

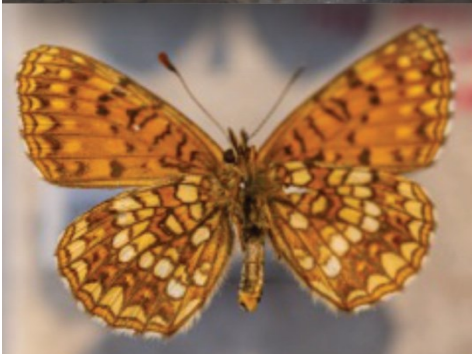
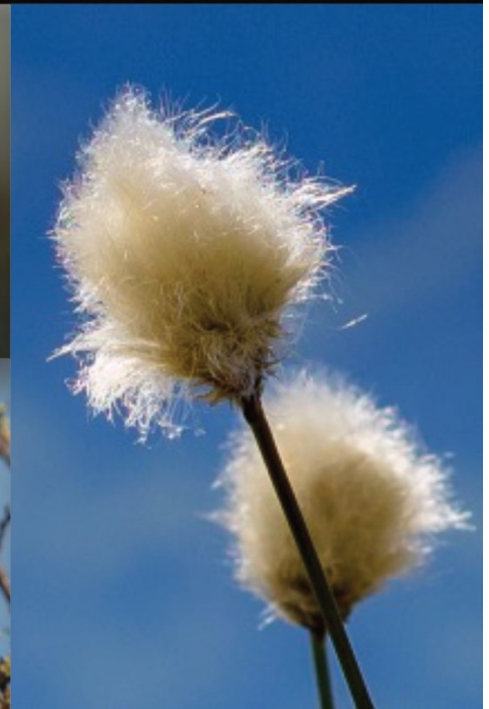
CGGTGACGTCAGAATGCCACCATTGCCACAACTGGAATTGGAGGAGGAACTGTCAGTTTACCGTGAAGACATTAAAGCA
GGCCAGCGTTACTCCTGTTGGTATGTCATCTTTATTCATATGATTGAGATAAACCACGCAGTTTCGGAAC TTGGGTAATT
GATACCGGACGTTGTGGTTCTCATCCGTGCAATCATTGCGGACCTAAGAAACATCAAGCCTCGCCGTCAAGGTGATGTG

Pilotstudie für ein Monitoring der genetischen Vielfalt in der Schweiz

Schlussbericht

Im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU)

TTTACTCTAGAGATATGAAACCCCTACCTATTAAGGTGCCATGACCTCGATTGCGATTCAAAGCTATGGCTTAAGCCA
TGCAATCCGAGATGGACTCATGTATGAGAATAACGTCAGGATCTTGTTGATTTACCTACAAAGGTACGACCTCTGATAAA
GGTAAGTGGCTTTTACAAGATAAAGCAATCGTAGATGGGCAATCGAATACTATAAAGCTAGACTAGGCAAGGTTTCACTC
AAGTGACAGTTTGCACATGATGAAATTTGCACCCGTAGTCATGCTGCGTTCCATTCCGATAATCTTAGCGATTGCCGC
TTTTCATGAGATTATGAAATTTGGCAAATGGATGTGAAACCGCCTTCTTAAC TTGGTTATTTGGAGGAGGAATTGTACAT
GGTACAACCTTTGAAGGTTTCATAGATCCTAAAAATCCTAAGAAAGTATGCAAGCTGCTGCGTTCCATTATGGACTTAAG
CAAAGCTTCGAGTTGGAATCATCGTTTGGGCCGGTGATAAAGAGTATGGCTTGTTGATCAATCAAGAACCATGCTTGTA
TATCAAGTCGGTGGGAGCAAGATTGTCTTCCTAATATTGTATGTCGATGACATACTCCGATTAATGACATACCTCTCTTA
TTGCTAAAGGTTGGTTGAAGAACCATTTCCGGTGAATTAGACCGGTGAGGCACAGCATATTGGGCATCCCACATCTATCG
AGATAGATCACGACGGATGTTATCACTTAGTCGAGTCTTATATAGATAAGATTGAAAGATTGAGCATGACCAACTCCAA



Impressum

Auftraggeber: Bundesamt für Umwelt (BAFU), Abt. Biodiversität und Landschaft, CH-3003 Bern
Das BAFU ist ein Amt des Eidg. Departements für Umwelt, Verkehr, Energie und Kommunikation (UVEK).

Auftragnehmer: ETH Zürich, Institut für Integrative Biologie, Departement für Umweltsystemwissenschaften, Universitätsstrasse 16, 8092 Zürich

Autor/Autorin: Dr. Martin C. Fischer, MSc. Andrea Ryffel, MSc. Kathrin Ruprecht, Prof. Dr. Alex Widmer; unter Mitarbeit von Dr. Felix Gugerli (WSL) und Prof. Dr. Rolf Holderegger (WSL)

Begleitung BAFU: Dr. Jérôme Frei und Dr. Claudio de Sassi

Hinweis: Diese Studie/dieser Bericht wurde im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU) verfasst. Für den Inhalt ist allein der Auftragnehmer verantwortlich.

Inhaltsverzeichnis

Executive Summary	4
1 Pilotstudie für ein Monitoring der genetischen Vielfalt	6
1.1 Einleitung	6
1.2 Artenauswahl und Artenporträts	8
1.3 Beprobung	10
1.4 Indikatoren	12
1.5 Referenzgenome	13
1.6 Bioinformatische Grundlagenanalysen	14
1.7 Referenzwerte für die Indikatoren	15
1.7.1 Indikatorwerte im schweizweiten Überblick	15
1.7.2 Genetische Vielfalt	17
1.7.3 Konnektivität und genetische Struktur	21
1.7.4 Inzucht	29
1.7.5 Adaptive genetischen Vielfalt	35
1.7.6 Effektive Populationsgrösse (N_e)	37
1.8 Weiterführende Anwendungen	41
1.8.1 Identifikation und Konsequenzen der künstlichen Ansaat infolge von Biodiversitätsfördermassnahmen	41
1.8.2 Inzucht und Ab- oder Zunahme der Brutpaardichte	43
1.9 Retrospektive Analyse der genetischen Vielfalt	44
1.9.1 Studienaufbau und Probenahme	44
1.9.2 DNA-Extraktion	46
1.9.3 Sequenzierung	46
1.9.4 Veränderung der genetischen Vielfalt im Laufe der Zeit	47
1.9.5 Veränderungen der genetischen Vielfalt in Raum und Zeit	48
1.10 Diskussion	52
1.11 Fazit	53
Danksagung	55
Quellen und Publikationsliste	56

Executive Summary

Einer der drei Bestandteile der Biodiversität ist, neben der Vielfalt der Arten und Lebensräume, die **genetische Vielfalt**. Die Biodiversität steht aufgrund anthropogener Ursachen unter zunehmendem Druck, weshalb der Aktionsplan Biodiversität Schweiz und die internationale Biodiversitätskonvention (Convention on Biological Diversity, CBD) der Vereinten Nationen (UN) die Notwendigkeit eines Monitorings der genetischen Vielfalt in natürlichen Populationen wildlebender Arten anerkennt. Die genetische Vielfalt ist das Rohmaterial der Evolution und eine wesentliche Voraussetzung dafür, dass sich Arten und Populationen an eine sich **verändernde Umwelt anpassen** und in **ihr langfristig überleben** können. Tier- oder Pflanzenbestände mit einer nur geringen genetischen Variabilität haben ein erhöhtes Aussterberisiko, da sie oft nicht die nötigen genetischen Voraussetzungen besitzen, um rasch auf Umweltveränderungen zu reagieren. Ein besseres Verständnis über den aktuellen Umfang und die zeitlichen Veränderungen der genetischen Vielfalt innerhalb von Arten ermöglicht es, geeignete Massnahmen zu ergreifen, die ihr langfristiges Überleben sichern. So können die gewonnenen Daten zum Beispiel als Frühwarnsystem für eine Veränderung der genetischen Vielfalt dienen, aufzeigen, wo durch **ökologische Infrastruktur** die Konnektivität verbessert werden kann, oder schützenswerte Hotspots der genetischen Vielfalt identifizieren.

Ein systematisches Monitoring der genetischen Vielfalt von freilebenden Tier- und Pflanzenarten wurde auf nationaler Ebene bisher nie durchgeführt. Diese Pilotstudie etabliert Referenzwerte der genetischen Vielfalt von **fünf** ausgewählten **Arten** und charakterisiert den Zustand der genetischen Vielfalt anhand von fünf Indikatoren. Die fünf untersuchten Arten stammen aus einem **Lebensraumtyp von nationaler Bedeutung** und/oder aus **anthropogen veränderten Landschaften** und umfassen den Baldrian-Schneckenfalter , die Kreuzkröte , die Goldammer , das Scheiden-Wollgras  und die Kartäusernelke . Die wichtigsten Ergebnisse in Kürze:

- **158 Populationen** wurden (stratifiziert nach den biogeografischen Regionen der Schweiz) zufällig ausgewählt und in diesen **>1'200 Individuen** beprobt, sowie deren gesamtes Erbgut (Genom) sequenziert.
- **5 genetische Indikatoren**, welche unterschiedliche Aspekte der genetischen Vielfalt darstellen, wurden getestet und berechnet. Für drei Indikatoren wurden Schwellenwerte festgelegt:
 = unbedenklich,  = bedenklich,  = besorgniserregend.

Ø = Mittelwert					
Genetische Vielfalt	1.8%	0.7%	1.6%	1.0%	0.9%
% adaptive genetische Vielfalt	3.9%	7.9%	5.2%	7.8%	3.0%
Ø Konnektivität					
Ø Inzucht					
Ø Effektive Populationsgrösse (N_e)					

- **Referenzwerte** für die **genetischen Vielfalt** der fünf Arten wurde etabliert. Die genomweiten Daten erlaubten weitere detaillierte Rückschlüsse über den Zustand der genetischen Vielfalt in der Schweiz.
- Anhand von 400 Proben aus biologischen Sammlungen, die bis zu 200 Jahre alt sind, wurden Veränderungen der genetischen Vielfalt retrospektiv analysiert, das heisst, es wurden Veränderungen der genetischen Vielfalt im Verlauf der vergangenen 200 Jahre erfasst. Das Scheiden-Wollgras  hat in den **letzten 200 Jahren schweizweit ca. 4% der genetischen Vielfalt verloren** und zeigt zudem starke Anzeichen der Inzucht. Der Baldrian-Schneckenfalter  zeigt eine zeitliche und räumliche Veränderung der genetischen Vielfalt, es gibt Populationen die an genetischer Vielfalt verlieren, aber auch solche, welche sich wieder erholen.

- Die genetische Vielfalt der untersuchten Arten variiert räumlich und es gibt schützenswerte **Hotspots der genetischen Vielfalt** für diese Arten in der Schweiz.
- Einige Populationen der Kreuzkröte  und des Scheiden-Wollgrases  zeigten **erhöhte Inzuchtwerte** und **kleine effektive Populationsgrössen**, welche lokal besorgniserregende Werte aufweisen und deshalb in Zukunft durch ein genetisches Monitoring überwacht werden sollten.
- Mit den erhobenen genomweiten Daten und neuen Analysemethoden lassen sich bereits mit der ersten Erhebung naturschutzrelevante Ergebnisse zur Inzucht, der effektiven Populationsgrösse (N_e) und der Konnektivität von Populationen in der mehr als hundertjährigen Vergangenheit berechnen.
- Effekte von **Biodiversitätsfördermassnahmen** wie künstliche Begrünungen oder Translokationen lassen sich mit genomweiten Daten **feststellen** und **bewerten**.

Die Pilotstudie zeigt, dass ein Monitoring der genetischen Vielfalt die laufenden Biodiversitätsmonitorings gut komplementiert und nun auch **die grundlegende Ebene der Biodiversität, die genetische Vielfalt, abdeckt**. Durch die erstmalige Analyse einer sorgfältig ausgewählten Stichprobe jeder Art, wie sie in der Pilotstudie stattfand, lässt sich ein artspezifischer Referenzwert der genetischen Vielfalt erheben. Daraus lassen sich Indikatoren für das Ausmass an adaptiver genetischer Vielfalt, die Konnektivität, Inzucht und die effektive Populationsgrösse berechnen. Für letztere ist auch eine Abschätzung möglich, wie sie sich in der Vergangenheit verändert hat und kann somit zu einem effizienten Frühwarnsystem für Veränderungen des Inzuchtgrades gefährdeter Populationen und zur Ermittlung rückläufiger oder kleiner effektiver Populationsgrößen beitragen. Sobald die durchgeführten Analysen für bereits untersuchte Arten wiederholt werden, beispielsweise nach 5 oder 10 Jahren, lassen sich für alle Indikatoren mögliche Veränderungen untersuchen. Diese werden aufzeigen, ob der Zustand der genetischen Diversität stabil ist, oder ob er sich verändert.

Heute wird die Qualität von Flächen anhand der Artenvielfalt und der Seltenheit von Lebensräumen bewertet, woraufhin solche Flächen geschützt oder gefördert werden. Mit einem Monitoring der genetischen Vielfalt **erhält die Praxis ein weiteres Kriterium, welches es erlaubt, die Qualität einer Population und ihres Habitats zu bewerten**. Dies erlaubt **gezielte Umsetzungsmöglichkeiten** für Biodiversitäts-Fördermassnahmen, wie das Planen und Fördern von Vernetzungsmassnahmen mit Hilfe der ökologischen Infrastruktur, Ausweisung schützenswerter Regionen (mit hoher genetischer Vielfalt) oder Berücksichtigung evolutionärer Abstammungslinien bei künstlichen Begrünungs-, Wiederansiedlungs- oder Umsiedlungsmassnahmen.

Mit den aus der Pilotstudie gewonnenen Informationen und Erfahrungen ist es nun **aus technischer Sicht möglich, ein nationales Monitoring der genetischen Vielfalt in Populationen freilebender Arten der Schweiz mit Hilfe der Genomik durchzuführen**. Ein derartiges Monitoring hat weltweit Pioniercharakter. Die genomweiten Daten erlauben einen deutlich detaillierteren Einblick in den Zustand und die Veränderungen von Arten und Populationen in der Schweiz, als ursprünglich erwartet werden konnte. Es gilt nun zu prüfen, wie das etablierte Verfahren zur Analyse der genetischen Vielfalt am effizientesten in die bestehende Biodiversitäts-Monitoringlandschaft der Schweiz integriert werden kann.

1 Pilotstudie für ein Monitoring der genetischen Vielfalt

1.1 Einleitung

Die genetische Vielfalt ist die grundlegende Ebene der Vielfalt des Lebens (Biodiversität), welche aus der Vielfalt der Arten, der Vielfalt der Ökosysteme und der genetischen Vielfalt besteht. Genetische Vielfalt ist das Rohmaterial für die Evolution, und somit grundlegend für die Anpassung von Arten und Populationen an eine sich verändernde Umwelt. Sie ist Voraussetzung dafür, dass sich Organismen an die Auswirkungen des Klimawandels anpassen können (Willi *et al.* 2022). Die Strategie Biodiversität Schweiz (BAFU 2012) misst der Erhaltung der genetischen Vielfalt eine grosse Bedeutung bei und erwähnt sie in drei ihrer zehn strategischen Ziele für das Jahr 2020 (Ziele 1, 4, 10). Im Aktionsplan Strategie Biodiversität Schweiz (BAFU 2017) ist die Vermeidung der genetischen Verarmung ein zentrales Anliegen.

Die neuen Biodiversitäts-Ziele der Biodiversitätskonvention (Convention on Biological Diversity, CBD) der Vereinten Nationen (UN) für 2030 und die Vision für 2050 wurden an der Biodiversitätskonferenz 2022 (COP15) in Montreal (Kanada) definiert. Die vier langfristigen und 23 mittelfristigen Ziele, die international vereinbart wurden, widmet dem Schutz der genetischen Vielfalt deutlich mehr Aufmerksamkeit als in der Vergangenheit (COP15 2022).

Ziel A wird folgendermassen umschrieben:

- Die Unversehrtheit, Vernetzung und Widerstandsfähigkeit aller Ökosysteme wird erhalten, verbessert oder wiederhergestellt, wobei die Fläche der natürlichen Ökosysteme bis 2050 erheblich vergrössert wird.
- Das vom Menschen verursachte Aussterben bekanntermassen bedrohter Arten wird gestoppt, und bis 2050 werden die Aussterberate und das Risiko für alle Arten um das Zehnfache reduziert, und die Häufigkeit einheimischer wildlebender Arten wird auf ein gesundes und widerstandsfähiges Niveau erhöht.
- Die **genetische Vielfalt innerhalb der Populationen wildlebender und domestizierter Arten wird erhalten**, um ihr **Anpassungspotenzial zu sichern**.

Aktionsplan 4 COP15 (2022) sieht entsprechende Massnahmen vor: Sicherstellung dringender Bewirtschaftungsmassnahmen, um das vom Menschen verursachte Aussterben bekanntermassen bedrohter Arten zu stoppen und die Erholung und Erhaltung von Arten, insbesondere bedrohter Arten, zu gewährleisten, um das Aussterberisiko deutlich zu verringern sowie **die genetische Vielfalt innerhalb und zwischen Populationen einheimischer, wildlebender und domestizierter Arten zu erhalten und wiederherzustellen**, um ihr **Anpassungspotenzial zu bewahren**, unter anderem durch In-situ- und Ex-situ-Erhaltung und **nachhaltige Bewirtschaftungspraktiken, und wirksames Management** der Interaktionen zwischen Mensch und wildlebender Arten, um Konflikte zwischen Mensch und wildlebender Arten im Hinblick auf die Koexistenz zu minimieren.

