer Arten erfolgen. In das Untersuchungsschema sollten dabei Arten aufgenommen werden, die bei einem vergleichbaren arealgeographischen Hintergrund ähnliche Restriktionen auf

zentraleuropäische Mittelgebirgslagen aufweisen wie *M. athamanticum*, wobei Vertreter verschiedener Vegetationstypen berücksichtigt werden sollten. Für Offenlandgesellschaften bieten sich *Crepis mollis* und *Ajuga pyramidalis* an, die in Mitteleuropa, wie *M. athamanticum*, eng an montane Lagen gebunden sind, darüber hinaus aber noch im ehemals vergletscherten Bereichen in Nordost-Europa auftreten. Die Berücksichtigung von drei Teilarealen, nämlich dem südeuropäischen mit sicher anzunehmenden glazialen Refugien, dem mitteleuropäischen mit möglichen periglazialen Refugien und dem glazial geprägten Nordost-Europa mit sicher auszuschließenden Refugialfunktionen könnte die genetischen Eigenschaften von unterschiedlichen Refugialtypen besser voneinander abgrenzen und persistierende Periglazialpopulationen besser definieren. Außerdem sollten Arten in die Untersuchungen mit einbezogen werden, die zum einen tendenziell weniger, zum anderen tendenziell stärker kältetolerant sind. Dadurch könnten Artengruppen bzw. Arealtypen identifiziert werden, die einen Schwellenwert für die periglaziale Persistenz bilden.

6 Literatur

- Alexandrino J, Arntzen JW, Ferrand N (2002) Nested clade analysis and the genetic evidence for population expansion in the phylogeography of the golden-striped salamander, *Chioglossa lusitanica* (Amphibia: Urodela). *Heredity*, **88**, 66-74.
- Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, **25**, 3389-3402.
- Amsellem L, Noyer JL, Le Bourgois T, Hossaert-McKey M (2000) Comparison of genetic diversity of the invasive weed *Rubus alceifolius* Poir. (Rosaceae) in its native range and in areas of introduction, using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Molecular Ecology*, **9**, 443-455.
- Arafeh RM (2005) Molecular phylogeography of the European coastal plants *Crithmum maritimum* L., *Halimione portulacoides* (L.) Aellen, *Salsola kali* L. and *Calystegia soldanella* (L.) R. Br.. Dissertation Universität Mainz.
- Avise JC (1992) Molecular population structure and biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos*, **63**, 62-76.
- Avise JC (1998) The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology*, **7**, 371-379.
- Avise JC (2000) *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts, USA.
- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review for Ecology and Systematics*, **18**, 489-522.
- Axelrod DI (1952) A theory of angiosperm evolution. *Evolution*, **6**, 29-60.
- Baldwin BG, Markos S (1998) Phylogenetic utility of the external transcribed spacer (ETS) of 18S-26S rDNA: congruence of ETS and ITS trees of Calycadenia (Compositae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **10**, 449-463.
- Baldwin BG, Sanderson MJ, Porter JM, Wojciechowski MF, Campbell CS, Donoghue MJ (1995) The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, **82**, 247-277.
- Barton NH, Hewitt GM (1981) The genetic basis of hybrid inviability between two chromosomal races of the grasshopper *Podisma pedestris*. *Heredity*, **47**, 367-383.
- Baumann M (1946) Myodocarpus und die Phylogenie der Umbelliferen-Frucht. *Berichte der schweizerischen botanischen Gesellschaft*, **56**, 13-112.
- Baumel A, Ainouche ML, Levasseur JE (2001): Molecular investigations in populations of *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poaceae) invading coastal Brittany (France). *Molecular Ecology*, **10**, 1689-1701.
- Belovsky GE (1987) Extinction models and mammalian persistence. In: *Viable Population for Conservation* (ed Soule M), pp. 35-57. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Bennett KD, Tzedakis PC, Willis KJ (1991) Quaternary refugia of north European trees. *Journal of Biogeography*, **18**, 103-115.

- Bennett KD (1997) *Evolution and Ecology: the Pace of Life*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Bentham G (1867) Umbelliferae. In: *Genera plantarum* (eds Bentham G and Hooker JD), pp. 859-931. Reeve, London, UK.
- Berglund BE, Birks HJB, Ralska-Jasiewiczowa M, Wright HE (eds.) (1996) *Palaeoecological Events During the Last 15000 Years: Regional Syntheses of Palaeoecological Studies of Lakes and Mires in Europe*. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, UK.
- Beutler A (1996) Die Großtierfauna Europas und ihr Einfluß auf Vegetation und Landschaft. In: *Natur- und Kulturlandschaft 1: Wo lebten Pflanzen und Tiere in der Naturlandschaft und der frühen Kulturlandschaft Europas?* (eds Gerken B, Meyer C), pp. 51-106. Universität-Gesamthochschule Paderborn, Höxter.
- Bilton DT, Mirol PM, Mascheretti S, et al. (1998) Mediterranean Europe as an area of endemism for small mammals rather than a source for northwards postglacial colonization. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **265**, 1219-1226.
- Birks HJB (1993) Is the hypothesis of survival on glacial nunataks necessary to explain the present-day distributions of Norwegian mountain plants? *Phytocoenologia*, **23**, 399-426.
- Bohn U, Neuhäusl R (2004) *Karte der natürlichen Vegetation Europas*. Landwirtschaftsverlag, Münster.
- Bonn S, Poschod P (1998) Bedeutung dynamischer Prozesse für die Ausbreitung von Pflanzenarten seit dem Postglazial. *Schriften-Reihe für Landschaftspflege und Naturschutz*, **56**, 147-171.
- Booy G, Hendriks RJJ, Smulders MJM, van Groenendal JM, Vosman B (2000) Genetic diversity and the survival of species. *Plant Biology*, **2**, 379-395.
- Bowen DQ, Phillips FM, McCabe AM, Knutz PC, Sykes GA (2002) New data for the Last Glacial Maximum in Great Britain and Ireland. *Quaternary Science Reviews*, **21**, 89-101.
- Bresinsky A (1965) Zur Kenntnis des circumalpinen Florenelements im Vorland nördlich der Alpen. *Berichte der Bayerischen Botanischen Gesellschaft*, **38**, 5-67.
- Bruelheide H, Lieberum K (2001) Experimental tests for determining the causes of the altitudinal distribution of *Meum athamanticum* Jacq. in the Harz Mountains. *Flora*, **196**, 227-241.
- Burkart M, Dierschke H, Hölzel N, Nowak B, Fartmann T (2004) Molinio-Arrhenatheretea (E1) - Futter- und Streuwiesen feucht-nasser Standorte und Klassenübersicht Molinio-Arrhenatheretea. *Synopsis der Pflanzengesellschaften Deutschlands*, **9**, 1-103.
- Cain MLH, Damman A, Muir A (1998) Seed dispersal and the Holocene migration of woodland herbs. *Ecological Monographs*, **68**, 325-347.
- Castelloe J, Templeton AR (1994) Root probabilities for intraspecific gene trees under neutral coalescent theory. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **3**, 102-113.
- Castric V, Bernatchez L (2003) The rise and fall of isolation by distance in the andromous brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchill). *Genetics*, **163**, 983-996.