Referenzwerte über das aktuelle Ausmass genetischer Vielfalt der Arten in der Schweiz und Kenntnisse über das Ausmass der Veränderung der genetischen Vielfalt über die Zeit sind somit zentrale Grundlagen, um den Zustand der genetischen Vielfalt der Arten zu sichern und zukünftige genetische Verarmung zu vermeiden. Die Arten- und Lebensraumvielfalt wird in der Schweiz seit 2001 mit

verschiedenen Biodiversitätsmonitoring-Programmen auf Hunderten Untersuchungsflächen standardisiert erfasst und überwacht. Ein gleichwertiges Monitoring der genetischen Vielfalt fehlt bis heute in der Schweiz. Vor diesem Hintergrund wurde ein Konzept erstellt, wie genetische Vielfalt in einer repräsentativen Auswahl von Arten in der Schweiz wissenschaftlich fundiert erfasst werden kann (Fischer *et al.* 2020). Weiter wurden Indikatoren definiert, die das Ausmass der genetischen Vielfalt und ihre Veränderungen über die Zeit aufzeigen können (Fischer *et al.* 2020).

Basierend auf diesem Konzept wurde 2020 die «Pilotstudie für ein Monitoring der genetischen Vielfalt in der Schweiz» ins Leben gerufen, um die Durchführbarkeit eines Monitorings der genetischen Vielfalt anhand von fünf Tier- und Pflanzenarten zu prüfen, welche die Ansprüche eines zukünftigen Monitorings gut repräsentieren. Ziel dieser Pilotstudie war es, das in der Machbarkeitsstudie von Fischer *et al.* (2020) erarbeitete Konzept für eine Untersuchung des Zustands und der Veränderung der genetischen Vielfalt in natürlichen Populationen einheimischer Arten auf seine praktische Anwendbarkeit zu testen, sowie zu evaluieren, ob der geschätzte Zeitaufwand und Kostenumfang realistisch sind. Dies ermöglicht, ein künftiges Monitoring der genetischen Vielfalt mit einer grösseren Anzahl Arten genauer zu planen und weiterzuentwickeln. Damit allfällige Schwierigkeiten bereits während der Pilotstudie erkannt und gelöst werden konnten, wurden fünf Arten aus verschiedenen Organismengruppen mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften ausgewählt und in möglichst allen sechs biogeografischen Regionen der Schweiz gesammelt. Es war ursprünglich geplant, Arten aus den Gruppen der Gefässpflanzen, Insekten, Weichtiere, Amphibien und Vögel zu untersuchen. Ausgewählt für die Pilotstudie wurden schliesslich drei Tier- () und zwei Pflanzenarten (.

Mit den im Rahmen der Pilotstudie erhobenen genomweiten Sequenzdaten wurden Indikatoren getestet und berechnet, welche in der Machbarkeitsstudie (Fischer *et al.* 2020) erarbeitet wurden, aber auch um neue Indikatoren zu entwickeln, die zum Zeitpunkt der Machbarkeitsstudie noch nicht existierten. Zudem wurden für die Indikatoren Referenzwerte festgelegt, welcher das Ausmass der heute vorhandenen genetischen Vielfalt dieser fünf Arten charakterisieren.

In einem Monitoring erlaubt die erstmalige Erhebung eines aktuellen Referenzwerts für die untersuchten Arten generell noch keine Rückschlüsse auf das Ausmass der Veränderung der genetischen Vielfalt über die Zeit. Deshalb wurde in der Pilotstudie auch eine retrospektive Analyse für zwei der fünf untersuchten Arten durchgeführt und zwar für einen Tagfalter  und ein Wollgras . Diese retrospektiven Analysen lassen weitere Rückschlüsse auf eine mögliche Bedrohung einzelner Populationen oder Arten zu, beispielsweise durch den Verlust der genetischen Vielfalt oder verlorengegangenen Konnektivität. Solche demografischen Prozesse sind mit normalen Monitoring-Programmen auf Grund von Beobachtungen oder Populationszählungen in der Regel nicht direkt erkennbar.

Während der Pilotstudie wurden neue bioinformatische Methoden erprobt und die erforderlichen analytischen Verfahren entwickelt und getestet. Aufgrund der weiterhin schnellen Entwicklung im Forschungsgebiet der Artenschutz-Genomik ist es äusserst wichtig, flexibel auf Veränderungen reagieren zu können und auf dem aktuellen Wissenstand zu bleiben. Deshalb wurde ein regelmässiger Austausch mit der Begleitgruppe sowie mit Expert*innen weltweit geführt. Mit dem Aufbau einer Website, Verfassen von Artikeln in praxisnahen Zeitschriften und dem Halten von Vorträgen wurde der Öffentlichkeitsarbeit und Kommunikation mit interessierten Stakeholdern Rechnung getragen.

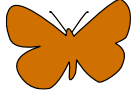
1.2 Artenauswahl und Artenporträts

Die Artenauswahl wurde anhand der Artenliste aus der Machbarkeitsstudie (Fischer *et al.* 2020) und weiteren Gesprächen mit Artenexperten und der Begleitgruppe (Umsetzung der Pilotstudie: Kapitel 2.3.3) getroffen. Zu den Kriterien für die Artenauswahl gehörten unter anderem die Organismengruppen-Zugehörigkeit, Lebensraum, Gefährdung, Genomgrösse und Verfügbarkeit in Sammlungen für die retrospektive Analyse. Ausgewählt wurden schliesslich der Baldrian-Scheckenfalter 🦋 (*Melitaea diamina*), die Kreuzkröte 🐸 (*Epidalea calamita*), die Goldammer 🐦 (*Emberiza citrinella*), das Scheiden-Wollgras 🌿 (*Eriophorum vaginatum*) und die Kartäusernelke 🌸 (*Dianthus carthusianorum*).



Abbildung 1: Die fünf Arten, die in der Pilotstudie zum Zustand und der Veränderung der genetischen Vielfalt in der Schweiz untersucht wurden. Von links nach unten rechts, Scheiden-Wollgras (*Eriophorum vaginatum*), Kreuzkröte (*Epidalea calamita*), Kartäusernelke (*Dianthus carthusianorum*), Baldrian-Scheckenfalter (*Melitaea diamina*) und Goldammer (*Emberiza citrinella*).

Tabelle 1: Übersicht der wichtigsten Merkmale für die Auswahl der fünf Arten der Pilotstudien.

Art	Eigenschaften	Analysen
Baldrian-Scheckenfalter  (<i>Melitaea diamina</i>)	- Vorkommen an feuchten und sonnigen Standorten - Streuwiesen am Rand von Mooren - Feuchte und lichtdurchflutete Wälder - Rote Liste: potenziell gefährdet (NT); aber nur stellenweise häufig 0.6 Gb Genomgrösse >1'400 Individuen aus der Schweiz in entomologischen Sammlungen - Belege relativ gleichmässig verteilt auf die Jahre 1900-1980	✧ Kontemporär ✧ Retrospektiv
Kreuzkröte  (<i>Epidalea calamita</i>)	- Bewohnt Amphibienschutzgebiete (Habitat von nationaler Bedeutung) - Rote Liste: stark gefährdet (EN); Bestände weiterhin abnehmend - Für eine Amphibienart kleines Genom von 3.8 Gb	✧ Kontemporär
Goldammer  (<i>Emberiza citrinella</i>)	- Bevorzugt reich strukturierte Landschaftsgebiete - Hecken; Vernetzungsmassnahmen - Rote Liste: Nicht gefährdet (LC); regional ab- oder zunehmend 1.2 Gb Genomgrösse	✧ Kontemporär
Scheiden-Wollgras  (<i>Eriophorum vaginatum</i>)	- Hochmoorart (Habitat von nationaler Bedeutung) - Rote Liste: potenziell gefährdet (NT) 0.44 Gb Genomgrösse >700 Proben in Herbarien in der Schweiz um 1900	✧ Kontemporär ✧ Retrospektiv
Kartäusernelke  (<i>Dianthus carthusianorum</i>)	- Art der Trockenwiesen und -weiden (Habitat von nationaler Bedeutung) - Rote Liste: Nicht gefährdet (LC); häufig in Saatgutmischungen zur Biodiversitätsförderung verwendet 0.6 Gb Genomgrösse	✧ Kontemporär

1.3 Beprobung

Für die Beprobung aller Arten wurde eine 'Proportional Stratified Random Sampling Strategy' entwickelt. Dabei wurde die Schweiz in Quadrate von 5 km x 5 km eingeteilt und die sechs biogeografischen Regionen der Schweiz wurden proportional zu ihrem Flächenanteil zufällig beprobt. Für die Zufallsauswahl wurden nur Quadrate berücksichtigt, für die seit dem Jahr 2000 eine Meldung über das Vorkommen der betreffenden Art in der InfoSpecies-Datenbank verfügbar ist. Für die Kreuzkröte, deren Bestände nach wie vor rückläufig sind, wurden nur Meldungen nach 2010 berücksichtigt. Nach diesem Prinzip wurden pro Art insgesamt 30 Quadrate (und 10 Reservequadrate) zufällig ausgewählt und beprobt. Insgesamt wurden 158 Populationen und mehr als 1'200 Individuen beprobt (Abbildung 2).

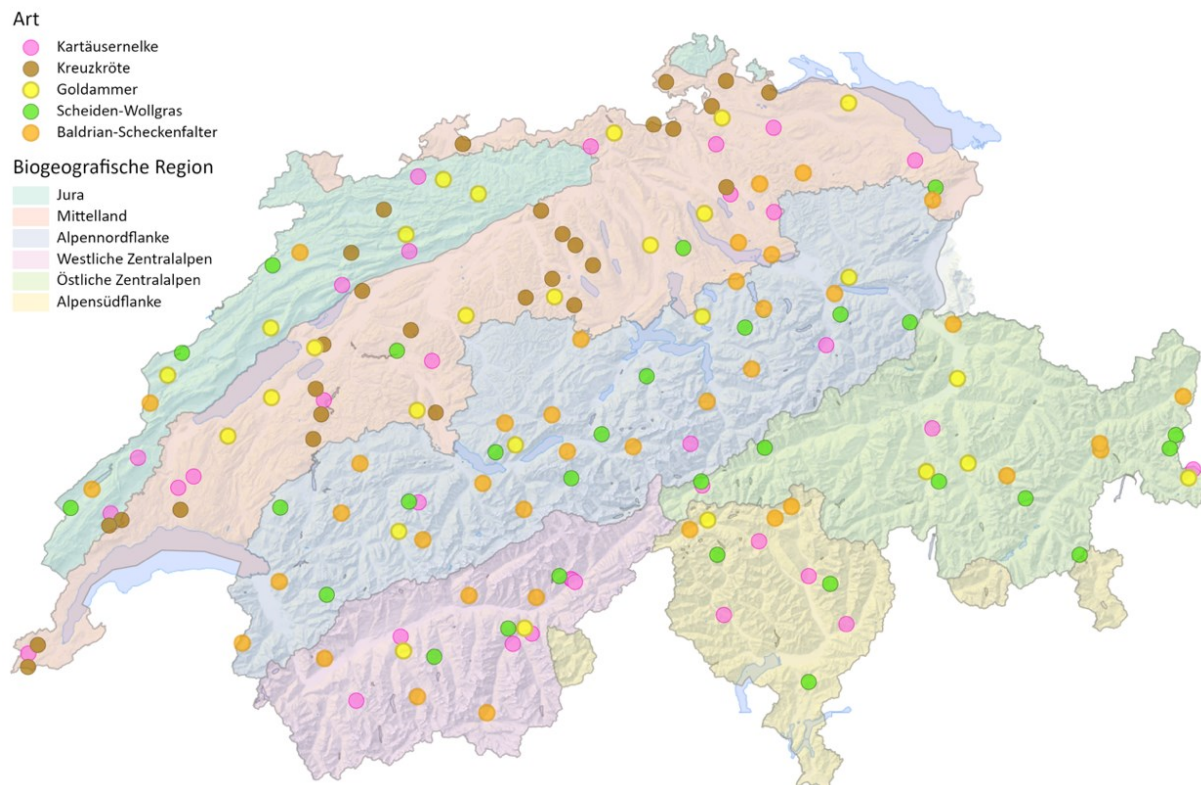
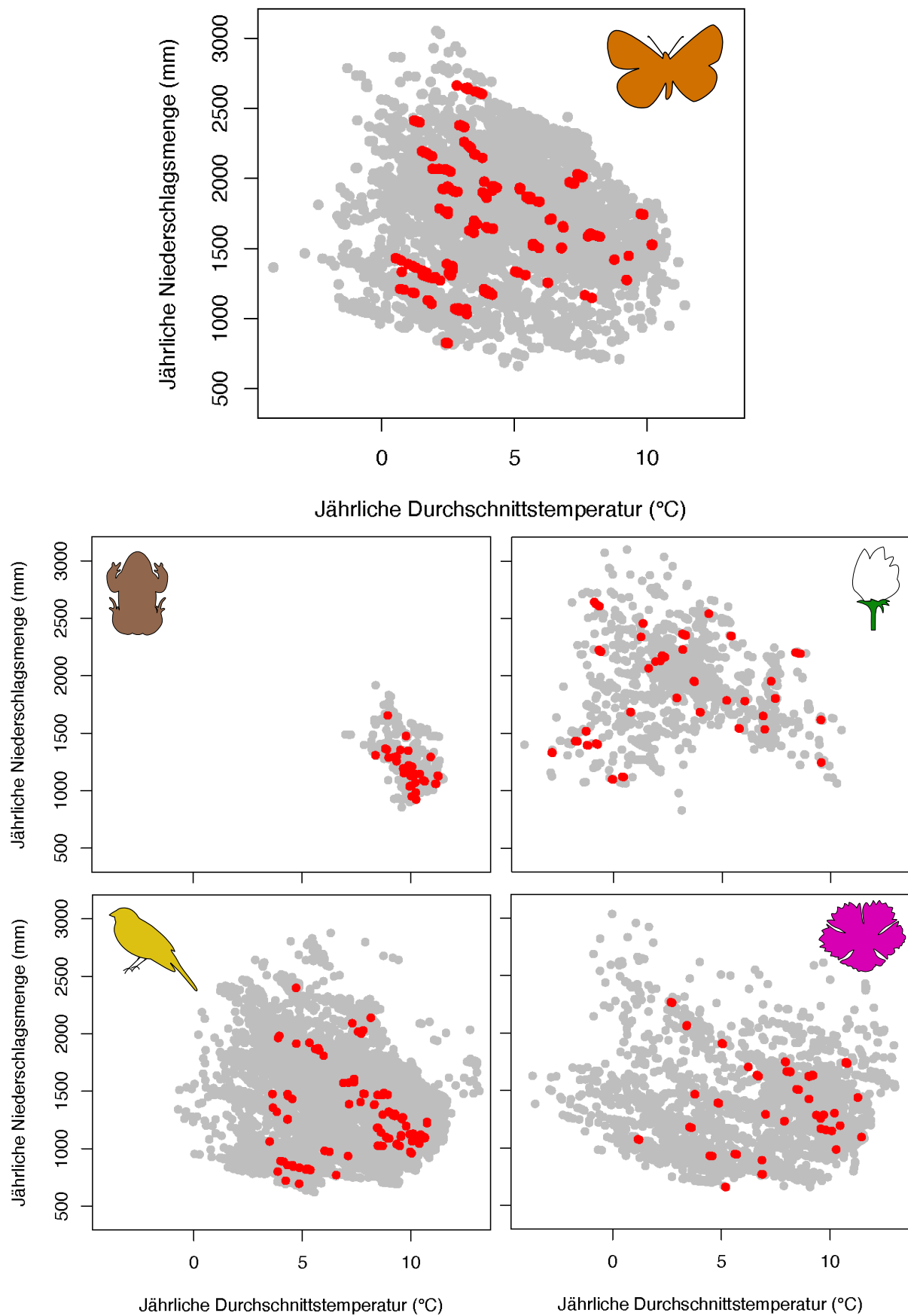


Abbildung 2: Beprobte Populationen der fünf für die Pilotstudie ausgewählten Arten, verteilt über die biogeografischen Regionen.

Für die Validierung der Frage, ob die Zufalls-Beprobung nicht nur im geographischen Raum funktioniert hat, sondern auch die klimatischen Nischen der fünf Arten in der Schweiz abdeckt, wurde die klimatische Nische jeder Art anhand der jährlichen Durchschnittstemperatur und Niederschlagsmenge an den bekannten Vorkommen (grau) in der Schweiz (InfoSpecies-Datenbank) berechnet und mit den beprobten Populationen (rot) verglichen (Abbildung 3). Die beprobten Populationen decken die klimatische Nische jeder Art sehr gut ab. Im Weiteren wird deutlich ersichtlich, dass die Kreuzkröte eine sehr eingeschränkte klimatischen Nische besiedelt.



1.4 Indikatoren

Die fünf Indikatoren wurden von einer kleinen Expertengruppe der ETH und WSL diskutiert und eruiert. Das Ziel war es, möglichst wenige, aber informative Indikatoren auszuwählen, um den Zustand der genetischen Vielfalt jeder Art anhand möglichst unterschiedlicher, nicht redundanter Informationen abzubilden. In Tabelle 2 sind die fünf Indikatoren und deren Schätzer aufgelistet und kurz erklärt. Sie werden in Kapitel 1.7 detailliert erklärt. In den nachfolgenden Abschnitten wird jeder Indikator ausführlich beschrieben und für alle Arten berechnet.

Tabelle 2: Liste der fünf genetischen Indikatoren, welche im Rahmen der Pilotstudie erhoben wurden. Es wurden für das langfristige Monitoring geeignete Indikatoren festgelegt, mit denen sich die Veränderung dieser Schätzer im Laufe der Zeit quantifizieren lässt. Mit einer einmaligen Erhebung in der Pilotstudie, lassen sich Referenzwerte oder Schwellenwerte für die Referenzwerte berechnen (unbedenklich, bedenklich, besorgniserregend).

Indikator (Schätzer)	Erklärung	Referenzwert und/oder Schwellenwert
Genetische Vielfalt ($\theta_{\text{Watterson}}$)	% der variablen Genom-Positionen in jeder Population im Vergleich zur gesamten genetischen Vielfalt der Art in der Schweiz.	Der Referenzwert ist artspezifisch und sollte nur innerartlich verglichen werden. Es braucht mehrere Messungen für eine Interpretation der Veränderung. Erlaubt, die Qualität einer Population und ihres Habitats zu bewerten.
Konnektivität und genetische Struktur (F_{ST} und PCA)	Schätzt die Populationsstruktur, die Konnektivität und den historischen genetischen Unterschied zwischen Populationen oder; evolutionären Linien.	$F_{\text{ST}} < 0.25$ – historisch vernetzte Populationen. $F_{\text{ST}} > 0.25$ – historisch stark eingeschränkter Genfluss.
Inzucht (F_{ROH})	Schätzt den Anteil (Blöcke) des Genoms, der aufgrund von Inzucht homozygot ist (d.h. gleiche Allele durch gemeinsame Abstammung).	$F_{\text{ROH}} < 0.1$ – unbedenklich $F_{\text{ROH}} > 0.1$ – bedenklich $F_{\text{ROH}} > 0.25$ – besorgniserregend
Adaptive genetische Vielfalt (pRDA)	Prozentualer Anteil der genetischen Vielfalt, welcher mit sechs Umwelt- und Klimavariablen erklärt werden kann. RDA = Redundanz Analyse; p = korrigiert für die Populationsstruktur.	Referenzwert muss noch erarbeitet werden. Es braucht mehrere Messungen für eine Interpretation.
Effektive Populationsgrösse (N_{eLD})	Die genetisch effektive Populationsgrösse ist die Grösse einer idealisierten Population, welche die gleiche Inzucht und den gleichen Verlust an genetischer Vielfalt (Drift) erfährt, wie die untersuchte tatsächliche Population. N_{e} in natürlichen Populationen ist meist kleiner als die im Feld ermittelte Populationsgrösse (N_{c}).	$N_{\text{e}} < 50$ $50 < N_{\text{e}} < 500$ $N_{\text{e}} > 500$ Eine Mindestpopulationsgrösse von $N_{\text{e}} > 50$ Individuen ist notwendig, um Inzucht zu vermindern. Eine Mindestgrösse von $N_{\text{e}} > 500$ Individuen ist erforderlich, um die Wirkung der genetischen Drift zu verringern und so zu verhindern, dass genetische Vielfalt über längere Zeit verloren geht und damit die Langzeitüberlebens-fähigkeit erhalten bleibt.

Die Indikatoren und ihre genetischen Schätzer wurden anhand der erhobenen Daten getestet. In der Machbarkeitsstudie (Fischer *et al.* 2020) wurden noch weitere Indikatoren und mögliche genetische Schätzer vorgeschlagen. In der Pilotstudie haben wir nun diejenigen Indikatoren getestet und ausgewählt, welche informativ sind und keinen überlappenden Informationsgehalt aufweisen.

1.5 Referenzgenome

Ein qualitativ hochwertiges Referenzgenom für jede Art, bei dem möglichst die gesamten Chromosomen assembliert wurden, ist notwendig, damit später die kurzen DNA-Fragmente, die bei der Sequenzierung jedes Individuums generiert werden, optimal abgeglichen und analysiert werden können. Von allen ausgewählten Arten wurden bereits 2020 Gewebeproben für die Erstellung von Referenzgenomen gesammelt aus denen erfolgreich hochmolekulare DNA extrahiert werden konnte. Diese ist nötig, damit man die für die Erstellung von Referenzgenomen notwendigen langen DNA-Fragmente mit den neusten Sequenzier-Technologien (PacBio HiFi und Omni-C) verarbeiten kann. Die Vollständigkeit der Genome wurde anhand eines Katalogs konservierter Gene überprüft und liegt zwischen 95.8% und 98.8%, was ausgezeichnete Werte sind (Tabelle 3). Dies ist insbesondere für die Kreuzkröte beeindruckend, da das Genom der Kreuzkröte sehr gross ist und wir 3'820 Millionen Basen (Mb) zusammenfügen konnten. Die hohe Qualität der Referenzgenome erleichterte die weiteren Analysen stark und reduzierte auch die Rechenzeit auf dem Hochleistungscomputer. Im Weiteren sind gewisse Analysen, wie die Abschätzung des Grads an Inzucht (runs of homozygosity) und der effektiven Populationsgrösse nur möglich, wenn die Referenzgenome hochwertig sind.

Tabelle 3: Kennzahlen der fünf erstellten Referenzgenome. Die Genomgrösse ist in Millionen Basen (Mb) angeben. Die Vollständigkeit der Genome wurde anhand eines Katalogs konservierter Gene (BUSCO; <https://busco.ezlab.org>) überprüft (Werte >90% sind sehr gut). Contigs sind lückenlos zusammengesetzte Stücke einer DNA-Sequenz.

Art	Zusammengefügte Genomgrösse	Haploide Chromosomenzahl	Anzahl Contigs*	BUSCO
 Baldrian-Scheckenfalter	603 Mb	n = 14	34 (35/94)	98.8%
 Kreuzkröte	3'820 Mb	n = 11	51 (105/2'099)	95.8%
 Goldammer	1'351 Mb	n = 20	28 (51/208)	97.0%
 Scheiden-Wollgras	446 Mb	n = 29	29 (48/1'742)	98.4%
 Kartäusernelke	517 Mb	n = 15	15 (46/500)	97.3%

* Anzahl grosser Contigs (verwendete Contigs/alle Contigs des Referenzgenoms). Ein Contig (von engl. contiguous = angrenzend, zusammenhängend) ist ein Satz überlappender DNA-Stücke (reads), die von derselben genetischen Quelle stammen. Ein solches Contig kann dazu genutzt werden, die Original-DNA-Sequenz eines Chromosoms abzuleiten.

1.6 Bioinformatische Grundlagenanalysen

Die Sequenzdaten jedes Individuums wurden mit den neu erstellten Referenzgenomen der zugehörigen Art verglichen (Mapping) und die genetische Variation (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) der fünf Arten in der Schweiz eruiert (Tabelle 4 und Abbildung 5). Normalisiert man die Anzahl der SNPs mit der Genomgrösse der zugehörigen Art, hat der Baldrian-Scheckenfalter mit 1.8% variablen Positionen die höchste genetischen Vielfalt, gefolgt von der Goldammer, dem Scheiden-Wollgras und der Kartäusernelke. Die tiefste genetische Vielfalt hat die Kreuzkröte mit etwas mehr als 0.7% variablen Positionen. Diese Werte sollten aber nicht ohne biologischen Hintergrund der Arten und weiteren Analysen interpretiert werden. So hat zum Beispiel die Mobilität einer Art oder ihre nacheiszeitliche Ausbreitungsgeschichte einen starken Einfluss auf die genetische Vielfalt einer Art.

Tabelle 4: Genomgrösse, genetische Variation (Anzahl Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs) und Prozentsatz der variablen Positionen, welche pro Art in der Schweiz gefunden.

Art	Genomgrösse	SNPs	% variable Positionen
 Baldrian-Scheckenfalter	603 Mb	10'595'153	1.8%
 Kreuzkröte	3'820 Mb	24'450'129	0.7%
 Goldammer	1'351 Mb	21'114'613	1.6%
 Scheiden-Wollgras	446 Mb	3'894'006	1.0%
 Kartäusernelke	517 Mb	4'416'817	0.9%

1.7 Referenzwerte für die Indikatoren

1.7.1 Indikatorwerte im schweizweiten Überblick

Die fünf Indikatoren konnten für alle fünf Arten, pro Population und teilweise pro Individuum berechnet werden. Tabelle 5 gibt einen Überblick über die Mittelwerte für alle Populationen einer Art. Die detaillierten und weiterführenden Analysen für jeden Indikator folgen danach.

Die durchschnittliche **genetische Vielfalt** einer Population in der Schweiz schwankt je nach Art zwischen 11% und 20% (Tabelle 5). Dieser Wert kann ohne weitere Messungen in der Zukunft, d.h. ohne ein klassisches Monitoring, nicht beurteilt werden. Die Verteilung der genetischen Vielfalt im Raum, (Abbildung 6) kann aber genutzt werden, um Hotspots der genetischen Vielfalt festzustellen und Erlaubt, die Qualität einer Population und ihres Habitats zu bewerten.

Der Referenzwert der durchschnittlichen **Konnektivität** zwischen den Populationen ist bei drei Arten unbedenklich, aber in zwei Arten ist der Schwellenwert von $F_{ST} > 0.25$ überschritten (Tabelle 5). Dieser Wert ist aber nur für die Kreuzkröte  besorgniserregend. Teilweise ist dieser Wert erklärbar durch die Mobilität dieser Art, andererseits ist er auch dem Verlust der Pionierhabitate geschuldet, welche die Kreuzkröte benötigt. Der erhöhte Wert bei der Kartäusernelke  ist durch unterschiedliche eiszeitliche Refugien bei verschiedenen Evolutionslinien dieser Art zu erklären. Die starke genetische Struktur sollte aber bei Biodiversitäts-Fördermassnahmen berücksichtigt werden (siehe Kapitel 1.8.1).

Der **Inzucht** ist bei zwei Arten (Kreuzkröte und Scheidenwollgras) überdurchschnittlich hoch. Im Durchschnitt haben Individuen der Kreuzkröte  in 25% ihres Erbgutes keine genetische Vielfalt mehr (Tabelle 5). Dies ist besorgniserregend und sollte weiter untersucht werden, da dies zu einer Inzuchtdepression mit reduzierter Fitness der Individuen führen könnte. Auch das Scheiden-Wollgras  zeigt einen erhöhten Inzucht mit durchschnittlich 12% des Erbguts ohne Variation. Diese Werte variieren aber zwischen Populationen und Regionen stark (siehe Abbildung 16). Detaillierte Auswertungen sind im Kapitel 1.7.4 zu finden.

Die **adaptive genetische Vielfalt** ist der wohl am schwierigsten zu interpretierenden Indikator. Angesichts des derzeitigen raschen Klimawandels haben wir uns auf die klimarelevante adaptive genetische Vielfalt konzentriert. Die genetische Variation, welche durch sechs klimatische Umweltfaktoren erklärt werden kann (siehe Kapitel 1.7.5), variiert je nach Art, kann aber nur nach einer wiederholten Messung in der Zukunft vergleichend interpretiert werden.

Tabelle 5: Populations-Durchschnittswerte der fünf Indikatoren der fünf Arten. N_e = effektive Populationsgrösse. Definition der Schwellenwerte siehe Tabelle 3.

Ø = Mittelwert	Ø genetische Vielfalt	Ø Konnektivität	Ø Inzucht	Adaptive genetische Vielfalt	Ø N_e
 Baldrian-Scheckenfalter	0.14	0.08	0.03	3.9%	> 6'000
 Kreuzkröte	0.19	0.33	0.25	7.9%	<200 ¹
 Goldammer	0.20	0.02	0.03	5.2%	>3'000'000 ^{1,2}
 Scheiden-Wollgras	0.15	0.18	0.12	7.8%	<400
 Kartäusernelke	0.11	0.31 ³	0.07	3.0%	>2'000

¹ Für viele Population wurden weniger als fünf Individuen beprobt, was eine Analyse verunmöglicht.

² Schätzwert muss mit Vorsicht interpretiert werden, da N_e für Populationen mit starkem Genfluss nicht gut geschätzt werden können, bzw. schätzt die Grösse der ganzen Metapopulation, also ganze Schweiz oder sogar Europa.

³ Für viele Population wurden weniger als fünf Individuen beprobt, was eine Analyse verunmöglicht.

³ Die starke durchschnittliche genetische Differenzierung der Kartäusernelken-Populationen ist grösstenteils auf natürliche Ursachen und evolutionäre Linien zurückzuführen, die in eiszeitlichen Refugien entstanden sind.

Die durchschnittliche **effektive Populationsgrösse** (N_e) der fünf Arten variiert von 199 bis über 3 Millionen und widerspiegelt deutlich den Grad der Mobilität der Arten aber auch die Verfügbarkeit der natürlichen Lebensräume (Tabelle 5). Die Kreuzkröte  hat im Durchschnitt den tiefsten Wert und ist somit gefährdet, genetische Vielfalt allein durch den Zufallsprozess der genetischen Drift zu verlieren. Dies gilt in leicht reduziertem Mass auch für zahlreiche Populationen des Scheiden-Wollgras . Beide Arten sollten deshalb weiter überwacht werden. Die neuesten genetischen und statistischen Analysen ermöglichen es uns nun, N_e bis zu 100 Generationen in die Vergangenheit zu schätzen und somit Veränderungen mit einer einzigen Messung zu erkennen (siehe Kapitel 1.7.6).

Nachfolgende werden die Indikatoren einzeln und detailliert diskutiert.

1.7.2 Genetische Vielfalt

Die genetische Vielfalt wurde mit dem genetischen Schätzer **Watterson Theta**¹ ($\theta_{\text{Watterson}}$) berechnet (Watterson 1975), der zwischen 0 und 1 liegt und sich anhand der Anzahl variablen Positionen im Erbgut einer Population berechnen lässt und für die Stichprobengrösse korrigiert. $\theta_{\text{Watterson}}$ zeigt für jede Population in der Schweiz, wie viel Prozent der gesamten (noch existierende) artspezifischen genetischen Vielfalt in der Schweiz in dieser Population vorhanden ist (Abbildung 4). $\theta_{\text{Watterson}}$ -Werte, die nur anhand der variablen Positionen einer geografischen Teilmenge, in diesem Fall der Schweiz, berechnet wurden, können nicht zwischen den Arten verglichen werden, da jede Art in der Schweiz eine andere globale genetische Vielfalt aufweist, wie aus Abbildung 5 ersichtlich wird.

Genetische Vielfalt in der Schweiz



Abbildung 4: Illustration der gesamten genetischen Vielfalt einer Art ($\theta_{\text{Watterson}} = 1$; 10 Farben = 10 genetische Varianten) in der Schweiz, Population A mit 50% Anteil (5 / 10 Varianten; $\theta_{\text{Watterson}} = 0.5$) und Population B mit 30% Anteil (3 / 10 Varianten; $\theta_{\text{Watterson}} = 0.3$) an der genetischen Vielfalt der Art in der Schweiz.

¹ <https://rdrr.io/github/gbradburd/popgenstuff/man/calcThetaW.html>

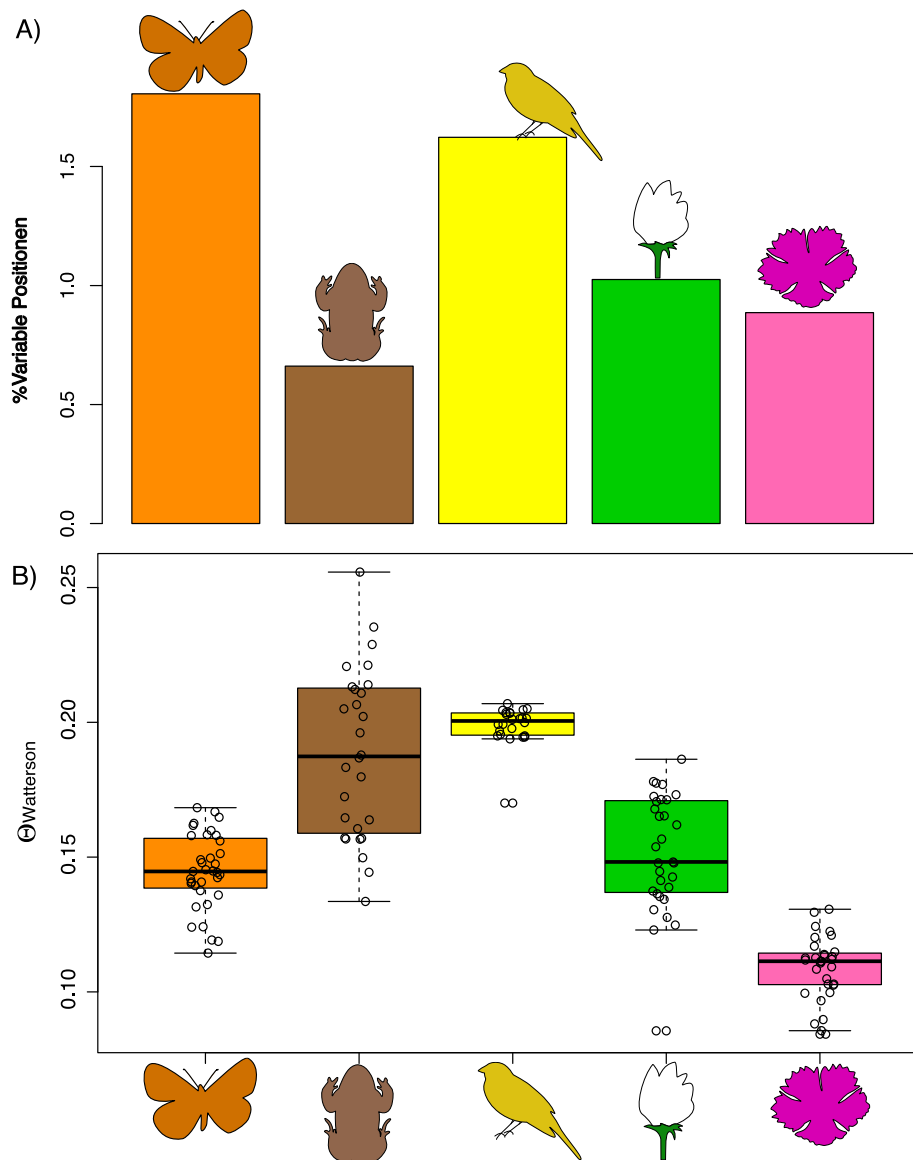


Abbildung 5: Referenzwert der artspezifischen schweizweiten genetischen Vielfalt der fünf Arten, dargestellt als % des Erbguts, das variabel ist (A). Die Gesamtheit der variablen Positionen einer Art in der Schweiz ist der Basiswert, auf dem die populationsspezifische genetischen Vielfalt (B) berechnet wird. Diese Werte sollte nicht direkt zwischen den Arten verglichen werden, da die artspezifische Biologie einen direkten Einfluss auf die genetische Vielfalt hat. Hohe genetische Vielfalt gilt als vorteilhaft.