- Charlesworth D, Charlesworth B (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 237-268.
- Clausing G, Vickers K, Kadereit JW (2001) Historical biogeography in a linearsystem: genetic variation of Sea Rocket (*Cakile maritima*) and Sea Holly (*Eryngium maritimum*) along European coasts. *Molecular Ecology*, **9**, 1823-1833.
- Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**, 1657-1660.
- Cockerham CC (1973) Analysis of gene frequencies. *Genetics*, **74**, 679-700.
- Comes HP, Kadereit JW (1998) The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution. *Trends in Plant Sciences*, **3**, 432-438.
- Comps B, Gömöry D, Letouzey J, Thiébaud B, Petit RJ (2001) Diverging trends between heterozygosity and allelic richness during postglacial colonization in the European beech. *Genetics*, **157**, 389-397.
- COUNCIL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES (1992): Council Directive 92/43/EEC of 21. May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. *Official Journal of the European Communities*, **35**, 7-50.
- Cruzan MB, Templeton AR (2000) Paleoecology and coalescence: Phylogeographic analysis of hypotheses from the fossil record. *Trends in Evolution and Ecology*, **15**, 491-496.
- Davidson DW (1993) The effects of herbivory and granivory on terrestrial plant succession. *Oikos*, **68**, 23-35.
- Dawson AG (1992) *Ice Age Earth; late Quaternary geology and climate*. Routledge, London, UK.
- De Candolle AP (1830) Umbelliferae. In: *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis* (ed de Candolle AP), pp. 55-250. Treuttel and Würtz, Paris, France.
- Deffontaine V, Libois R, Kotlik P, Sommer R, Nieberding C, Paradis E, Searle JB, Michaux JR (2005) Beyond the Mediterranean peninsulas: evidence of central European glacial refugia for a temperate forest mammal species, the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Molecular Ecology*, **14**, 1727-1739.
- De Jong J, (1988) Climatic variability during the past three million years, as indicated by vegetational evolution in northwest Europe and with emphasis on data from The Netherlands. *Philosophical Transactions of the Royal Society London Series B*, **318**, 603-617.
- Demesure B, Comps B, Petit RJ (1996) Chloroplast DNA phylogeography of the common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Europe. *Evolution*, **50**, 2515-2520.
- Denton GH, Hughes TJ (1981) *The last great ice sheets*. Wiley-Interscience.
- Deschamps-Cottin M, Aubert J, Barascud B, Descimon H. (2000) Hybridization and introgression between "full-fledged species". The case of *Parnassius apollo* and *P. phoebus*. *C R Acad Sci III. Mar*, **323**, 327-337.
- Després L, Lorient S, Gaudeul M (2002) Geographic pattern of genetic variation in the European globeflower *Trollius europaeus* L. (Ranunculaceae) inferred from amplified fragment length polymorphism markers. *Molecular Ecology*, **11**, 2337-2347.

- Downie SR, Katz-Downie DS (1996) A molecular phylogeny of Apiaceae subfamily Apioideae: evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *American Journal of Botany*, **83**, 234-251.
- Downie SR, Watson MF, Spalik K, Katz-Downie DS (2000a) Molecular systematics of Old World Apioideae (Apiaceae): relationships among some members of tribe Peucedaneae sensu lato, the placement of several island-endemic species, and resolution within the apioid superclade. *Canadian Journal of Botany*, **78**, 506-528.
- Downie SR, Katz-Downie DS, Watson MF (2000b) A phylogeny of the flowering plant family Apiaceae based on chloroplast DNA rpl16 and rpoC1 intron sequences: towards a suprageneric classification of subfamily Apioideae. *American Journal of Botany*, **87**, 273-292.
- Drude CGO (1898) Umbelliferae. In: *Die natürlichen Pflanzenfamilien* (eds Engler A, Prantl K) pp. 63-250. Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Dumolin-Lapègue S, Demesure B, Fineschi S, Le Corre V, Petit RJ (1997) Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent. *Genetics*, **146**, 1475-1487.
- Ellenberg H (1996) *Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen*. Ulmer, Stuttgart.
- Ellstrand NC, Elam DR (1993) Population genetics consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **24**, 217-242.
- Englbrecht CC, Freyhoff J, Nolte A, Rassmann K, Schliewen U, Tautz D (2000) Phylogeography of the bullhead *Cottus gobio* (Pisces: Teleostei: Cottidae) suggests a pre-Pleistocene origin of the major central European populations. *Molecular Ecology*, **9**, 709-722.
- EUROPEAN COMMISSION (1995) *Interpretation Manual of European Union Habitats. Annex I of Council Directive 92/43/EEC on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. Version 12*. Doc. Habitats 95/2. Brussels, Belgium.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of Molecular Variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial-DNA restriction data. *Genetics*, **131**, 479-491.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, **164**, 1567-1587.
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, **39**, 783-791.
- Ferris C, King RA, Vainola R, Hewitt GM (1998) Chloroplast DNA recognises three refugial sources of European oaks and shows independent eastern and western immigrations to Finland. *Heredity*, **80**, 584-593.
- Fineschi S, Turchini D, Grossoni P, Petit RJ, Vendramin GG (2002) Chloroplast variation of white oaks in Italy. *Forest Ecology and Management*, **156**, 103-114.
- Firbas F (1949) *Spät- und nacheiszeitliche Waldgeschichte von Mitteleuropa nördlich der Alpen*. Fischer, Jena.
- Fischer M (1998) Über die Ursachen der Gefährdung lokaler Pflanzenpopulationen. *Bauhinia*, **12**, 9-21.

- Fischer M, Matthies D (1998) RAPD variation in relation to population size and plant fitness in the rare *Gentianella germanica*. *American Journal of Botany*, **85**, 811-819.
- Flanagan NS, Mason PL, Gosálvez J, Hewitt GM (1999) Chromosomal differentiation through an Alpine hybrid zone in the grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Journal of Evolutionary Biology*, **12**, 577-585.
- Frenzel B, Pécsi M, Velichko AA (1992) *Atlas of Paleoclimates and Paleoenvironments of the Northern Hemisphere, Late Pleistocene - Holocene*. Fischer, Stuttgart.
- Freville H, Justy F, Olivieri I (2001) Comparative allozyme and microsatellite population structure in a narrow endemic plant species, *Centaurea corymbosa* Pourret (Asteraceae). *Molecular Ecology*, **10**, 879-889.
- Gabrielsen T, Bachmann K, Jakobsen KS, Brochmann C (1997) Glacial survival doesn't matter: RAPD phylogeny of Nordic *Saxifraga oppositifolia*. *Molecular Ecology*, **6**, 814-842.
- García-París M, Alcobendas M, Buckley D, Wake DB (2003) Dispersal of viviparity across contact zones in Iberian populations of fire salamanders (*Salamandra*) inferred from discordance of genetic and morphological traits. *Evolution*, **57**, 129-143.
- Garnier S, Alibert P, Audiot P, Prieur B, Rasplus JY (2004) Isolation by distance and sharp discontinuities in gene frequencies: implications for the phylogeography of an alpine insect species, *Carabus solieri*. *Molecular Ecology*, **13**, 1883-1897.
- Gaston KJ (1994) *Rarity. Population and Community Biology Series 13*. Chapman & Hall, New York, USA.
- Gaudeul M, Taberlet P, Till-Bottraud I (2000) Genetic diversity in an endangered alpine plant, *Eryngium alpinum* L. (Apiaceae), inferred from AFLP markers. *Molecular Ecology*, **9**, 1625-1637.
- Geiser R (1992) Auch ohne Homo sapiens wäre Mitteleuropa von Natur aus eine halboffene Weidelandschaft. In: *Wald oder Weidelandschaft - Zur Naturgeschichte Mitteleuropas*. (ed ANL), pp. 22-34. Laufen.
- Giannasi N, Thorpe RS, Malhotra A (2001) The use of amplified fragment length polymorphism in determining species trees at fine taxonomic levels: analysis of a medically important snake *Trimeresurus albolabris*. *Molecular Ecology*, **10**, 419-426.
- Godt MJ, Johnson BR, Hamrick JL (1996) Genetic diversity and population size in four rare Southern Appalachian plant species. *Conservation Biology*, **10**, 796-805.
- Gomez A, Carvalho GR, Lunt DH (2000) Phylogeography and regional endemism of a passively dispersing zooplankton: mitochondrial DNA variation in rotifer resting egg banks. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **267**, 2189-2197.
- Gomez A, Lunt DH (2005) Refugia within refugia: patterns of phylogeographic concordance in the Iberian Peninsula. In *Phylogeography of southern European refugia* (eds Weiss S, Ferrand N). Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- Gomez-Zurita J, Petitpierre E, Juan C (2000) Nested clade analysis, phylogeography and speciation in the *Timarcha goettingensis* complex (Coleoptera, Chrysomelidae). *Molecular Ecology*, **9**, 557-570.