Die Karten in Abbildung 6 der fünf Arten zeigen, wie die kontemporäre genetische Vielfalt in der Schweiz verteilt ist und ermöglicht die Ausweisung von Hotspots der genetischen Vielfalt für jeder Art.

Beim Baldrian-Scheckenfalter  hat die Population mit der geringsten genetischen Vielfalt 10% der gesamtschweizerischen genetischen Vielfalt, während die Population mit der höchsten genetischen Vielfalt 20% aufweist (Abbildung 6). In der Zentralschweiz und an der Alpennordflanke scheint es einen Hotspot der genetischen Vielfalt für den Baldrian-Scheckenfalter zu geben, welcher möglicherweise die Folge des Aufeinandertreffens von unterschiedlichen evolutionären Linien (siehe Abbildung 8) ist.

Die Populationen der Kreuzkröte  mit der geringsten genetischen Vielfalt liegen im zentralen Mittelland und umfassen bis zu 13% der gesamtschweizerischen genetischen Vielfalt. Populationen mit höherer Vielfalt (bis zu 26%) finden sich im zentralen Mittelland, wo auch der Hotspot der genetischen Vielfalt liegt.

Die Goldammer-Populationen  haben sehr homogen verteilte genetische Vielfalt mit Anteilen von >20% der gesamtschweizerischen Vielfalt. Nur eine Population hat einen tieferen Wert von 17%. Hier konnten wir nachweisen, dass bei der Probenahme mehrere Individuen einer Familie gefangen wurden, was den tiefen Wert erklärt.

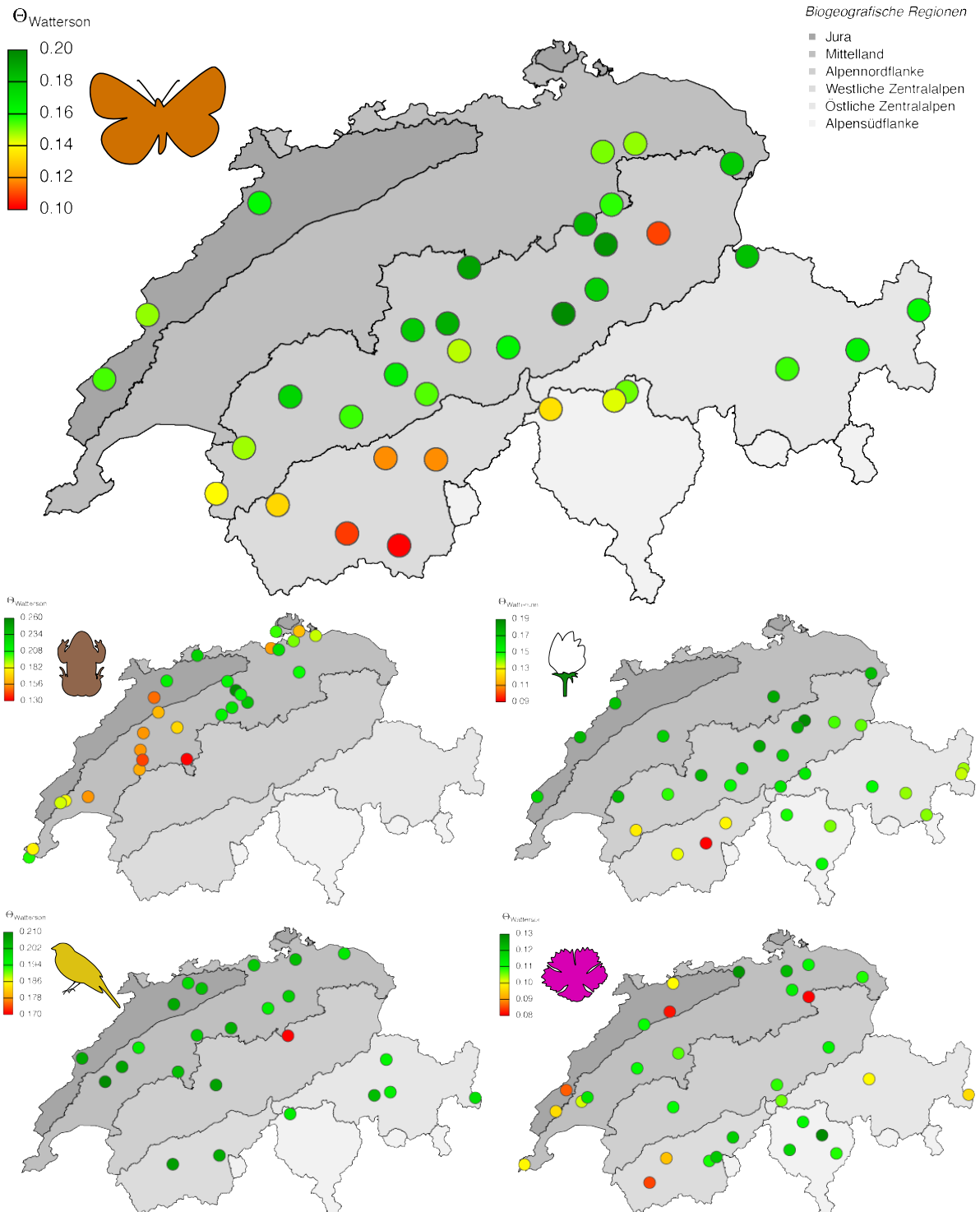


Abbildung 6: Genetische Vielfalt ($\theta_{\text{Watterson}}$) der unterschiedlichen Population der fünf Arten in der Schweiz. Die $\theta_{\text{Watterson}}$ -Spannweite wird für jede Art in Farben von tief (rot) nach hoch (grün) angegeben. In Graustufen sind die sechs biogeografischen Regionen der Schweiz abgebildet.

Beim Scheiden-Wollgras 🌿 hat die Population mit der geringsten genetischen Vielfalt nur 9% und die Population mit der höchsten genetischen Vielfalt 19% der gesamtschweizerischen genetischen Vielfalt. Das Scheiden-Wollgras hat einen Hotspot der genetischen Vielfalt in der Zentralschweiz und Alpennordflanke, wie auch der Baldrian-Scheckenfalter. Sowohl das Scheiden-Wollgras 🌿 als auch der Baldrian-Scheckenfalter 🦋 weisen in den westlichen Zentralalpen tendenziell eine tiefere genetische Vielfalt auf.

Die Kartäusernelken 🌸 Populationen weisen eher variable und im Raum verstreute genetischen Vielfalt auf und decken zwischen 8% und 13% der gesamtschweizerischen Vielfalt ab. Gründe für diese Heterogenität sind das Vorkommen mehrerer evolutionären Linien (Kapitel 1.7.3) und die künstliche Ansaat im Kontext von Biodiversitätsfördermassnahmen (Kapitel 1.8.1).

Mit diesen Analysen haben wir den ersten Referenzwert der genetischen Vielfalt in der Schweiz festgelegt. Dieser ist ohne wiederholte Messungen jedoch kaum interpretierbar und lässt keine Aussagen über allfällige Veränderung der genetischen Vielfalt im Verlauf der Zeit zu. Diese Lücke kann nur mit einem echten Monitoring der genetischen Vielfalt geschlossen werden.

Kernbotschaften: Genetische Vielfalt

- Der Indikator genetische Vielfalt ermöglicht es, die genetische Vielfalt innerhalb einer Art zu bewerten. Eine hohe genetische Vielfalt innerhalb einer Population und Art erhöht in der Regel die Anpassungsfähigkeit und verringert das Aussterberisiko.
- Der aktuelle Wert ist ein Referenzwert. Zur Bewertung der Veränderung der genetischen Vielfalt braucht es wiederholte Messungen im Rahmen eines Monitorings.
- Der Indikator genetische Vielfalt ermöglicht es, genetische Hotspots innerhalb einer Art räumlich zu identifizieren und erlaubt so die Qualität einer Population und ihres Habitats zu bewerten und zu schützen.
- Geographische Regionen, die Populationen mit einer hohen genetischen Vielfalt beherbergen, sind wertvoll und müssen mit besonderer Aufmerksamkeit behandelt werden.
- Bei der Kreuzkröte 🐸, dem Scheiden-Wollgras 🌿 und beim Baldrian-Scheckenfalter 🦋 sind die genetischen Hotspots klar erkennbar, während die genetische Vielfalt der Goldammer 🐦 gleichmässiger verteilt ist.

1.7.3 Konnektivität und genetische Struktur

Diese Indikatoren beschreiben die Konnektivität und die genetischen Unterschiede zwischen verschiedenen Populationen, sowie die Populationsstruktur einer Art.

F_{ST} misst die **genetische Differenzierung zwischen Populationen** (Weir & Cockerham 1984; Weir & Hill 2002)² und kann so auch als Indikator für den historischen Genfluss bzw. die Konnektivität zwischen Populationen in der Vergangenheit verwendet werden. Der Wertebereich liegt zwischen 1 (komplett getrennt) und 0 (identisch, d.h. extensiver Genfluss). Haben zwei Population eine genetische Differenzierung von $F_{ST} > 0.25$ (Whitlock & McCauley 1999), gelten sie als stark isoliert (siehe Abbildung 7). Das bedeutet, dass kleinere F_{ST} -Werte auf eine geringere genetische Differenzierung zwischen Populationen hinweisen und somit höheren Genfluss darstellen. Hoher Genfluss wiederum ist ein Indiz für Konnektivität zwischen den Populationen (z.B. Goldammer )

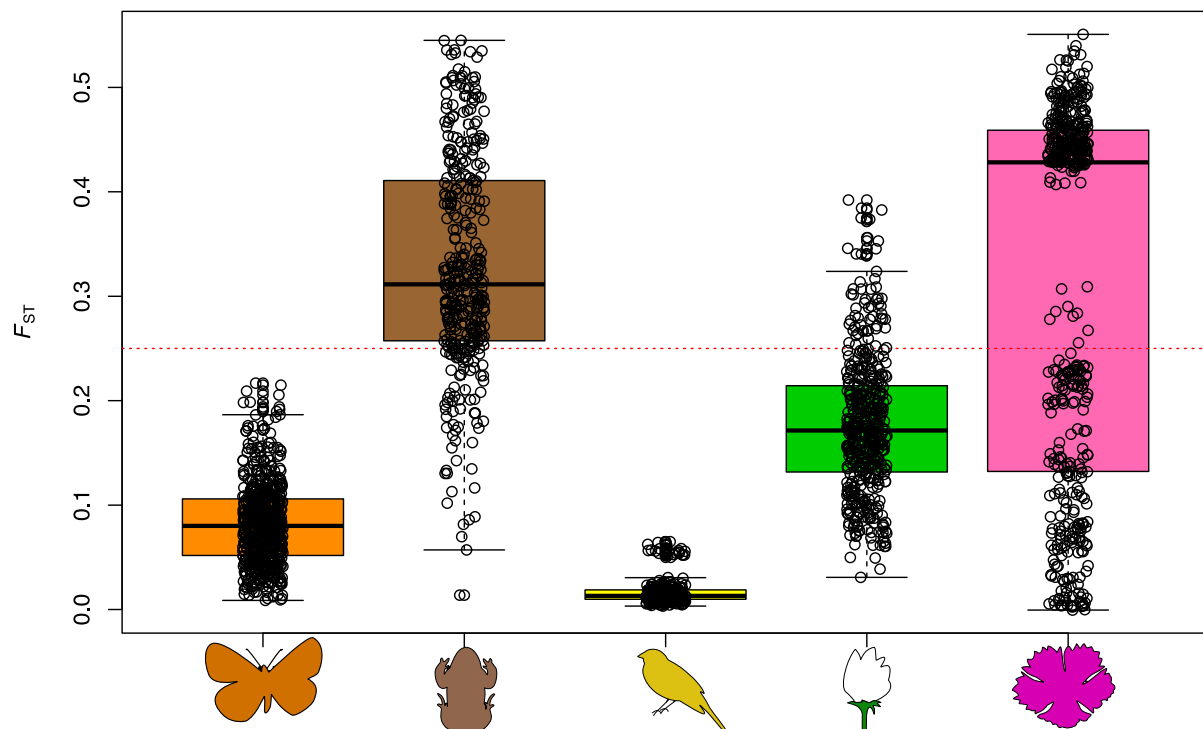


Abbildung 7: F_{ST} -Werte pro Art für alle innerartlichen paarweisen Populationsvergleiche (schwarzen Punkte). Die Werte werden als Boxplot graphisch dargestellt und zeigen den Median, das erste und dritte Quartil, sowie die Streuung und Ausreißer der F_{ST} -Werte. Die rote gepunktete Linie definiert den Schwellenwert von $F_{ST} > 0.25$. Populationspaare mit höheren Werten gelten als stark differenziert.

Die Hauptkomponenten Analyse (**Principal Component Analysis; PCA**)³ stellt die genetische Struktur aller Populationen einer Art in der Schweiz grafisch dar, anhand von zwei Achsen, für welche die genetische Varianz maximiert wurde (Patterson *et al.* 2006; Novembre *et al.* 2008). Diese zwei Achsen werden Hauptkomponenten oder principal components genannt (nachfolgend PC1 und PC2). Je stärker sich die Populationen auf diesen zwei Achsen voneinander unterscheiden, desto weiter entfernt voneinander erscheinen sie auf der Grafik und desto genetisch unterschiedlicher sind die Populationen. Die PCA ist artspezifisch und kann nicht zwischen Arten verglichen werden. In einer PCA wird angegeben, wie gross der Anteil der genetischen Varianz ist, der durch die erste und zweite Hauptkomponente erklärt werden. Im Beispiel des Baldrian-Schneckenfalters (Abbildung 8) erklärt PC1

² <https://rdr.io/bioc/SNPRelate/> und <https://rdr.io/bioc/SNPRelate/man/snpqdsFst.html>

³ <https://rdr.io/rforge/SNPRelate/man/snpqdsPCA.html>

3.5% der genetischen Varianz und PC2 etwas weniger mit 2.1%. Diese eher tiefen Werte sind normal für genetische Daten, da ein grosser Teil der genetischen Vielfalt durch neutrale Prozesse variiert und somit nicht einer genetischen Populationsstruktur folgt. Ist dieser Wert höher, wie zum Beispiel bei der Kreuzkröte (PC1 15.5%; Abbildung 8) oder der Kartäusernelke (PC1 15.8%; Abbildung 9), deutet dies bereits auf eine starke genetische Struktur hin. In jeder PCA wurde den vier Ecken eine Farbe zugeteilt. Dazwischenliegende Populationen erhalten dadurch eine Mischfarbe. Diese Farben wurden auf die Schweizerkarte übertragen, um die genetische Struktur in der Schweiz darzustellen. Dabei stellen ähnliche Farbtöne, z.B. blau, violett und pink, genetisch divergierte Populationen (oder Metapopulationen) mit reduziertem Genfluss oder sogar divergierte evolutionäre Linien dar. Letztere sind im Gegensatz zu genetisch divergierten Populationen viel stärker und bereits länger divergiert. Evolutionäre Linien entstanden bei vielen Arten während den letzten Eiszeiten, als die Schweiz von Eis bedeckt war und die Arten in unterschiedlichen Refugien überlebten, von welchen sie nach dem Abschmelzen des Eises die Schweiz wieder besiedelten. Somit erlaubt es eine PCA, die postglaziale Wiederbesiedlung und unterschiedliche evolutionäre Linien oder auch verlorene Konnektivität zu erkennen.

Der Baldrian-Scheckenfalter  weist höchstwahrscheinlich drei evolutionäre Abstammungslinien auf (Abbildung 8, pink auf der Alpensüdflanke und in den östlichen Zentralalpen, gelb in den westlichen Zentralalpen und grün in der Nordschweiz), welche sich aber in den Kontaktgebieten kreuzen (Secondary Contact Zone). Über die ganze Schweiz betrachtet sieht man aber auch deutliche Hinweise für Isolierung durch Entfernung, was aus der kontinuierlichen Zunahme der F_{ST} -Werte von 0 bis 0.2 ersichtlich wird (Abbildung 7). Die gelben Populationen in den westlichen Zentralalpen sind divergiert und weisen auch eine tiefere genetische Vielfalt auf (Abbildung 6). Aus Sicht der Vernetzung sind die grünen Populationen im Jura interessant, welche die Verbindung über das Mittelland mit den anderen Populationen der Alpennordflanke verloren haben. Hier wären gezielte Vernetzungsmassnahmen zur langfristigen Erhaltung der Metapopulation und Konnektivität zielführend.