- Gower JC (1966) Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika*, **53**, 325-338.
- Graham J, Squire GR, Marshall B, Harrison RE (1997) Spatially dependent genetic diversity within and between colonies of wild raspberry *Rubus idaeus* detected using RAPD markers. *Molecular Ecology*, **6**, 1001-1008.
- Gugerli F, Sperisen C, Büchler U, Magni F, Geburek T, Jeandroz S, Senn J (2001) Haplotype variation in a mitochondrial tandem repeat of Norway spruce (*Picea abies*) populations suggests a serious founder effect during postglacial recolonization of the western Alps. *Molecular Ecology*, **10**, 1255-1263.
- Gum B, Gross R, Kuehn R (2005) Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of European grayling (*Thymallus thymallus*): evidence for secondary contact zones in central Europe. *Molecular Ecology*, **14**, 1707-1725.
- Gutierrez Larena B, Fuertes Aguilar J, Nieto Feliner G (2002) Glacial-induced altitudinal migrations in *Armeria* (Plumbaginaceae) inferred from patterns of chloroplast DNA haplotype sharing. *Molecular Ecology*, **11**, 1965-1974.
- Haeupler H, Schönfelder P (1988) *Atlas der Farn- und Blütenpflanzen der Bundesrepublik Deutschland*. Ulmer, Stuttgart.
- Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, 95-98.
- Hänfling B, Hellemans B, Volckaert FAM, Carvalho GR (2002) Late glacial history of the cold-adapted freshwater fish *Cottus gobio*, revealed by microsatellites. *Molecular Ecology*, **11**, 1717-1729.
- Hampe A, Petit RJ (2005) Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology Letters*, **8**, 461-467.
- Hampe A, Arroyo J, Jordano P, Petit RJ (2003) Rangewide phylogeography of a bird-dispersed Eurasian shrub: contrasting Mediterranean and temperate glacial refugia. *Molecular Ecology*, **12**, 3415-3426.
- Hantke R (1978) *Eiszeitalter*. Ott, Thun, Switzerland.
- He Q, Viljanen MK, Mertsola J (1994) Effects of thermocyclers and primers on the reproducibility of banding patterns in randomly amplified polymorphic DNA analysis. *Mol. Cell. Probes*, **8**, 155-160.
- Hegi G (1965) *Illustrierte Flora von Mittel-Europa*. Lehmann Verlag, München.
- Heuertz M, Hausman JF, Hardy OJ, Vendramin GG, Frascaria-Lacoste N, Vekemans X (2004) Nuclear microsatellites reveal contrasting patterns of genetic structure between western and southeastern European populations of the common ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Evolution*, **58**, 976-988.
- Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, **58**, 247-276.
- Hewitt GM (1999) Post-glacial recolonization of European Biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, **68**, 87-112.
- Hewitt GM (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**: 907-913.

- Hewitt GM (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of The Royal Society London B*, **359**, 183-195.
- Heywood VH (1971) Systematic survey of Old World Umbelliferae. In: *The biology and chemistry of the Umbelliferae* (ed Heywood VH), pp. 31-42. Academic Press, London, UK.
- Hillis DM, Moritz C, Mable BK (1996) *Molecular systematics, second edition*. Sinauer, Sunderland, MA, USA.
- Huijzer B, Vandenberghe J (1998) Climatic reconstruction of the Weichselian Pleniglacial in northwestern and central Europe. *Journal of Quaternary Science*, **13**, 391-417.
- Huntley B, Birks HJB (1983) *An Atlas of Past and Present Pollen Maps for Europe, 0-13,000 Years Ago*. Cambridge Press, New York, USA.
- Huntley B (1988) Glacial and holocene vegetation history 20 ky to present. Europe. In *Vegetation history* (ed Huntley B, Webb III T) pp. 341-383. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- Hylander N (1971) Prima loca plantarum vascularium Sueciae. Första litteraturuppgift för Sveriges vildväxande kärlväxter jämte uppgifter om första svenska fynd. Förvildade eller i senare tid inkomna växter. *Svensk Botanisk Tidskrift*, **64**, 1-332.
- Ibrahim KM, Nichols RA, Hewitt GM (1996) Spatial patterns of genetic variation generated by different forms of dispersal during range expansion. *Heredity*, **77**, 282-291.
- Jalas J, Suominen J (eds) (1972-1994) *Atlas Florae Europaeae. Distribution of Vascular Plants in Europe*. The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki, Finland.
- Jalas J, Suominen J, Lampinen R (eds) (1996) *Atlas Florae Europaeae. Distribution of Vascular Plants in Europe*. The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki, Finland.
- Jalas J, Suominen J, Lampinen R, Kurtto A (eds) (1999) *Atlas Florae Europaeae. Distribution of Vascular Plants in Europe*. The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki, Finland.
- Jansson R, Dynesius M (2002) The fate of clades in a world of recurrent climatic change: Milankovitch oscillations and evolution. *Annual Review for Ecology and Systematics*, **33**, 741-777.
- Jones, C.J., K.J. Edwards, S. Castaglione et al. (1997) A: Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Mol. Breed*, **3**, 381-390.
- Jordano P, Godoy JA (2000) RAPD variation and population genetic structure in *Prunus mahaleb* (Rosaceae), an animal-dispersed tree. *Molecular Ecology*, **9**, 1293-1305.
- Kadereit JW, Griebeler EM, Comes HP (2004) Quaternary diversification in European alpine plants: pattern and process. *Philosophical Transactions of The Royal Society London B*, **359**, 265-274.
- Katz-Downie DS, Valiejo-Roman CM, Terentjeva EI, Troitsky AV, Pimenov MG, Lee B, Downie SR (1999) Towards a molecular phylogeny of Apiaceae subfamily Apioideae: additional information from nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution*, **216**, 167-195.