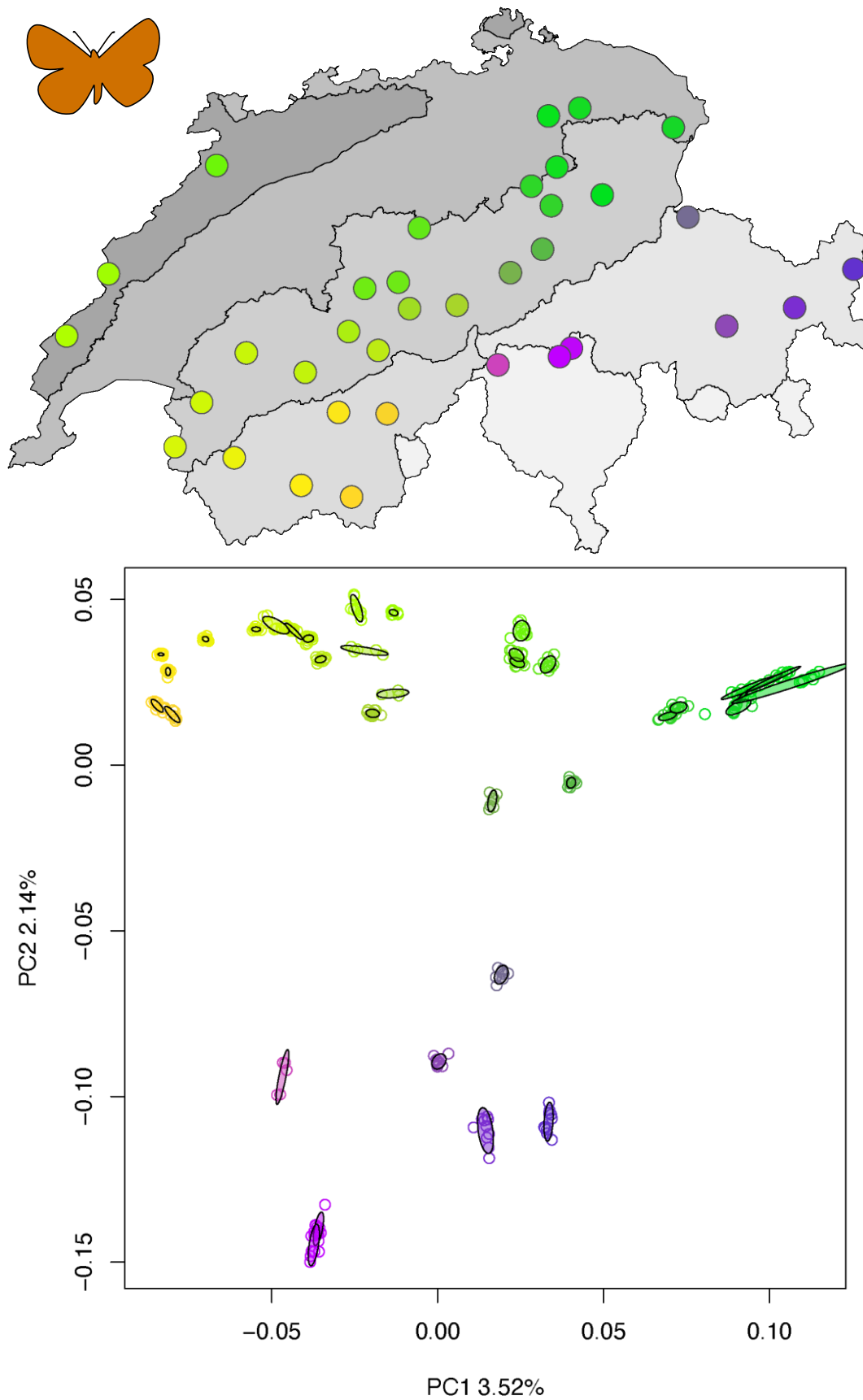


Abbildung 8: Die genetische Struktur des Baldrian-Schneckenfalters  in der Schweiz, dargestellt mit einer Hauptkomponentenanalyse (PCA). Bei der PCA wurde den vier Ecken eine Farbe zugewiesen, so dass die dazwischen liegenden Populationen mit einer Mischfarbe dargestellt wurden. Die Farbe jeder Population wurde auf die Schweizerkarte übertragen, um die genetische Struktur in der Schweiz darzustellen. Die sechs biogeografischen Regionen sind grau schattiert.

Die Kreuzkröte  weist vier Metapopulationen (Abbildung 9; pink, violett, blau und grün) und eine Hybridpopulation (blaugrüne Population bei Basel) auf. Ausserdem wurden mancherorts F_{ST} -Werte von 0.5 oder höher beobachtet (Abbildung 7), was auf reduzierten Genfluss und somit reduzierte Konnektivität hinweist. Aufgrund der beobachteten tiefen genetischen Diversität (Abbildung 6) der Kreuzkröte im westlichen Mittelland und der dort einheitlichen genetischen Struktur (pinke Populationen) wäre gezielte Vernetzungsmassnahmen zum Erhalt dieser Populationen wichtig. Im Weiteren sind die grossen Ellipsen einiger Population in der PCA-Analyse auffällig (Abbildung 9). Dies sind Populationen, welche durch gezielte Translokation von juvenilen Individuen aus anderen Populationen gefördert wurden (Mueller 2016 und pers. Kommentar Benedikt Schmidt).

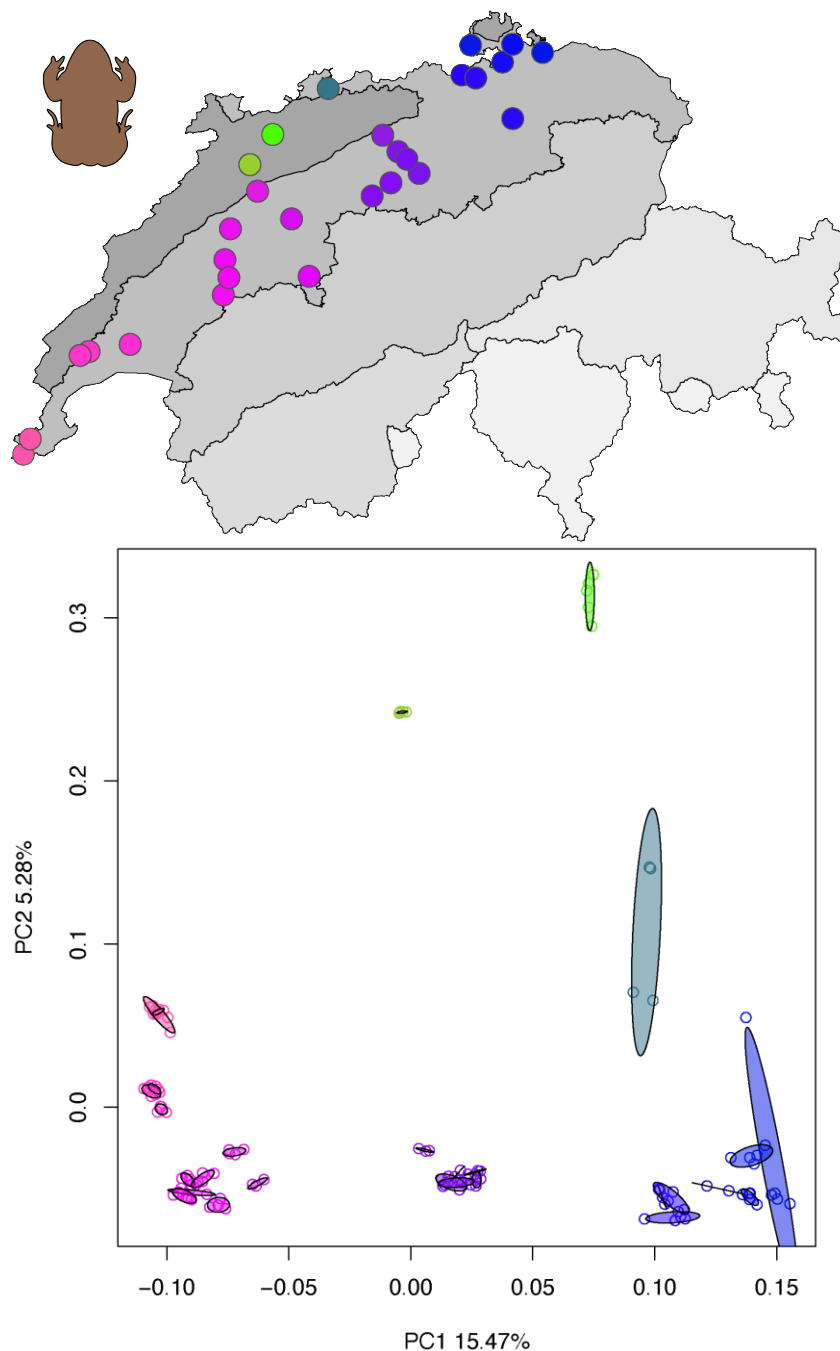


Abbildung 9: Die genetische Struktur der Kreuzkröte  in der Schweiz, dargestellt mit einer Hauptkomponentenanalyse (PCA). Bei der PCA wurde den vier Ecken eine Farbe zugewiesen, so dass die dazwischen liegenden Populationen mit einer Mischfarbe dargestellt wurden. Die Farbe jeder Population wurde auf die Schweizerkarte übertragen, um die genetische Struktur in der Schweiz darzustellen. Die sechs biogeografischen Regionen sind grau schattiert.

Die genetische Struktur der Goldammer  ist in der Schweiz sehr homogen (Abbildung 10, gelbe Punkte), abgesehen von zwei Populationen (grüne und pinke Population). Diese homogene genetische Struktur, wie auch die sehr tiefen F_{ST} -Werte (Abbildung 7), weisen auf eine sehr gute Konnektivität der Goldammerpopulationen hin und ist auch ein Resultat der hohen Mobilität dieser Art. Die grün und pink eingefärbten Populationen erscheinen deutlich unterschiedlich, weil dort Proben von nah verwandten Individuen gesammelt wurden, welches in einer PCA zu solchen Ausreissern führen kann.

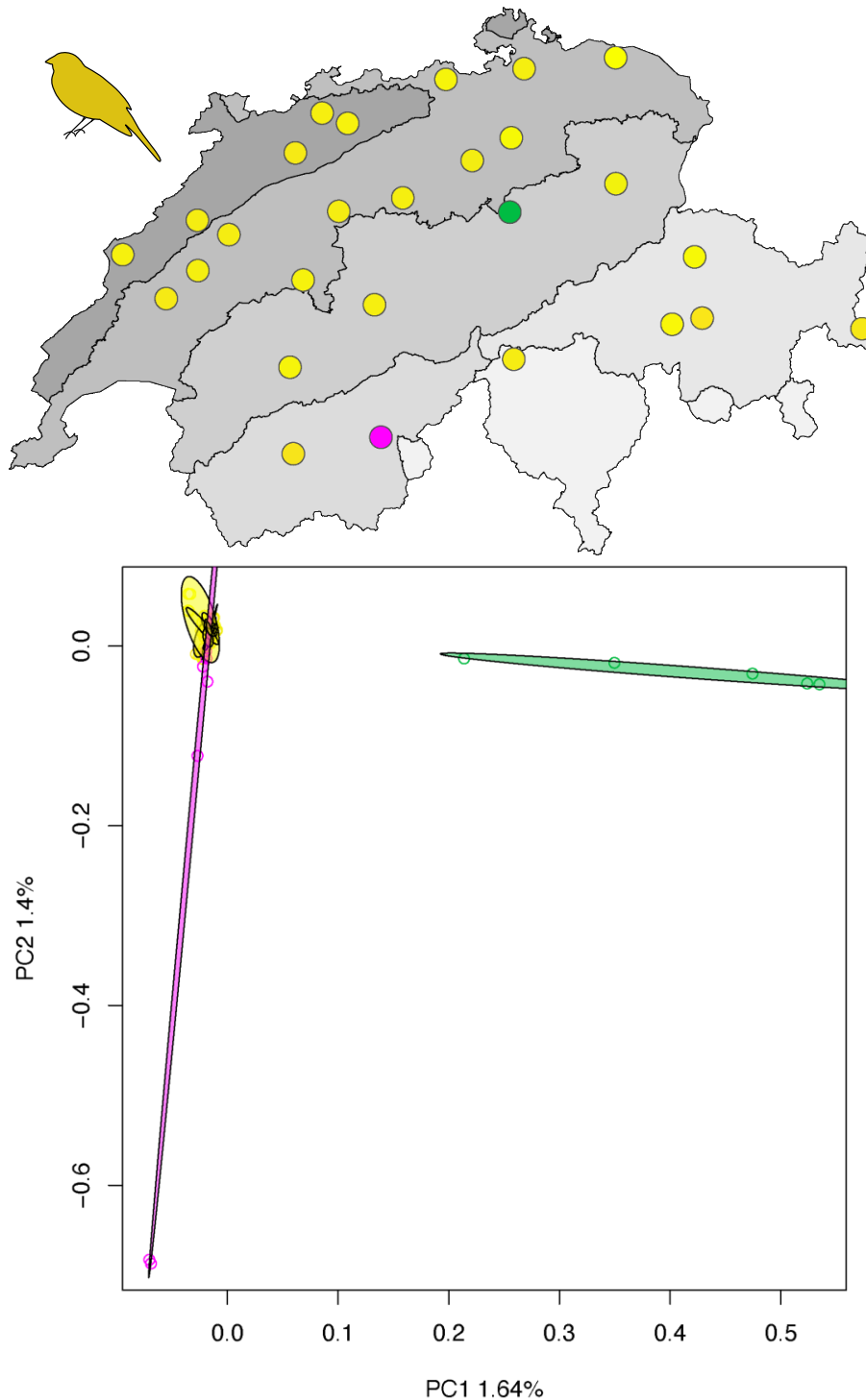


Abbildung 10: Die genetische Struktur der Goldammer  in der Schweiz, dargestellt mit einer Hauptkomponentenanalyse (PCA). Bei der PCA wurde den vier Ecken eine Farbe zugewiesen, so dass die dazwischen liegenden Populationen mit einer Mischfarbe dargestellt wurden. Die Farbe jeder Population wurde auf die Schweizerkarte übertragen, um die genetische Struktur in der Schweiz darzustellen. Die sechs biogeografischen Regionen sind grau schattiert.

Das Scheiden-Wollgras  weist drei evolutionäre Linien auf (Abbildung 11, gelb, grün, pink-violett) auf, mit nur schwach divergierten Populationen innerhalb dieser evolutionären Linien. Die grüne Linie im Wallis hat auch die tiefste genetische Vielfalt (Abbildung 6), gefolgt von der gelben Linie. Populationen der pinken evolutionären Linie haben durchschnittlich die höchste genetische Vielfalt und sind auch im Mittelland zu finden. Dies erklärt, weshalb wir bisher trotz der erfolgten massiven Habitatverluste im Mittelland die erwartete Reduktion der genetischen Vielfalt nicht beobachten. Über die ganze Schweiz betrachtet sieht im Weiteren Hinweise für Isolierung durch Entfernung, welche durch ein Kontinuum der F_{ST} -Werte von 0 bis 0.4 ersichtlich ist (Abbildung 7).

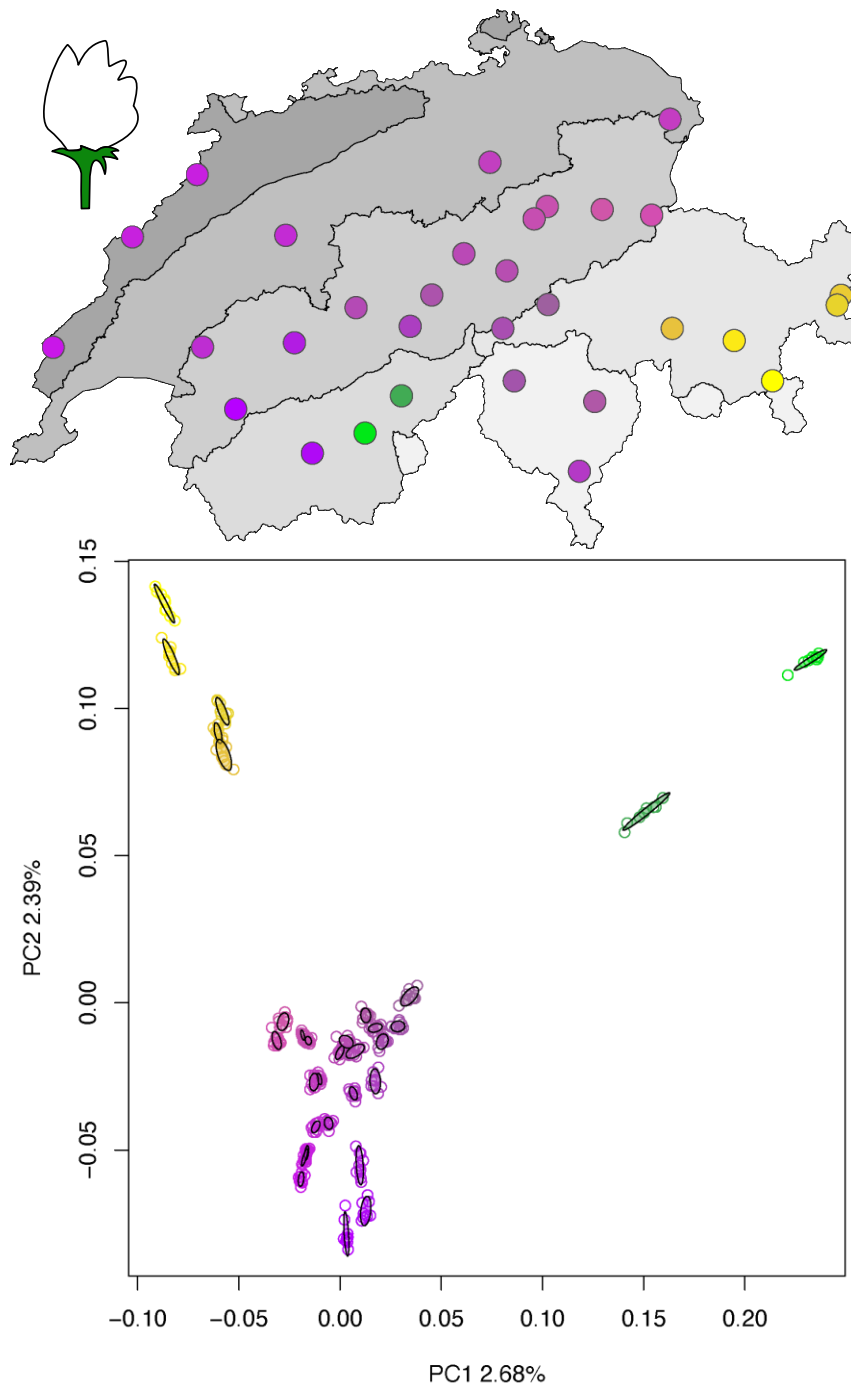


Abbildung 11: Die genetische Struktur des Scheiden-Wollgras  in der Schweiz, dargestellt mit einer Hauptkomponentenanalyse (PCA). Bei der PCA wurde den vier Ecken eine Farbe zugewiesen, so dass die dazwischen liegenden Populationen mit einer Mischfarbe dargestellt wurden. Die Farbe jeder Population wurde auf die Schweizerkarte übertragen, um die genetische Struktur in der Schweiz darzustellen. Die sechs biogeografischen Regionen sind grau schattiert.