- Kaule G, Henle K, Mühlenberg M (1999) Populationsbiologie in der Naturschutzpraxis - eine Einführung. In: *Populationsbiologie in der Naturschutzpraxis* (eds Amler K, Bahl A, Henle K, Kaule G, Poschlod P, Settele J), pp. 11-16. Ulmer, Stuttgart.
- Kauserud H, Stensrud O, Decock C, Shalchian-Tabrizi K, Schumacher T (2005) Multiple gene genealogies and AFLPs suggest cryptic speciation and long-distance dispersal in the basidiomycete *Serpula himantioides* (Boletales). *Molecular Ecology*, **15**, in press.
- Kelch DG, Baldwin BG (2003) Phylogeny and ecological radiation of New World thistles (*Cirsium*, Compositae — Carduaceae) based on ITS and ETS rDNA sequence data. *Molecular Ecology*, **12**, 141-151.
- Korsch H, Westhus W, Zündorf HJ (2002) *Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen Thüringens*. Weissdorn, Jena.
- Kotlik P, Berrebi P (2002) Genetic subdivision and biogeography of the Danubian rheophilic barb *Barbus petenyi* inferred from phylogenetic analysis of mitochondrial DNA variation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **24**, 10-18.
- Kropf M, Kadereit JW, Comes HP (2002) Late Quaternary distributional stasis in the submediterranean mountain plant *Anthyllis montana* L. (Fabaceae) inferred from ITS sequences and amplified fragment length polymorphism markers. *Molecular Ecology*, **11**, 447-463.
- Kropf M, Kadereit JW, Comes HP (2003) Differential cycles of range contraction and expansion in European high mountain plants during Late Quaternary: insights from *Pritzelago alpina* (L.) O. Kuntze (Brassicaceae). *Molecular Ecology*, **12**, 931-949.
- Lang G (1994) *Quartäre Vegetationsgeschichte Mitteleuropas*. Fischer, Jena.
- Legendre P, Legendre L (1998) *Numerical ecology*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Leute GH (1969) Untersuchungen über den Verwandtschaftskreis der Gattung *Ligusticum* L. (Umbelliferae). *Annalen des Naturhistorischen Museums Wien*, **73**, 55-98.
- Leute GH (1970) Untersuchungen über den Verwandtschaftskreis der Gattung *Ligusticum* L. (Umbelliferae). *Annalen des Naturhistorischen Museums Wien*, **74**, 457-519.
- Li WH (1997) *Molecular Evolution*. Sinauer, Sunderland, MA, USA.
- Linder CR, Goertzen LR, Heuvel BV, Francisco-Ortega J, Jansen RK (2000) The complete external transcribed spacer of 18S-26S rDNA: amplification and phylogenetic utility at low taxonomic levels in Asteraceae and closely allied families. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **14**, 285-285.
- MacPherson JM, Eckstein PE, Scoles GJ, Gajadhar AA (1993) Variability of the random amplified polymorphic DNA assay among thermal cyclers, and effects of primer and DNA concentration. *Mol. Cell. Probes*, **7**, 293-299.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, **27**, 209-220.
- Martín C, Gonzalez-Benito ME, Iriando JM (1997) Genetic diversity within and among populations of a threatened species: *Erodium paularense* Fern. Gonz. & Izco. *Molecular Ecology*, **6**, 813-820.

- Martín C, Gonzalez-Benito ME, Iriondo JM (1999) The use of genetic markers in the identification and characterization of three recently discovered populations of a threatened plant species. *Molecular Ecology*, **8**, 31-40.
- Martin PR, McKay JK (2004) Latitudinal variation in genetic divergence of populations and the potential for future speciation. *Evolution*, **58**, 938-945.
- Mathias ME (1965) Distribution patterns of certain Umbelliferae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **52**, 387-398.
- Matzke G (1989) Die Bärwurzweiden (*Meo-Festucetum* Bartsch 1940) der Westeifel. *Tuexenia*, **9**, 303-317.
- Meikle A, Paterson S, Finch RP, Marshall G, Waterhouse A (1999) Genetic characterization of heather (*Calluna vulgaris* (L.) Hull) subject to different management regimes across Great Britain. *Molecular Ecology*, **8**, 2037-2047.
- Menges ES (1991) Seed germination percentage increases with population size in fragmented prairie species. *Conservation Biology*, **5**, 158-164.
- Menges ES, Dolan RW (1998) Demographic viability of *Silene regia* in midwestern prairies and relationships with fire management, genetics, geography, population size, and isolation. *Journal of Ecology*, **86**, 63-78.
- Meusel H, Jäger EJ, Weinert E (1965) *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora*. Fischer, Jena.
- Meusel H, Jäger EJ, Rauschert SW, Weiner E (1978) *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora*. Fischer, Jena.
- Meusel H, Jäger EJ (1992) *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora*. Fischer, Jena.
- Millar CI, Libby WJ (1991) Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species. In: *Genetics and conservation of rare plants* (eds Falk DA, Holsinger KE), pp. 149-170. New York, USA.
- Miller MP (1997) *Tools for Population Genetic Analysis. Version 1.3*. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, USA.
- Moritz C (1994) Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Molecular Ecology*, **3**, 401-411.
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of The National Academy of Sciences USA*, **70**, 3321-3323.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583-590.
- Nei M, Li WH (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of The National Academy of Sciences USA*, **76**, 269-273.
- Nichols RA, Hewitt GM (1994) The genetic consequences of long distance dispersal during colonisation. *Heredity*, **72**, 312-317.
- Nieberding C, Libois R, Morand S, Douady CJ, Michaux JR (2005) Phylogeography of a Nematode (*Heligmosomoides polygyrus*) in the Western Palearctic region: Persistence of Northern cryptic populations during ice ages? *Molecular Ecology*, **14**, 765-779.

- Nordal I (1987) Tabula rasa after all? Botanical evidence for ice-free refugia in Scandinavia reviewed. *Journal of Biogeography*, **14**, 377-388.
- Nordal I, Jonsell B, Marcussen T (2005) *Viola rupestris*: molecular analysis to elucidate postglacial migration in Western Europe. *Journal of Biogeography*, **23**, 1453-1459.
- Oberdorfer E (1994) *Pflanzensoziologische Exkursionsflora*. Ulmer, Stuttgart.
- Oostermeijer JGB, Vantveer R, Dennijs JCM (1994) Population-structure of the rare, long-lived perennial *Gentiana pneumonanthe* in relation to vegetation and management in the Netherlands. *Journal of Applied Ecology*, **31**, 428-438.
- Oostermeijer JGB (2000) Population viability analysis of the rare *Gentiana pneumonanthe*: the importance of genetics, demography and reproductive biology. In: *Genetics, demography and viability of fragmented populations* (Young AG, Clarke GM eds.). pp. 313-334. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Paulo OS, Jordan WC, Bruford MW, Nichols RA (2002) Using nested clade analysis to assess the history of colonisation and the persistence of populations of an Iberian lizard. *Molecular Ecology*, **11**, 809-819.
- Penck A, Brückner E (1909) *Die Alpen im Eiszeitalter*. Tauchnitz, Leipzig.
- Petit RJ, Brewer S, Bordács S *et al.* (2002a) Identification of refugia and post-glacial colonization routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*, **156**, 49-74.
- Petit RJ, Csaikl UM, Bordács S *et al.* (2002b) Chloroplast DNA variation in European white oaks: Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*, **156**, 5-26.
- Pfenninger M, Posada D, Magnin F (2003) Evidence for survival of Pleistocene climatic changes in northern refugia by the land snail *Trochoidea geyeri* (Soos 1926) (Helicellinae, Stylommatophora). *BMC Evolutionary Biology*, **3**, 1-8.
- Philippi G (1992) Meum L. In: *Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs 4* (eds Sebald O, Seybold S, Philippi G), pp. 304-305. Ulmer, Stuttgart.
- Pinceel J, Jordaens K, Pfenninger M, Backeljau T (2005) Rangewide phylogeography of a terrestrial slug in Europe: evidence for Alpine refugia and rapid colonization after the Pleistocene glaciations. *Molecular Ecology*, **14**, 1133-1150.
- Plunkett GM, Downie SR (1999) Major lineages within Apiaceae subfamily Apioideae: a comparison of chloroplast restriction site and DNA sequence data. *American Journal of Botany*, **86**, 1014-1026.
- Popov SV, Rögl F, Rozanov AY, Steininger FF, Shcherba IG, Kovac M (2004) Lithological-Paleogeographic maps of Paratethys - 10 maps Late Eocene to Pliocene. *Courier Forschungsinstitut Senckenberg*, **250**, 1-46.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945-959.
- Prober SM, Brown AHD (1994) Conservation of the grassy white box woodlands: population genetics and fragmentation of *Eucalyptus albens*. *Conservation Biology*, **8**, 1003-1013.