Die Kartäusernelke  weist drei überraschend stark divergierte evolutionäre Linien in der Schweiz auf (Abbildung 12, verschiedene Farben), welche mit teilweise sehr hohen F_{ST} -Werten von über 0.5 (Abbildung 7) auf sehr starke Divergenz und eingeschränkte Konnektivität hinweisen. Bei den F_{ST} -Werten in Abbildung 7 wird auch ersichtlich, dass kein Kontinuum der F_{ST} -Werte besteht, sondern klar differenzierte Gruppen mit Werten von 0.2-0.3, gefolgt von 0.4-0.55. Dies zeigt deutlich, dass es keinen Genfluss zwischen diesen Linien gibt. Diese starke Divergenz ist aber nicht durch den Menschen verursacht worden, sondern die Folge von unterschiedlichen glazialen Refugien während der letzten Eiszeit. Diese bedeutet aber, dass bei der Kartäusernelke darauf geachtet werden muss, dass bei Renaturierungs- oder Begrünungsmassnahmen nur lokales Saatgut verwendet wird, um mögliche negative Konsequenzen bei einer Vermischung dieser sehr stark divergierten Linien zu vermeiden. Im Abschnitt 1.8.1 gehen wir mit detaillierten Zusatzanalysen weiter auf diese Problematik ein.

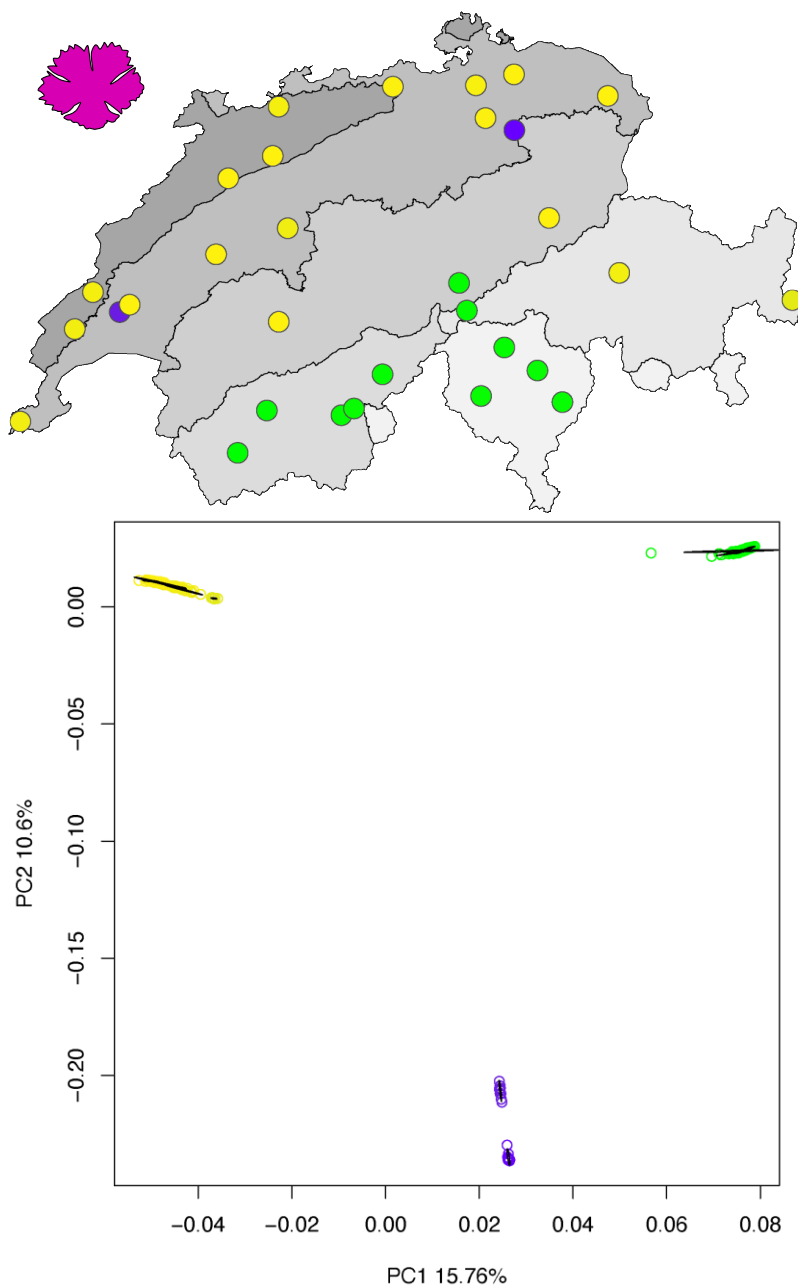


Abbildung 12: Die genetische Struktur der Kartäusernelke  in der Schweiz, dargestellt mit einer Hauptkomponentenanalyse (PCA). Bei der PCA wurde den vier Ecken eine Farbe zugewiesen, so dass die dazwischen liegenden Populationen mit einer Mischfarbe dargestellt wurden. Die Farbe jeder Population wurde auf die Schweizerkarte übertragen, um die genetische Struktur in der Schweiz darzustellen. Die sechs biogeografischen Regionen sind grau schattiert.

Kernbotschaften: Konnektivität und genetische Struktur

- Mit Hilfe von genetischen Daten kann man messen, wie stark sich Populationen voneinander unterscheiden, wie stark der Genfluss zwischen Populationen ist/war und ob es (postglaziale) evolutionäre Linien gibt, welche bei Biodiversitätsfördermassnahmen berücksichtigt werden müssen.
- Der Baldrian-Schneckenfalter  und die Goldammer  haben eher gut vernetzte Populationen (hohe Konnektivität), während die Populationen der Kreuzkröte  differenzierter und isolierter sind und die Kartäusernelke  genetisch stark unterschiedliche evolutionäre Linien aufweist.
- Diese Analyse ermöglicht eine Wirkungskontrolle getroffener Massnahmen (Translokationen Kreuzkröte ) und eine Kontrolle bei der Vorbereitung von Massnahmen (Überprüfung von Saatgut bei der Kartäusernelke ) , siehe Kapitel 1.8.1.
- Diese Resultate können hilfreich sein für die Planung und Priorisierung der ökologischen Infrastruktur (öl), vor allem in Regionen, von denen wir wissen, dass es in der Vergangenheit Genfluss gab, dieser aber heute stark beeinträchtigt ist oder sogar fehlt.

1.7.4 Inzucht

Inzucht zeigt sich darin, dass beide (von jeweils einem Elternteil vererbten) Allele eines Genorts identisch sind, weil die Eltern mindestens einen gemeinsamen Vorfahren hatten und somit wenigstens eines ihrer beiden Allele identisch ist (Curik *et al.* 2014; Brüniche-Olsen *et al.* 2018). Der **Inzuchtwert** F_{ROH} (**ROH = Runs of Homozygosity** = lange Abschnitte im Genome ohne genetischen Vielfalt) berechnet den prozentualen Anteil des Erbguts, der keine genetische Vielfalt mehr aufweist (Narasimhan *et al.* 2016). Der Wertebereich liegt zwischen 0 (keine Inzucht) und 1 (100% des Erbguts sind identisch). Letzteres würde bedeuten, dass ein Individuum ein Klon eines anderen Individuums ist. Je weiter der gemeinsame Vorfahre in der Vergangenheit liegt, desto kürzer sind die einzelnen Abschnitte ohne genetische Vielfalt (ROHs) und umgekehrt (Abbildung 13). So lässt sich ungefähr datieren, von wann (Zeit in Generationen in der Vergangenheit) die Blöcke (homologer Chromosomen des gemeinsamen Vorfahren) ohne genetische Vielfalt stammen.

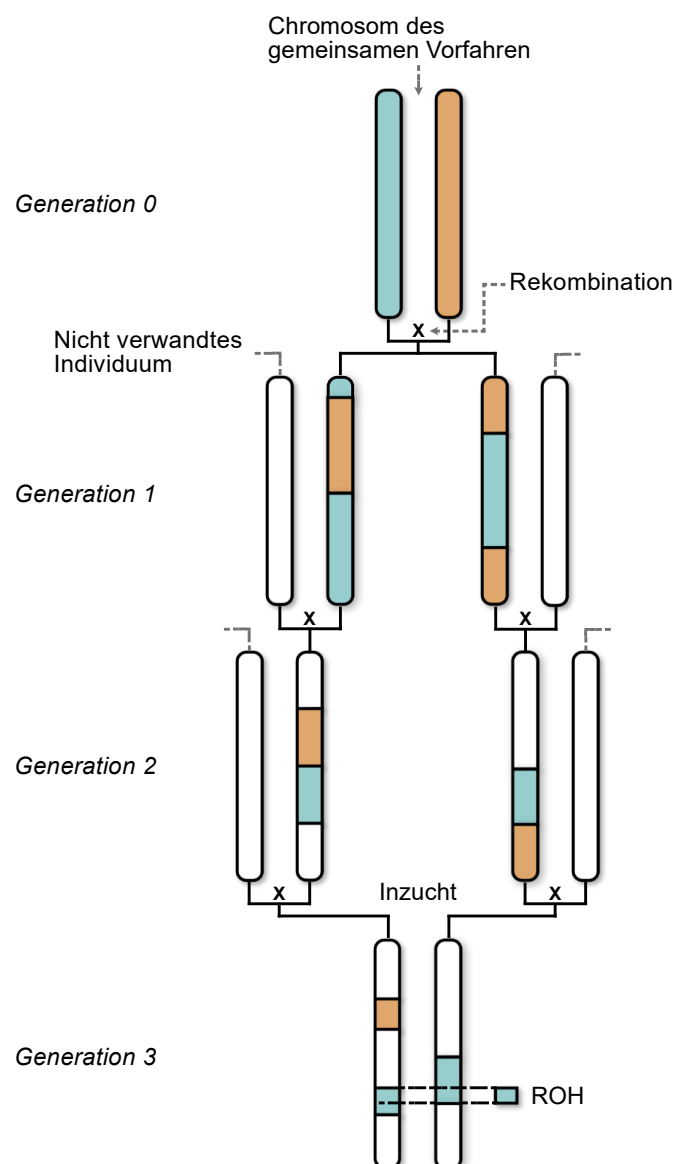


Abbildung 13: Schematische Darstellung der Bildung von Runs of Homozygosity (ROH) durch Inzucht in einem diploiden Genom. In Türkis und Orange sind die Chromosomensegmente dargestellt, die von den homologen Chromosomen des gemeinsamen Vorfahren stammen und bei jeder Generation neu kombiniert werden. Weisse Teile der Chromosomen werden von nicht verwandten Individuen vererbt. Modifiziert von (Brüniche-Olsen *et al.* 2018)

Ein grosser Vorteil des F_{ROH} Indikators ist, dass er zwischen den Arten und Individuen direkt vergleichbar ist. Bei den mehr als 1'200 erfolgreich sequenzierten Individuen fanden wir sehr unterschiedliche Inzuchtwerte. Diese reichten von 0.1% bis zu mehr als 50% des gesamten Erbguts eines Individuums, das keine Vielfalt mehr aufweist (Abbildung 14). Der durchschnittliche individuelle F_{ROH} -Anteil bei der Kreuzkröte  ist mit etwa 25% am höchsten, gefolgt von Scheiden-Wollgras  mit 12%, der Kartäusernelke  mit 7%, dem Baldrian-Schneckenfalter  mit 3% und der Goldammer  mit 2.6% (Abbildung 15). Bei allen Arten fanden wir auch Individuen mit sehr niedrigen Inzucht-Werten von <1% (Abbildung 16).

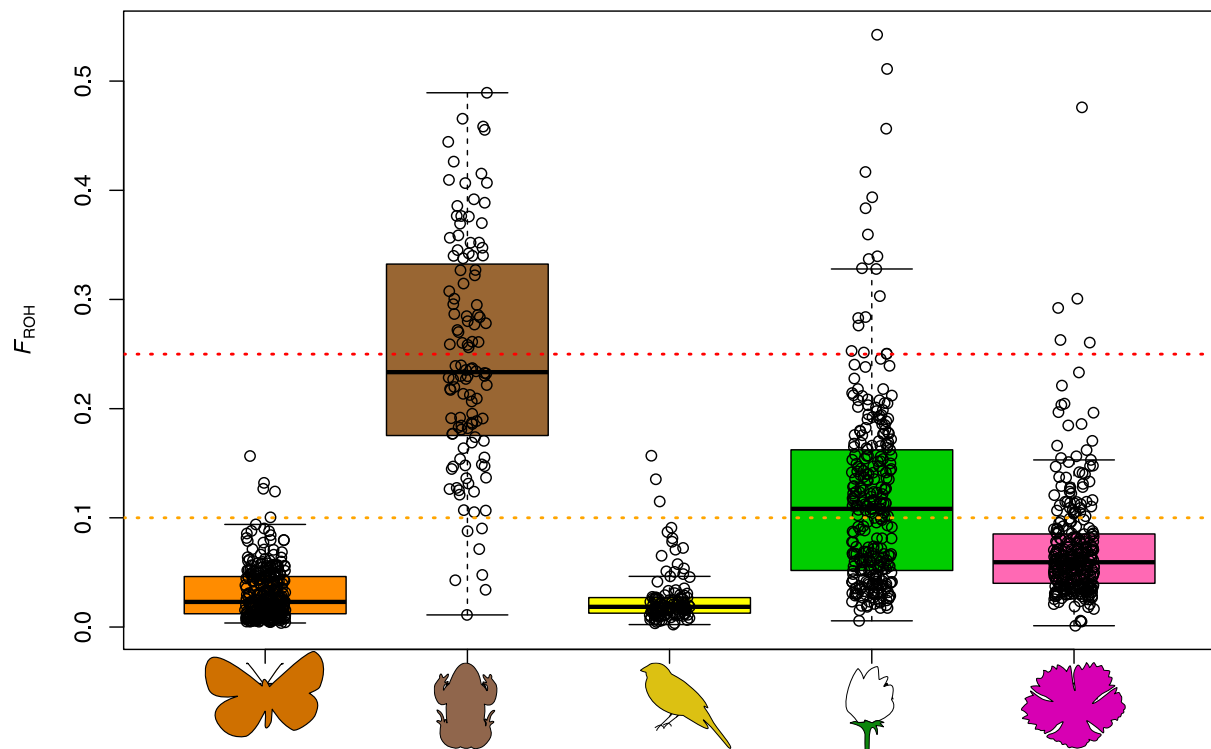


Abbildung 14: F_{ROH} -Werte pro Art und Individuum (schwarzen Punkte). Die Werte werden als Boxplot graphisch dargestellt und zeigen den Median, das erste und dritte Quartil, sowie die Streuung und Ausreißer der F_{ROH} -Werte. Die orange gepunktete Linie definiert den bedenklichen Schwellenwert von $F_{ROH} > 0.10$ und die rot gepunktete Linie definiert den besorgniserregenden Schwellenwert von $F_{ROH} > 0.25$.

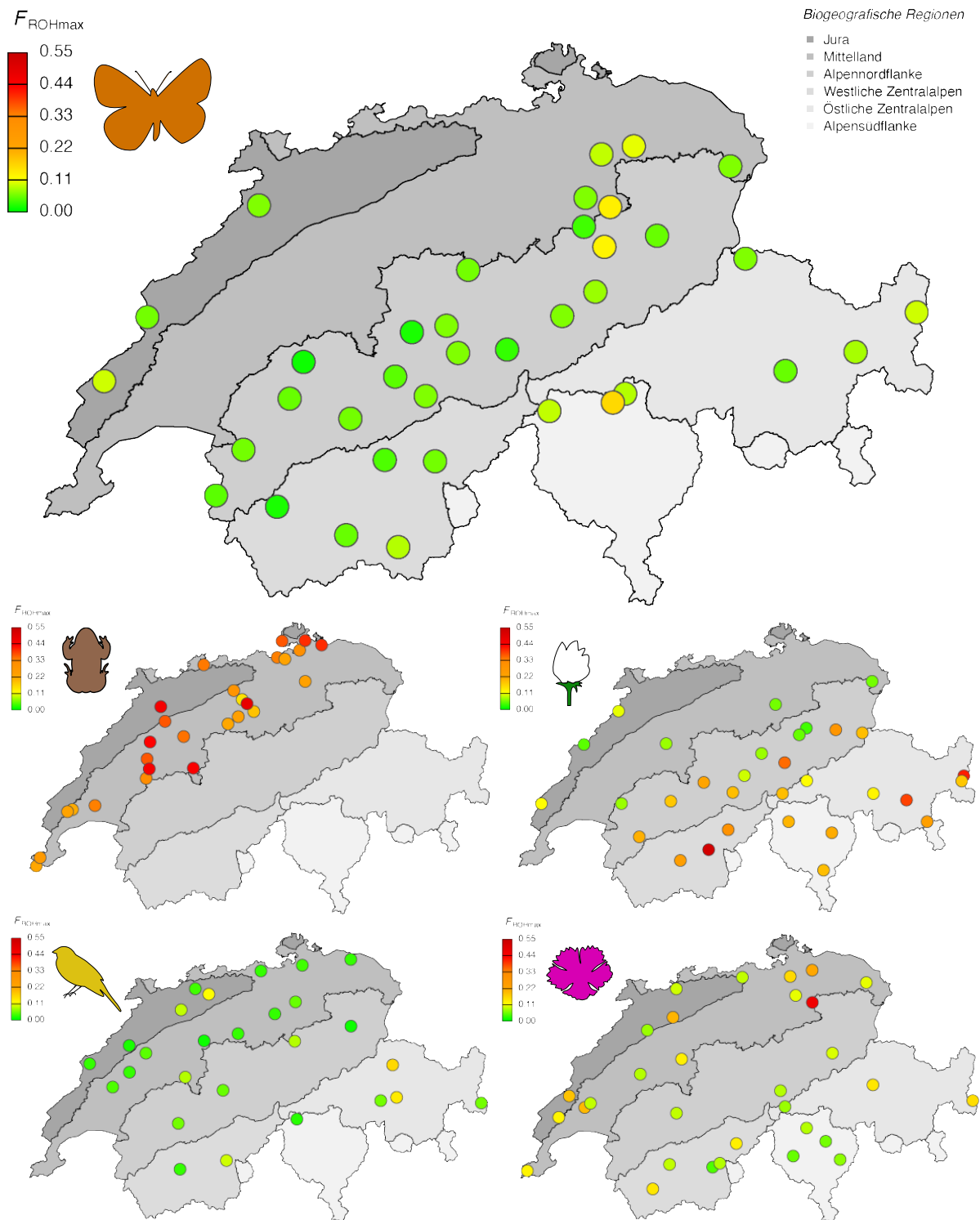


Abbildung 15: Maximales individuelles Inzuchtniveau (F_{ROH}) pro Population der einzelnen Arten. Die Skala der Inzuchtwerte ist fixiert für alle Arten, sodass ein Vergleich zwischen den Arten möglich ist. Die Graustufen verweisen auf die sechs biogeografischen Regionen der Schweiz.