- Queney G, Ferrand N, Weiss S, Mougél F, Monnerot M (2001) Stationary distributions of microsatellite loci between divergent population groups of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Molecular Biology and Evolution*, **18**, 2169-2178.
- Reisch C (2002) *Climatic oscillations and the fragmentation of plant populations - genetic diversity within and among populations of the glacial relict plants Saxifraga paniculata (Saxifragaceae) and Sesleria albicans (Poaceae)*. Dissertationes Botanicae 359, Cramer, Stuttgart.
- Rendell S, Ennos RA (2002) Chloroplast DNA diversity in *Calluna vulgaris* (heather) populations in Europe. *Molecular Ecology*, **11**, 69-78.
- Robinson JP, Harris SA (1999) Amplified fragment length polymorphism and microsatellites: a phylogenetic perspective. In: *Which DNA Marker for Which Purpose? Final Compendium of the Research Project Development, Optimization and Validation of Molecular Tools for Assessment of Biodiversity in Forest Trees*. <http://webdoc.sub.gwdg.de/ebook/y/1999/whichmarker/index.htm>.
- Rögl F (1998) Palaeogeographic Considerations for Mediterranean and Paratethys Seaways (Oligocene to Miocene). *Annalen des Naturhistorischen Museums Wien*, **99**, 279-310.
- Rohlf FJ (2000) *NTSYS-PC: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1*. Exeter Software, Setauket, NY, USA.
- Rosenberg NA, Pritchard JK, Weber JL, Cann HM, Kidd KK, Zhivotovsky LA, Feldman MW (2002) Genetic structure of human populations. *Science*, **298**, 2381-2385.
- Rutherford S, D'Hondt S (2000) Early onset and tropical forcing of 100,000-year Pleistocene glacial cycles. *Nature*, **408**, 72-75.
- Ryder OA (1986) Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, **1**, 9-10.
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**, 406-425.
- Santucci F, Emerson BC, Hewitt GM (1998) Mitochondrial DNA phylogeography of European hedgehogs. *Molecular Ecology*, **7**, 1163-1172.
- Schmidt K, Jensen K (2000) Genetic structure and AFLP variation of remnant populations in the rare plant *Pedicularis palustris* (Scrophulariaceae) and its relation to population size and reproductive components. *American Journal of Botany*, **87**, 678-689.
- Schmitt T, Seitz A (2001) Intraspecific allozymatic differentiation reveals the glacial refugia and the postglacial expansions of European *Erebia medusa* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **74**, 429-458.
- Schönswetter P, Paun O, Tribsch A, Niklfeld H (2003) Out of the Alps: colonization of Northern Europe by East Alpine populations of the Glacier Buttercup *Ranunculus glacialis* L. (Ranunculaceae). *Molecular Ecology*, **12**, 3373-3381.
- Schönswetter P, Stehlik I, Holderegger R, Tribsch A (2005) Molecular evidence for glacial refugia of mountain plants in the European Alps. *Molecular Ecology*, **14**, 3547-3555.
- Schulz A (1890) Beiträge zur Kenntnis der Bestäubungseinrichtung und Geschlechtsverteilung bei den Pflanzen, II. *Bibliotheca Botanica*, **3**, 1-224.

- Schulz D (1999) *Rote Liste Farn- und Samenpflanzen des Freistaates Sachsen*. Sächsisches Landesamt für Umwelt und Geologie, Dresden.
- Sebald O, Seybold S, Philippi G, Wörz A (1998) *Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs Vol. 7 + 8*. Ulmer, Stuttgart.
- Semmel A (1996) *Geomorphologie der Bundesrepublik Deutschland*. Steiner, Wiesbaden.
- Shaffer ML (1987) Minimum viable populations: Coping with uncertainty. In: *Viable Populations for Conservation* (ed Soule ME) pp. 69-86. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Sibrava V (1986) Correlations of European glaciations and their relationship to the deep sea record. *Quaternary Science Reviews*, **5**, 433-442.
- Slaby P (1966) Rozsireni Koprniku (*Meum athamanticum* Jacq.) a Koprnicku (*Ligusticum mutellina* Crantz) v Ceskoslovensku. *Opera Corcontica*, **3**, 15-22.
- Sneath PHA, Sokal RR (1973) *Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman and Company, San Francisco, USA.
- Spalik K, Reduron JP, Downie SR (2004) The phylogenetic position of *Peucedanum* sensu lato and allied genera and their placement in tribe Selineae (Apiaceae, subfamily Apioideae). *Plant Systematics and Evolution*, **243**, 189-210.
- Speier M (1996) Paläoökologische Aspekte der Entstehung von Grünland in Mitteleuropa. *Berichte der Reinhold Tüxen-Gesellschaft*, **8**, 199-219.
- Ssymank A, Haucke U, Rückriem C, Schröder E (1998) *Das europäische Schutzgebietssystem NATURA 2000: BfN-Handbuch zur Umsetzung der Flora-Fauna-Habitat-Richtlinie und der Vogelschutzrichtlinie*. Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz 53. Landwirtschaftsverlag, Münster.
- StatSoft Inc. (2002) *STATISTICA for Windows Version 6*. Tulsa, OK, USA.
- Stebbins GL (1950) *Variation and Evolution in Plants*. Columbia University Press, New York, USA.
- Stehlik I (2000) Nunataks and peripheral refugia for alpine plants during quaternary glaciation in the middle part of the Alps. *Botanica Helvetica*, **110**, 25-30.
- Stehlik I, Schneller JJ, Bachmann K (2001) Resistance or emigration: response of the high-alpine plant *Eritrichium nanum* (L.) Gaudin to the ice age within the Central Alps. *Molecular Ecology*, **10**, 357-370.
- Steinfartz S, Veith M, Tautz D (2000) Mitochondrial sequence analysis of *Salamandra* taxa suggests old splits of major lineages and postglacial recolonizations of Central Europe from distinct source populations of *Salamandra salamandra*. *Molecular Ecology*, **9**, 397-410.
- Stewart JR, Lister AM (2001) Cryptic northern refugia and the origins of the modern biota. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**, 608-613.
- Stewart JR (2003) Response to comment on 'Buffered tree changes in a Quaternary refugium: evolutionary implications'. *Science*, **299**, 825a.
- Swofford DL (2002) *PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*. Sinauer, Sunderland, MA, USA.

- Taberlet P, Fumagalli L, Wust-Saucy AG, Cosson JF (1998) Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, **7**, 453-464.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, **22**, 4673-4680.
- Tollefsrud MM, Bachmann K, Jakobsen KS, Brochmann C (1998) Glacial survival does not matter - II: RAPD phylogeography of Nordic *Saxifraga cespitosa*. *Molecular Ecology*, **7**, 1217-1232.
- Tremblay NO, Schoen DJ (1999) Molecular phylogeography of *Dryas integrifolia*: glacial refugia and postglacial recolonization. *Molecular Ecology*, **8**, 1187-1198.
- Trewick SA, Morgan-Richards M, Russell SJ, Henderson S, Rumsey FJ, Pinter I, Barrett JA, Gibby M, Vogel JC (2002) Polyploidy, phylogeography and Pleistocene refugia of the rockfern *Asplenium ceterach*: evidence from chloroplast DNA. *Molecular Ecology*, **11**, 2003-2012.
- Tribsch A, Schönswetter P, Stuessy TF (2002) *Saponaria pumila* (Caryophyllaceae) and the ice-age in the Eastern Alps. *American Journal of Botany*, **89**, 2024-2033.
- Tutin TG (1968) Meum L. In: *Flora Europaea* (eds Tutin TG, Heywood VH) p. 342, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Tyler T (2002a) Geographic distribution of allozyme variation in relation to post-glacial history in *Carex digitata*, a widespread European woodland sedge. *Journal of Biogeography*, **29**, 919-930.
- Tyler T (2002b) Large-scale geographic patterns of genetic variation in *Melica nutans*, a widespread European woodland grass. *Plant Systematics and Evolution*, **236**, 73-87.
- Tzedakis PC, Lawson IT, Frogley MR, Hewitt GM, Preece RC (2002) Buffered tree population changes in a Quaternary refugium: Evolutionary implications. *Science*, **297**, 2044-2047.
- Tzedakis PC, Lawson IT, Frogley MR, Hewitt GM, Preece RC (2003) Response to Comment on "Buffered tree population changes in a Quaternary refugium: evolutionary implications". *Science*, **299**, 825b.
- Valiejo-Roman CM, Pimenov MG, Terentieva EI, Downie SR, Katz-Downie DS, Troitsky AV (1998) Molecular systematics of the Umbelliferae: using nuclear rDNA internal transcribed spacer sequences to resolve issues of evolutionary relationships. *Botanicheskii Zhurnal (Leningrad)*, **83**, 1-22.
- Velichko AA, Isavea LL (1992) Landscape types during the Last Glacial Maximum. In: *Atlas of Palaeoclimates & Palaeoenvironments of the Northern Hemisphere* (eds Frenzel B, Pecsli B, Velichko AA) INQUA/Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary.
- Villar L (2003) Meum L. In: *Flora Iberica, Araliaceae-Umbelliferae* (eds Nieto Feliner G, Jury SL, Herrero A), pp. 238-239. Madrid, Spain.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Pelman J, Kuiper M, Zabeau M. (1995) AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, **23**, 4407-4414.

- Walter H, Straka H (1970) *Arealkunde. Floristisch-historische Geobotanik*. Ulmer, Stuttgart.
- Washburn AL (1979) *Geocryology*. Arnold, London, UK.
- Webb III T, Bartlein PJ (1992) Global changes during the last 3 million years: Climatic controls and biotic responses. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **23**, 141-173.
- Weinert E (1970) Die Verbreitungsmuster einiger Apiales. *Flora*, **159**, 410-428.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- Welsh J, McClelland M (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, **18**, 7213-7218.
- Westberg E (2005) European phylogeography of the coastal plants *Cakile maritima* Scop. (Brassicaceae) and *Eryngium maritimum* L. (Apiaceae). Dissertation Universität Mainz.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide to methods and applications* (eds Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ), pp. 315-322. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Widmer A, Lexer C (2001) Glacial refugia: sanctuaries for allelic richness, but not for gene diversity. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**, 267-269.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990) DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, **18**, 6531-6535.
- Williams RBG (1975) The British climate during the last glaciation; an interpretation based on periglacial phenomena. In: *Ice ages: ancient and modern* (eds Wright AE, Moseley F), pp. 95-120. Liverpool University Press, Liverpool, UK.
- Willis KJ, Whittaker RJ (2000) The refugial debate. *Science*, **287**, 1406-1407.
- Wolff-Straub R, Büscher D, Foerster E, Jagel A, Kaplan K, Koslowski I, Kutzelnigg H, Raabe U, Schumacher W, Vanberg C (1999) *Rote Liste der gefährdeten Farn- und Blütenpflanzen (Spermatophyta et Pteridophyta) in Nordrhein-Westfalen*. Landwirtschaftsverlag, Münster.
- Wright S (1931) Evolution in mendelian populations. *Genetics*, **16**, 97-159.
- Wright S (1943) Isolation by Distance. *Genetics*, **28**, 114-138.
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Ann. Eugen*, **15**, 323-354.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, Ye ZH, Mao JX (1997) *POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis*. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.
- Zhang LB, Comes HP, Kadereit JW (2001) Phylogeny and Quarternary history of the European montane/alpine endemic *Soldanella* (Primulaceae) based on ITS and AFLP variation. *American Journal of Botany*, **88**, 2331-2345.

Anhang 1

Paarweise F_{ST} -Werte der 23 *M. athamanticum*-Populationen der arealweiten phylogeografischen Studie (unterhalb der Diagonalen) und p-Werte (oberhalb der Diagonalen, + : Signifikanzlevel = 0,05). Abkürzungen und weitere Details zu den Populationen finden sich in Tabelle 1.