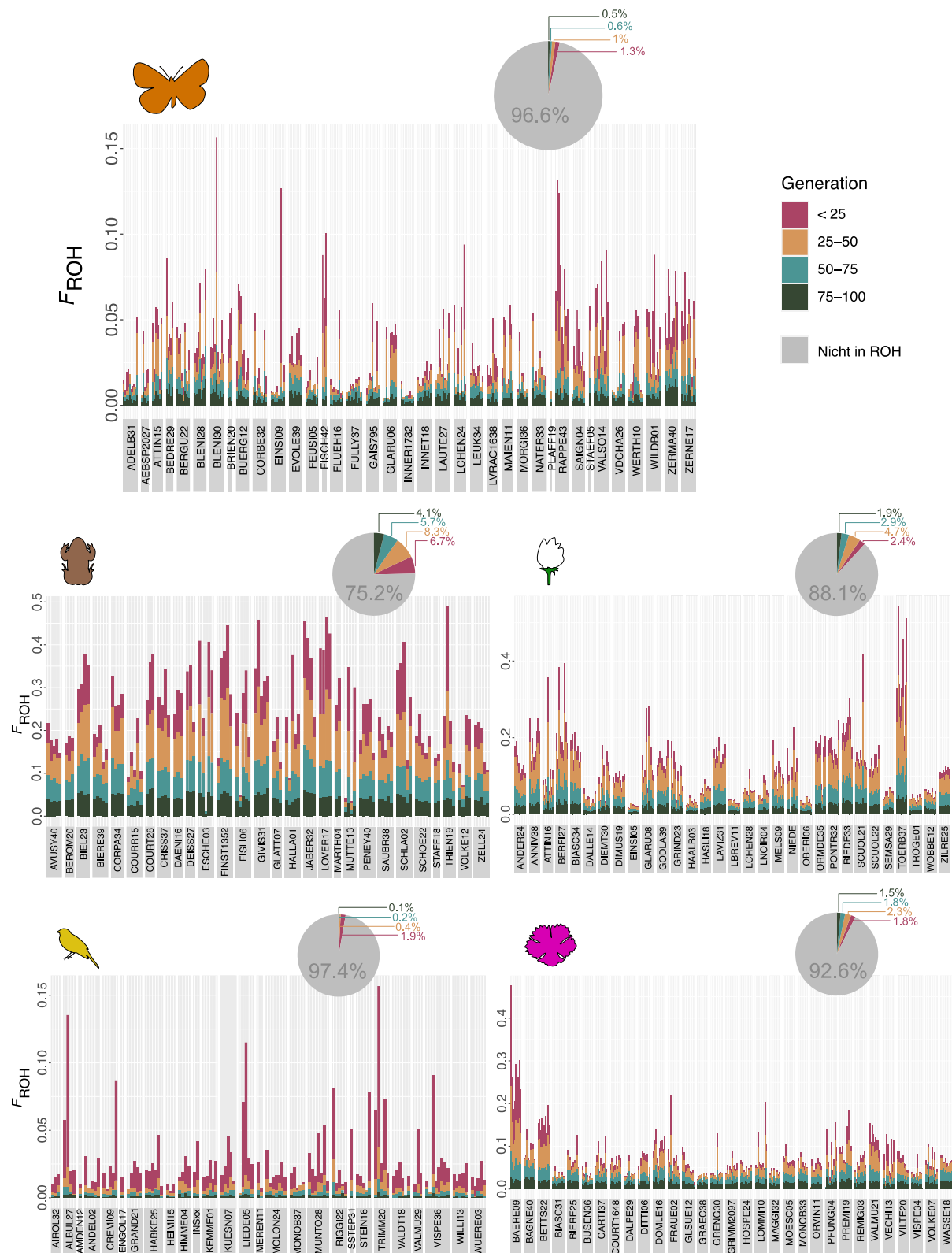
Der Baldrian-Scheckenfalter  weist relativ niedrige Inzuchtwerte auf (Abbildung 15). Der Einfluss von Inzuchtblöcken aus älteren Generationen (100-50 Generationen in der Vergangenheit) auf F_{ROH} in allen Populationen ist durchwegs gering, was darauf hindeutet, dass diese Populationen in der Vergangenheit ausreichend gross oder gut vernetzt waren, so dass Inzucht sehr selten war (Abbildung 16). In einigen Populationen wie FULLY37, INNER1732 und INNET18 weisen alle Individuen einen sehr niedrigen

F_{ROH} -Wert auf (<0.026 ; Abbildung 16), was zeigt, dass diese Populationen auch in jüngster Zeit keine Inzucht erfahren haben. Die übrigen Populationen weisen, zumindest bei einigen Individuen, relativ hohe Werte auf (Abbildung 15), die auf Vorfahren in den letzten 50 Generationen zurückgehen. Dies bedeutet, dass Inzucht in den letzten 50 Generationen häufiger geworden ist. Die Populationen FISCH42, RAPPE43, VALSO14 und ZERMA40 sollten weiter beobachtet werden, da in diesen fast alle Individuen einen überdurchschnittlich hohen F_{ROH} -Wert aufweisen mit einem hohen Anteil an F_{ROH} , der aus den letzten 25 Generationen stammt. Für den Baldrian-Schneckenfalter ist das derzeitige Ausmass der Inzucht in den meisten Populationen nicht problematisch, aber es gibt Anzeichen, dass Inzucht in jüngster Zeit zugenommen hat.

Die Kreuzkröte  weist von allen Arten den höchsten Grad an Inzucht auf (Abbildung 15), wobei die Individuen im Durchschnitt 25% ihres Genoms in ROHs haben. Dies entspricht einer Paarung zwischen Vater und Tochter. Der minimale mittlere F_{ROH} -Wert pro Population beträgt 0.14, was zeigt, dass alle untersuchten Populationen in der Schweiz stark von Inzucht betroffen sind. Ein beträchtlicher Teil des F_{ROH} , der etwa 10% des Kreuzkröten-Genoms ausmacht, lässt sich auf Inzuchtblöcken aus älteren Generationen (100-50) zurückverfolgen, was darauf hindeutet, dass die effektive Populationsgrösse (N_e) bereits in der Vergangenheit klein war. Aber in der Mehrzahl der untersuchten Populationen weisen auch die jüngeren ROHs (< 50 Generationen) einen grösseren Anteil an F_{ROH} aus (Abbildung 16). Die bereits hohen Inzuchtwerte sind somit weiter gestiegen, wahrscheinlich als Folge eines Rückgangs der Populationsgrössen und Vernetzung. Besonders besorgniserregend sind zwei Regionen im Nordwesten und Nord-Nordosten des Mittellandes, in denen die Populationen mit dem höchsten durchschnittlichen F_{ROH} (> 0.3) vorkommen. Interessanterweise beobachten wir in der Region Nord-Nord-Ost, inmitten von hoch ingezüchteten Individuen, in Populationen wie ESCHE03, FISLI06 und HALLA01 einige Individuen mit auffallend niedrigem F_{ROH} (Abbildung 16). Diese sind höchstwahrscheinlich das Ergebnis von erfolgreichen Translokationen, die seit 2007 durchgeführt wurden und auch heute noch durchgeführt werden (Pers. Kommentar Benedikt Schmidt und Mueller 2016).

Die Goldammer  hat die wenigsten ROH pro Individuum und im Durchschnitt die niedrigsten Inzucht-Werte (F_{ROH}) unter den fünf Arten (Abbildung 15). Alle Individuen haben so gut wie kein ROHs, die von Vorfahren vor >50 Generationen stammen, somit war Inzucht in der Vergangenheit nahezu inexistent. Wir stellten aber fest, dass die ROHs die <25 Generationen zurückliegen einen relativ grösseren Anteil an F_{ROH} ausmachen (Abbildung 16). Die Inzucht hat in gewissen Regionen somit deutlich zugenommen. Darüber hinaus weisen die Individuen mit den höchsten F_{ROH} -Werten (>0.05) alle sehr lange ROHs auf, was zeigt, dass Paarungen zwischen sehr eng verwandten Individuen stattgefunden haben, die nur 1 bis 4 Generationen zurück liegen. Detailliertere Auswertung im Zusammenhang mit ab- und zunehmender Brutpaardichte finden sich in Kapitel 1.8.2.

Das Scheiden-Wollgras  weist die grösste Bandbreite an F_{ROH} -Werten auf, die von 0.06 bis 0.542 reichen. In den Populationen mit einem niedrigen mittleren F_{ROH} -Wert von <0.07 , die hauptsächlich im Mittelland und im Jura liegen, gehen die ROHs überwiegend auf ROH-Blöcke, die von Vorfahren stammen, die >25 Generationen zurückliegen (Abbildung 16), und fast gar nicht auf jüngere Vorfahren. Somit waren Paarungen zwischen eng verwandten Individuen selten und die Inzuchtrate blieb im Laufe der Zeit weitgehend konstant. In den übrigen Populationen, vor allem in den Alpen (Abbildung 15), war der mittlere F_{ROH} -Wert höher, und wir beobachten mehr ROHs, die auf die letzten 25 Generationen zurückgehen. Individuen dieser Populationen sind eng miteinander verwandt und haben in jüngerer Zeit Inzucht betrieben. In den Alpen kam es bei den bereits kleinen und stärker isolierten Populationen vor >25 Generationen zu einem Anstieg der Inzucht, wahrscheinlich wegen einer Kombination von Lebensraumverlust und Isolation. Die Inzucht hat in vielen Populationen ein besorgniserregendes Ausmass erreicht (F_{ROH} -Wert >0.1). Besonders besorgniserregend sind BERFI27 und RIEDE33 ($F_{ROH} = 0.23$), sowie TOERB37 ($F_{ROH} = 0.37$), die die höchsten Inzuchtwerte aufweisen. Solch hohe Werte könnten zu einem erheblichen Rückgang der genetischen Vielfalt führen und negative Folgen haben, wie zum Beispiele Inzuchtdepression (reduzierte Fitness).



Bei der Kartäusernelke  gibt es Populationen mit niedrigen Inzuchtwerten ($F_{ROH} < 0.05$), bei denen der grösste Anteil der Inzuchtblöcken (ROHs) von Vorfahren stammt, die >50 Generationen zurückliegen (Abbildung 16). Die Paarung zwischen eng verwandten Individuen ist folglich nicht häufig. Populationen mit F_{ROH} -Wert von >0.1 weisen einen höheren Anteil an Inzuchtblöcken (ROHs) auf, die jünger als 50 Generationen sind, diese Populationen haben somit in jüngerer Zeit sehr viel mehr Inzucht erfahren. Hier spielt teilweise die künstliche Ansaat eine Rolle, welche in Kapitel 1.8.1 diskutiert wird.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die räumliche Verteilung von Inzucht artspezifisch ist und von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden kann, darunter die evolutionäre Abstammung (Abbildung 8 und Abbildung 9), die frühere Demografie, die Verteilung des Lebensraums und die Konnektivität. Wie in den Fällen der Kreuzkröte, des Scheiden-Wollgrases und der Kartäusernelke beobachtet, ist Inzucht nicht ausschließlich ein aktuelles Problem, da ein erheblicher Teil der Inzucht über mindestens 100 Generationen zurückverfolgt werden kann. Besorgniserregend ist, dass der jüngste Anstieg der Inzuchtrate in diesen Populationen dazu führen kann, dass die Individuen ein sehr hohes Inzuchtniveau erreichen. Auch wenn unsere Daten allein keine direkten Rückschlüsse auf negative Effekte auf die Fitness zulassen, ist es doch sehr wahrscheinlich, dass ein solch hoher Inzuchtgrad zu einer Inzucht-Depression führen kann. Bei der Goldammer und dem Baldrian-Scheckenfalter erreichte der Inzuchtrate keine derart hohen Werte, trotzdem sind die sehr rezenten Inzuchtwerte einiger Populationen besorgniserregend, da die Inzucht für diese Arten ein neues und wahrscheinlich anthropogen verursachtes Problem darstellt.

Kernbotschaften: Inzucht

- Der Inzuchtwert berechnet den prozentualen Anteil des Erbguts eines Individuums, welcher keine genetische Vielfalt mehr aufweisen. Ein hoher Inzuchtwert geht in der Regel mit abnehmender Fitness einher, erhöht also das Aussterberisiko einer Art.
- Der Inzuchtwert F_{ROH} ist zwischen den Arten und Individuen direkt vergleichbar.
- Der Baldrian-Scheckenfalter  und die Goldammer  weisen relativ niedrige Inzuchtwerte auf. In beiden Arten gibt es jedoch Populationen, in denen es in der unmittelbaren Vergangenheit zu Inzucht kam. Diese Populationen sollten in Zukunft überwacht werden.
- Zahlreiche Populationen der Kreuzkröte  und des Scheiden-Wollgrases  sind stark von Inzucht betroffen.

1.7.5 Adaptive genetischen Vielfalt

Die **adaptive** bzw. **anpassungsrelevante genetische Vielfalt** umfasst den Bereich der genetischen Vielfalt, welcher für die Fitness einer Art von Bedeutung ist (Bonin *et al.* 2007; Kardos *et al.* 2021). Die adaptive genetische Vielfalt beschreibt also die Fähigkeit einer Art, in Abhängigkeit der sie umgebenden und sich verändernden Umweltbedingungen weiter zu bestehen. Sie wurde anhand einer Redundanzanalyse (RDA) mit sechs Umwelt- und Klimavariablen geschätzt (Dixon 2003; Capblancq *et al.* 2020). Bei der RDA handelt es sich um eine zweistufige Analyse, bei der genetische und umweltbezogene Daten mittels multivariater linearer Regression analysiert werden. Dann wird die PCA der angepassten Werte verwendet, um kanonische Achsen zu erstellen, die lineare Kombinationen der Prädiktoren sind. In dieser Studie korrigieren wir für die Populationsstruktur jeder Art, indem wir eine pRDA (partiale Redundanz Analyse) verwendet. Die verwendeten sechs unkorrelierten Umwelt- und Klimavariablen sind:

- Jährliche Durchschnittstemperatur (°C) JT
- Temperatur Saisonalität TS
- Isothermie IT
- Jährliche Niederschlagsmenge (mm) JN
- Niederschlags Saisonalität NS
- Mittlere Temperatur des nassesten Vierteljahres MTNV

Die Umweltvariablen wurden für jedes Individuum anhand der Beprobungs-Koordinaten aus der CHELSA Datenbank (<https://chelsa-climate.org>, Karger *et al.* 2017) extrahiert. Da diese Analysen sehr rechenintensiv sind, wurden sie für alle fünf Arten anhand von 2 Millionen zufällig ausgewählten SNPs durchgeführt. Mit der RDA kann bestimmt werden, wie gross der Prozentsatz der schweizweiten genetischen Vielfalt ist, der mit den sechs Umwelt- und Klimavariablen erklärt werden kann. Somit wird nur die umweltrelevante adaptive genetische Vielfalt abgeschätzt, nicht aber diejenige, die für biotische Interaktionen, wie zum Beispiel die Anpassung an Schädlinge oder Konkurrenz, relevant ist.

Tabelle 6: Adaptive genetische Vielfalt (AdaGenDiv) in Bezug auf sechs unkorrelierte Umwelt- und Klimavariablen.

Art	Adaptive genetische Vielfalt (%)	Umwelt- und Klimavariablen mit der		
		höchsten AdaGenDiv	zweithöchsten AdaGenDiv	tiefsten AdaGenDiv
Baldrian-Scheckenfalter	3.9%	JN	TS	MTNV
Kreuzkröte	7.9%	IT	MTNV	JT
Goldammer	5.2%	TS	TS	MTNV
Scheiden-Wollgras	7.8%	TS	JN	IT
Kartäusernelke	3.0%	TS	JT	NS

So lassen sich mit diesem Indikator 7.8% der gesamten genetischen Variation der 31 Scheiden-Wollgras-Populationen durch die sechs Umwelt- und Klimavariablen erklären (Tabelle 6), wobei die jährliche Niederschlagsmenge (JN) und Temperatur Saisonalität (TS) den grössten Teil der adaptiven genetischen Vielfalt erklärt. Interessanterweise korrelieren die Werte nicht mit der Grösse der klimatischen Nische einer Art (Abbildung 3). So hat die Kreuzkröte in Abbildung 3 eine sehr kleine klimatische Nische und die Analyse ergab eine adaptive genetische Vielfalt von 7.9%. Dies ist deutlich mehr als die 3.8% des Baldrian-Scheckenfalters und 5.2% der Goldammer, welche eine grosse klimatische Nische besetzen. Der tiefe Wert von nur 3.0% bei der Kartäusernelke muss mit Vorsicht interpretiert werden, da fast 50% der Nelken-Populationen künstlich angesät wurden (siehe Kapitel 1.8.1) wodurch die adaptive genetische Vielfalt wahrscheinlich unterschätzt wird. Interessant ist zu

sehen, dass temperaturbezogene Umweltfaktoren, vor allem die Temperatur-Saisonalität, den grössten Anteil der adaptiven genetischen Vielfalt der fünf Arten erklären (Tabelle 6).