Population	BU	CE	CL	EB	EG	EI	HZ	KE	LA	LT	PI	PO	PR	PT	PU	PZ	RH	SC	SI	SL	TE	TH	VO
BU	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CE	0,54	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CL	0,53	0,34	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
EB	0,51	0,44	0,45	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
EG	0,61	0,32	0,40	0,51	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
EI	0,59	0,23	0,35	0,51	0,23	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HZ	0,64	0,45	0,45	0,56	0,34	0,44	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KE	0,69	0,46	0,58	0,64	0,55	0,56	0,64	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LA	0,56	0,30	0,06	0,42	0,40	0,33	0,46	0,59	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LT	0,55	0,14	0,35	0,46	0,26	0,28	0,40	0,47	0,34	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PI	0,59	0,38	0,38	0,48	0,48	0,45	0,53	0,61	0,37	0,38	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PO	0,54	0,49	0,47	0,46	0,51	0,54	0,55	0,64	0,49	0,43	0,47	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PR	0,53	0,39	0,36	0,46	0,46	0,47	0,50	0,54	0,39	0,37	0,23	0,42	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PT	0,51	0,46	0,41	0,25	0,51	0,52	0,56	0,63	0,45	0,44	0,48	0,44	0,41	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PU	0,55	0,39	0,38	0,42	0,47	0,46	0,53	0,63	0,36	0,40	0,24	0,43	0,26	0,43	0	+	+	+	+	+	+	+	+
PZ	0,55	0,53	0,47	0,50	0,58	0,57	0,63	0,66	0,50	0,52	0,51	0,32	0,44	0,46	0,47	0	+	+	+	+	+	+	+
RH	0,61	0,22	0,36	0,51	0,22	0,13	0,38	0,58	0,34	0,29	0,44	0,55	0,44	0,51	0,45	0,59	0	+	+	+	+	+	+
SC	0,61	0,33	0,44	0,54	0,33	0,40	0,40	0,52	0,44	0,29	0,49	0,52	0,49	0,54	0,50	0,58	0,38	0	+	+	+	+	+
SI	0,60	0,55	0,50	0,47	0,60	0,59	0,61	0,73	0,52	0,54	0,52	0,53	0,47	0,51	0,47	0,56	0,61	0,61	0	+	+	+	+
SL	0,61	0,46	0,47	0,50	0,48	0,52	0,51	0,63	0,47	0,36	0,42	0,44	0,41	0,48	0,41	0,51	0,51	0,50	0,51	0	+	+	+
TE	0,55	0,33	0,23	0,39	0,38	0,35	0,45	0,55	0,22	0,31	0,40	0,46	0,41	0,45	0,41	0,48	0,35	0,41	0,49	0,46	0	+	+
TH	0,57	0,30	0,41	0,52	0,34	0,25	0,48	0,45	0,39	0,34	0,48	0,52	0,45	0,52	0,48	0,56	0,31	0,40	0,60	0,50	0,39	0	+
VO	0,55	0,13	0,35	0,47	0,31	0,25	0,49	0,46	0,34	0,16	0,39	0,47	0,39	0,48	0,43	0,51	0,25	0,31	0,57	0,47	0,29	0,30	0

Anhang 2

Paarweise F_{ST} -Werte der 14 *M. athamanticum*-Populationen der mitteleuropäischen populationsgenetischen Studie (unterhalb der Diagonalen) und P-Werte (oberhalb der Diagonalen); + : Signifikanzlevel = 0,05; - : nicht signifikant). Abkürzungen und weitere Details zu den Populationen finden sich in Tabelle 2.

Population	BAY	ERZ	EIF	FBG	FIG	HUN	HAR	JUR	MSW	OBS	RHO	ROT	SW	THU
BAY	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ERZ	0,16	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
EIF	0,10	0,13	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
FBG	0,19	0,06	0,14	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FIG	0,08	0,10	0,11	0,17	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HUN	0,15	0,13	0,09	0,12	0,12	0	+	+	+	+	+	+	+	+
HAR	0,18	0,09	0,16	0,17	0,11	0,16	0	+	+	+	+	+	+	+
JUR	0,11	0,20	0,16	0,22	0,19	0,19	0,21	0	+	+	+	+	+	+
MSW	0,11	0,13	0,11	0,10	0,12	0,06	0,18	0,18	0	+	+	+	+	+
OBS	0,21	0,19	0,22	0,17	0,22	0,16	0,25	0,29	0,15	0	+	+	+	+
RHO	0,19	0,20	0,22	0,22	0,14	0,24	0,26	0,28	0,20	0,31	0	+	+	+
ROT	0,15	0,14	0,08	0,18	0,14	0,21	0,17	0,21	0,18	0,30	0,21	0	+	+
SW	0,17	0,12	0,11	0,11	0,13	0,04	0,12	0,16	0,07	0,12	0,21	0,16	0	+
THU	0,05	0,10	0,02	0,10	0,08	0,08	0,10	0,07	0,07	0,15	0,19	0,08	0,05	0

Anhang 3

Geografische Distanzen (Luftlinie) zwischen den 23 *M. athamanticum*-Populationen der arealweiten phylogeografischen Studie. Abkürzungen und weitere Details zu den Populationen finden sich in Tabelle 1.

Population	BU	CE	CL	EB	EG	EI	HZ	KE	LA	LT	PI	PO	PR	PT	PU	PZ	RH	SC	SI	SL	TE	TH	VO
BU	0																						
CE	1719	0																					
CL	1451	269	0																				
EB	1023	878	651	0																			
EG	1223	1044	874	333	0																		
EI	1647	713	680	625	525	0																	
HZ	1450	965	851	487	236	328	0																
KE	2564	1461	1563	1567	1346	970	1114	0															
LA	1449	270	2	651	873	681	852	1564	0														
LT	1492	239	79	645	841	610	800	1484	80	0													
PI	2001	322	570	1199	1357	975	1258	1562	571	557	0												
PO	783	1158	916	895	1222	1409	1373	2376	914	984	1376	0											
PR	2047	359	611	1237	1388	995	1284	1554	613	595	44	1420	0										
PT	935	947	710	89	374	712	554	1647	709	711	1267	850	1305	0									
PU	1878	249	462	1107	1290	951	1212	1619	463	462	135	1241	179	1170	0								
PZ	936	815	555	570	903	1025	1019	1990	553	615	1075	388	1119	553	946	0							
RH	1414	827	707	407	270	258	144	1160	708	657	1127	1267	1154	488	1076	902	0						
SC	2514	1459	1549	1524	1294	937	1064	73	1550	1470	1575	2346	1569	1603	1626	1961	1117	0					
SI	2462	994	1181	1831	2034	1679	1955	2173	1181	1198	704	1719	687	1885	746	1543	1820	2199	0				
SL	2370	657	923	1515	1622	1165	1482	1507	924	894	375	1751	331	1591	509	1447	1367	1537	672	0			
TE	1398	323	61	631	873	717	867	1615	60	136	614	854	656	684	499	495	724	1599	1202	973	0		
TH	1367	876	742	375	206	321	125	1200	742	696	1181	1252	1209	449	1125	896	64	1155	1870	1427	754	0	
VO	1505	485	403	510	576	281	480	1218	404	337	787	1164	815	596	733	776	343	1193	1478	1048	437	394	0

Anhang 4

Geografische Distanzen (Luftlinie) zwischen den 14 *M. athamanticum*-Populationen der mitteleuropäischen populationsgenetischen Studie. Abkürzungen und weitere Details zu den Populationen finden sich in Tabelle 2.

Population	BAY	ERZ	EIF	FBG	FIG	HUN	HAR	JUR	MSW	OBS	RHO	ROT	SSW	THU
BAY	0													
ERZ	382,5	0												
EIF	457,5	520	0											
FBG	327,5	52,5	452,5	0										
FIG	255	140	405	87,5	0									
HUN	362,5	487,5	110	435	360	0								
HAR	430	235	327,5	205	207,5	342,5	0							
JUR	360	670	405	617,5	530	310	625	0						
MSW	217,5	482,5	302,5	430	345	192,5	430	190	0					
OBS	82,5	425	400	362,5	280	295	427,5	285	135	0				
RHO	302,5	267,5	255	210	147,5	230	145	472,5	290	285	0			
ROT	412,5	367,5	165	320	270	195	162,5	492,5	340	392,5	127,5	0		
SSW	220	507,5	320	455	367,5	210	455	167,5	25	140	315	365	0	
THU	305	205	317,5	145	100	292,5	125	517,5	330	305	62,5	177,5	355	0

Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Burkhard Büdel bedanken. Er hat mich besonders nach der Diplomarbeit dazu ermutigt, mich weiter mit der Vegetationsgeografie zu beschäftigen und in vielen Diskussionen geholfen, diese Arbeit auf den Weg zu bringen.

Zu besonderem Dank bin ich Prof. Joachim W. Kadereit verpflichtet. Er hat sich nach unserem ersten Gespräch ohne zu zögern dazu bereit erklärt, mich bei meinem Promotionsvorhaben zu unterstützen. Neben der intensiven und fruchtbaren Diskussion hat er mir die Möglichkeit gegeben, von den umfangreichen Erfahrungen der Mitarbeiter seiner Arbeitsgruppe zu profitieren.

Dr. Peter Haase hat als Leiter der Forschungsstation für Mittelgebirge ganz wesentlich dazu beigetragen, mein wissenschaftliches Vorhaben umzusetzen und hat mir einen Arbeitsplatz an der Forschungsstation zur Verfügung gestellt. Ich bin ihm für seine stete Diskussionsbereitschaft, seine Unterstützung bei allen Projekten und ein freundschaftliches Verhältnis zu Dank verpflichtet.

Diese Arbeit wäre ohne die Person von Prof. Dieter Mollenhauer nicht zustande gekommen. Nicht nur, dass ich ihm den Kontakt zu und die Einführung bei B. Büdel und J.W. Kadereit verdanke. Vielmehr hat er mich seit unserem ersten Treffen vor mehr als 10 Jahren, damals noch als Leiter der Forschungsstation für Mittelgebirge der SNG, in allen Belangen gefördert und keine Zeit und Mühen gescheut, mich in aller Ausführlichkeit und schier unerschöpflichem Wissen über allgemeine und spezielle Sachverhalte rund um die Botanik zu informieren.

Dr. Christian Printzen möchte ich für die vielseitige Hilfe, seine umfangreichen und zielgerichteten Diskussionsbeiträge und seine Bereitschaft, an der gemeinsamen Antragstellung für das *Meum*-Projekt mitzuwirken, großen Dank aussprechen.

Dr. Rami Arafeh, Dr. Erik Westberg und Dr. Ralf Horres danke ich für die kompetente und freundschaftliche Einweisung in die AFLP-Technik und die Hilfe bei der AFLP-Auswertung.

Ich möchte mich bei weiteren Personen bedanken:

Prof. Fritz F. Steininger, der als Direktor des Forschungsinstituts und Naturmuseum Senckenberg stets am Fortgang meiner Arbeit interessiert war und die Durchführung der ersten Sammelreise ermöglichte,

Prof. Nicole Galland und Philippe Druart für Informationen zu *Meum*-Standorten im Schweizer Jura,

Dr. Matthias Kropf, der einen Zwischenstand der Arbeit sehr kritisch und konstruktiv kommentiert hat.

Thomas Michl und Andrea Sundermann, die in freundschaftlicher und kollegialer Weise und vielfacher Diskussion das Zustandekommen meiner Arbeit begleitet haben und sich teilweise mehrfach und in konstruktiver Form durch die produzierten Texte gearbeitet haben,

Gordana Tomovic, Prof. Joaquin Molero Mesa, Dr. Marjan Niketic und Dr. Vladimir Vladimirov für die Zusendung von Untersuchungsmaterial,

Peter Haase, Thomas Michl und Steffen Pauls für gemeinsame Exkursionen,

Oliver Huck, Ricky Voigt und Jürgen Jung für die Lösung von EDV-technischen Problemen.

Allen Mitstreitern in der Forschungsstation gilt mein Dank für die gute Zusammenarbeit und die vielfältigen Gespräche in den letzten Jahren.

Den wichtigsten Rückhalt und größte Motivation hat mir meine Familie gegeben, Marie, Anna Lena und Renate. Renate hat durch ihre liebevolle Art so manch einmal Ruhe in die stressigen Zeiten gebracht und mir mit ihrem Einsatz für unsere Familie immer den Rücken freigehalten. Ohne sie wäre diese Arbeit nicht gelungen.

Diese Arbeit wurde im Rahmen eines DFG-Projektes von C. Printzen, J.W. Kadereit und P. Haase finanziell unterstützt.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Stefan Huck

Himmelaer Straße 4, 63571 Gelnhausen

geboren am 02.03.1970 in Frankfurt am Main

verheiratet, zwei Töchter

Schulbildung

- | | |
|-----------|---|
| 1976 | Grundschule in Eschborn (Hessen) |
| 1976-1982 | wohnhaft in Tokio, Japan; Grundschule und gymnasialer Zweig der Deutschen Schule Tokio |
| 1982-1989 | Grimmelshausen-Gymnasium in Gelnhausen (Hessen)
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife |

Zivildienst

- | | |
|-----------|---|
| 1990-1991 | Zivildienst im Behindertenkindergarten des Behindertenwerks Main-Kinzig in Linsengericht-Altenhaßlau (Hessen) |
|-----------|---|

Hochschulausbildung

- | | |
|------------|---|
| 1991-1993 | Studium der Ostasiatischen Philologie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main |
| 1993-2000 | Studium der Physischen Geographie, Nebenfächer Botanik und Bodenkunde an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main |
| 02.2000 | Diplom-Prüfung Geographie mit Auszeichnung (Gesamtnote 1,0) bestanden. Titel der Diplomarbeit: Arealgeographische Aspekte der Spessartflora unter besonderer Berücksichtigung ihrer Gefährdung und ihrer Lebensräume (betreut von Prof. W. Andres) |
| Ab 10.2000 | Promotionsstudium der Biologie an der Universität Kaiserslautern am Institut für Allgemeine und Spezielle Botanik, AG Prof. Dr. B. Büdel, mit dem Thema: Arealweite Phylogeografie und Populationsgenetik der temperat-montanen <i>Meum athamanticum</i> (Apiaceae) |

Beruflicher Werdegang

- 03.95 – 09.00 selbständige Tätigkeit als Gutachter und wissenschaftlicher Mitarbeiter u.a. für:
- Institut für ländliche Strukturforschung, Frankfurt am Main
 - Johann Heinrich Cassebeer-Gesellschaft, Biebergemünd
 - Botanische Vereinigung für Naturschutz in Hessen (BVNH)
 - Senckenbergische Naturforschende Gesellschaft
 - Diverse Planungsbüros
 - Diverse Gemeinden im Main-Kinzig-Kreis
- 04.00 – 09.02 Wissenschaftlicher Mitarbeiter bei der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft
- Koordination der Raumempfindlichkeitsstudie Spessart für die Deutsche Bahn AG
 - Biotopschutzkonzept für Wacholderheiden im Spessart, Revitalisierung durch Etablierung eines Landnutzungskonzeptes
 - Gefährdungsanalyse von Flora und Vegetation im Spessart
- 10.02 – 09.03 selbständige Tätigkeit als Gutachter und wissenschaftlicher Mitarbeiter u.a. für:
- Bundesamt für Naturschutz, Bonn
 - Regierungspräsidium Kassel
 - Regierungspräsidium Darmstadt
 - Senckenbergische Naturforschende Gesellschaft
 - Diverse Planungsbüros
- seit 10.03 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung Botanik und der Außenstelle „Forschungsstation für Mittelgebirge“ bei der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft, Frankfurt am Main, im DFG-Projekt „Untersuchungen zur Phylogeografie und genetischen Diversität montaner Phanerogamen in europäischen Mittelgebirgen“