Dieser Indikator gibt im Moment nur einen Referenzwert der adaptiven genetischen Vielfalt und es fehlt noch die Erfahrung über die Aussagekraft und Präzision dieses Ansatzes. Für den Indikator der adaptiven genetischen Vielfalt gibt es somit noch ein grosses Potenzial für die Weiterentwicklung.

Kernbotschaften: Adaptive genetische Vielfalt

- Indikator zur Einschätzung des Potenzials einer Art, sich an veränderte Umweltbedingungen und den Klimawandel anzupassen (Resilienz einer Population).
- Die erhobene Werte sind erste Referenzwerte und nur mit einer wiederholten Messung können Veränderungen detektiert und Aussagen über die Veränderung und ihre Konsequenzen gemacht werden. Es fehlen Erfahrungs- und Referenzwerte.

1.7.6 Effektive Populationsgrösse (N_e)

Die **effektive Populationsgrösse (N_e)** ist ein Schätzer der vereinfacht gesagt zeigt, wie viele Individuen einer Population effektiv an der Fortpflanzung beteiligt sind (Waples 2023). N_e ist daher natürlicherweise kleiner als die Zensus-Populationsgrösse (N_c), die alle Individuen einer Population umfasst (Hoban *et al.* 2020). N_e basiert auf den Annahmen für eine idealisierten Population, die sich zufällig fortpflanzt und keine Mutationen, keinen Genfluss und keine Selektion aufweist. Verschiedene N_e -Schwellenwerte ($N_e < 50$, $N_e < 500$, $N_e > 500$) geben an, wie stark sich genetische Drift, also die zufällige Änderung der Frequenz eines Allels (unterschiedlichen Varianten eines Gens) in der Population, auf Populationen auswirken kann. Bei einem Schwellenwert von $N_e > 500$ sollte eine Population genügend gross sein, damit genetische Diversität nicht durch Drift verloren geht und die Population entsprechend langfristig überleben kann. Bei einem Schwellenwert von $N_e < 500$ ist dies nicht mehr gegeben und es sollten Massnahmen ergriffen werden, um die effektive Populationsgrösse zu erhöhen und diese langfristig zu erhalten, z.B. durch Förderung der Konnektivität. Bei einem Wert von $N_e < 50$ ist eine Population durch die zufällige Fixierung von Allelen durch genetische Drift und die Zunahme der Inzucht vom Aussterben bedroht. Die effektive Populationsgrösse kann mit genetischen Daten retrospektiv berechnet werden (Santiago *et al.* 2020) wodurch Veränderungen von N_e im Verlauf der letzten 100 Generationen abgeschätzt werden können. Die Generationszeit des Baldrian-Scheckenfalters beträgt ein Jahr. Für die anderen Arten ist die Generationszeit höher. Für die Berechnung von N_e sind qualitativ hochwertige Referenzgenome auf Chromosomenebene erforderlich, insbesondere um genaue Schätzungen der letzten 10 Generationen.

Der Baldrian-Scheckenfalter  hat ein N_e von deutlich > 500 und wies auch in den letzten 10 Generationen eine hohe effektive Populationsgrösse auf (Tabelle 7). Die populationsspezifischen N_e -Kurven für die vergangenen 100 Generationen zeigen Populationen, welche abnehmen, aber auch solche, welche seit 40 oder weniger Generationen wieder zunehmen (Abbildung 17). Gründe für diesen positiven Trend sind schwer zu eruieren, aber sie sind sicher die Konsequenz von erhöhter Konnektivität und wachsenden Populationsgrössen. Eine mögliche Erklärung könnten Folgen der Stürme Lothar (1999) und Vivian (1990) gewesen sein, welche zu lichterem und offeneren Wäldern geführt haben. Diese Frage müsste aber weiter untersucht und andere Erklärungsmöglichkeiten überprüft werden.

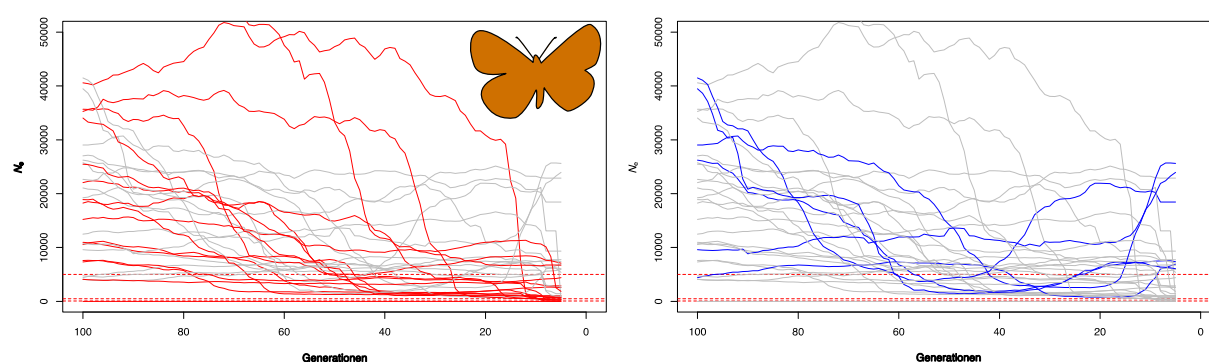


Abbildung 17: Die effektive Populationsgrösse (N_e) der 31 untersuchten Populationen des Baldrian-Scheckenfalters im Verlauf der letzten 100 Generationen mit abnehmendem N_e in rot (links) und zunehmendem N_e in blau (rechts). Die drei rot gepunkteten Linien sind $N_e = 50$, 500 und $5'000$.

Tabelle 7: Die geschätzten effektiven Populationsgrössen (N_e) der fünf Arten zu drei verschiedenen Zeitpunkten: ~kontemporär, vor 50 Generationen und vor 100 Generationen

Art	N	Erste errechneter N_e Wert nach x Generationen	Schwellenwert	N_e (x+10G)	N_e (45-55G)	N_e (90-100G)
Scheckenfalter	35	5	<50	1	1	1
			<500	1	0	0
			>500	29	30	30
			Fehlende Daten	4	4	4
			Durchschnitt	6'628	11'582	20'819
			Min	3	3	3
			Max	23'222	48'138	64'898
Kreuzkröte	29	10	<50	3	3	3
			<500	1	1	1
			>500	1	1	1
			Fehlende Daten	15*, 8†	15*, 8†	15*, 8†
			Durchschnitt	199	221	208
			Min	5	6	6
			Max	588	623	560
Goldammer	27	9	<50	0	0	0
			<500	0	0	0
			>500	17	17	17
			Fehlende Daten	15*	15*	15*
			Durchschnitt	3'661'461	3'875'027	3'862'058
			Min	2'648'492	2'983'841	2'94'2944
			Max	4'493'601	4'657'150	4'713'760
Scheiden-Wollgras	31	5	<50	1	0	0
			<500	21	5	1
			>500	9	26	30
			Fehlende Daten	0	0	0
			Durchschnitt	385	1'454	2'803
			Min	12.9	119	162
			Max	2'247	4'337	9'907
Kartäusernelke	31	5	<50	2	2	3
			<500	11	0	0
			>500	17	28	27
			Fehlende Daten	1	1	1
			Durchschnitt	2'070	5'766	5'786
			Min	3	3	3
			Max	13'237	21'544	23'605

*es braucht mindesten 5 Individuen für eine zuverlässige Schätzung.

† Schätzwert dieser Populationen wird als unzuverlässig eingeschätzt aufgrund Verletzung der Modellannahmen.

Die Kreuzkröte  hat ein tiefes N_e , mit einem Durchschnitt von 199 Individuen in den letzten 10 Generationen (Tabelle 7). Für viele Population konnte N_e aber nicht berechnet werden, da mindestens fünf Individuen pro Population benötigt werden. Im Weiteren hat die Kreuzkröte das grösste Genome und am wenigsten Chromosomen, was dazu führte, dass die Qualität des Referenzgenoms etwas schlechter ist, was zu einer Überschätzung der N_e -Werte führen kann. Diese Resultate sind deshalb mit Vorsicht zu interpretieren.

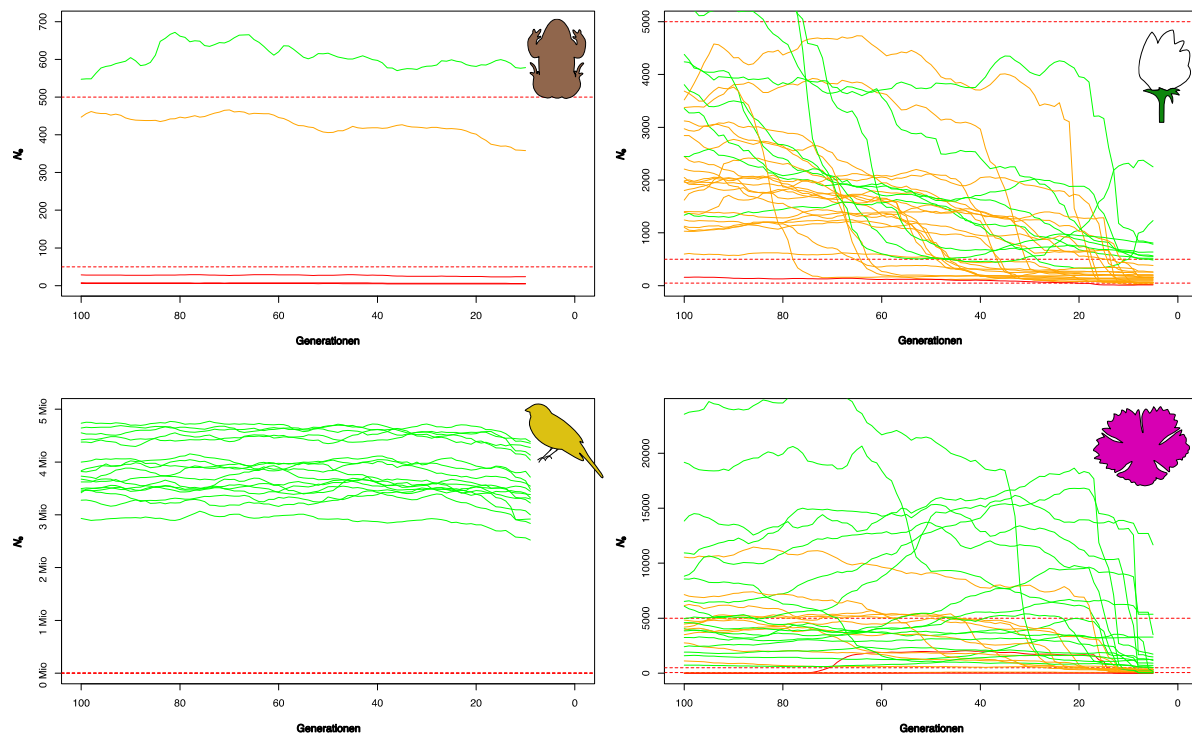


Abbildung 18: Die effektiven Populationsgrößen (N_e) der Kreuzkröte, der Goldammer, des Scheiden-Wollgrases und der Kartäusernelke im Verlauf der letzten 100 Generationen. Grün: $N_e > 500$ in den letzten 10 Generationen, orange: $50 < N_e < 500$ und rot: $N_e < 50$. Die drei rot gepunkteten Linien sind $N_e = 50$, 500 und $5'000$.

Die Goldammer  weist hohe effektive Populationsgrößen in den letzten 10 Generationen auf, mit einem N_e von deutlich über 500 (Tabelle 7), bzw. im Millionen-Bereich. Für genetisch gut verknüpfte Populationen schätzt die verwendete Methode nicht das N_e der Population, sondern der ganze Metapopulation. Für die Goldammer geht diese über die Schweiz hinaus und umfasst wohl den Bestand in Europa. Die Analysen zeigen aber auch eine leichte Abnahme von N_e in den letzten 15 Generationen, was mit der Abnahme des Brutbestandsindex der Goldammer in der Schweiz übereinstimmt (Abbildung 19).

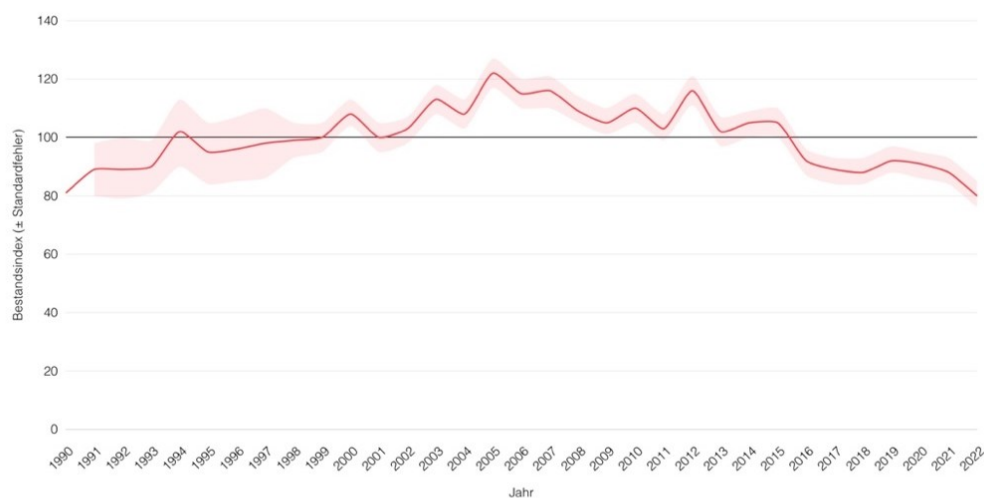


Abbildung 19: Brutbestandsindex der Goldammer von 1990 bis 2022 (<https://www.vogelwarte.ch/de/voegel-der-schweiz/goldammer/>). Seit ca. 2005 nimmt der Index leicht ab, was mit unseren N_e Schätzungen übereinstimmt.

Das Scheiden-Wollgras 🌿 hat in fast allen Populationen in den letzten 100 Generationen eine kontinuierliche Abnahme des N_e erfahren (Abbildung 18) und wies vor 10 Generationen noch 9 Populationen mit $N_e > 500$ und 21 mit $N_e < 500$ auf, vor 100 Generationen waren es 30 bzw. 1.

Die Kartäusernelke 🌸 hat erst in den letzten 45 Generationen eine Abnahme erfahren. Vor 50 Generationen gab es 28 Populationen mit $N_e > 500$, vor 10 Generationen waren es noch 17 mit $N_e > 500$, 11 mit $N_e < 500$ und nur 1 mit $N_e < 50$ (Abbildung 18).

Kernbotschaften: Effektive Populationsgrösse (N_e)

- Die effektive Populationsgrösse ist einer der wichtigsten Indikatoren für ein Monitoring der genetischen Vielfalt. Eine Erhebung der N_e -Werte wird von internationaler Seite (CBD) gefordert.
- N_e -Werte lassen direkte Rückschlüsse zu auf den Verlust oder Erhalt der genetischen Vielfalt von Population in der Zukunft.
- Die hier vorgestellte Methode zur Berechnung von N_e erlaubt es, N_e -Veränderungen über die letzten 100 Generation festzustellen und liefert somit mehr als nur einen Referenzwert.
- Der Baldrian-Schneckenfalter 🦋 zeigt eine zeitliche und räumliche Veränderung der genetischen Vielfalt, es gibt Populationen, die an genetischer Vielfalt verlieren, aber auch solche, welche sich wieder erholen.
- Einige Populationen der Kreuzkröte 🐸, des Scheiden-Wollgrases 🌿 und der Kartäusernelke 🌸 zeigten erhöhte Inzuchtwerte und kleine effektive Populationsgrössen, welche lokal besorgniserregende Werte aufweisen. Diese Populationen sollten in Zukunft weiter genetisch beobachtet werden.

1.8 Weiterführende Anwendungen

1.8.1 Identifikation und Konsequenzen der künstlichen Ansaat infolge von Biodiversitätsfördermassnahmen

Eine Spezialauswertung der GenDiv-Daten wurde durch eine von der ETH finanzierte Masterarbeit durchgeführt mit dem Ziel, die stark divergierten genetischen Linien und angesäten Populationen der Kartäusernelke 🌸 (*Dianthus carthusianorum*) zu bestimmen. Diese Ergebnisse zeigen eine weitere Nutzungsmöglichkeit der GenDiv-Daten auf und liefern zusätzlich wichtige Erkenntnisse über die natürliche Verbreitung und die anthropogenen Einflüsse auf diese Trockenwiesenart.

Mit den Sequenzierdaten aus der Pilotstudie und weiteren, bereits vorhandenen Daten aus ganz Europa, wurde die genetische Struktur bestimmt. Anhand von phylogenetischen und populationsgenetischen Analysen konnten sechs genetisch stark divergierte Linien in Europa nachgewiesen werden, wovon fünf auch in der Schweiz (farbige Kuchendiagramme in Abbildung 20) nachgewiesen wurden. Durch eine anschliessende Kombination der genetischen Erkenntnisse und einer Luftbildanalyse, bei der anthropogene Standortveränderungen, wie z.B. Strassenbau, nachgewiesen wurden, konnten 48% der Populationen als angesät identifiziert werden (Namen fett gedruckt in Abbildung 20).

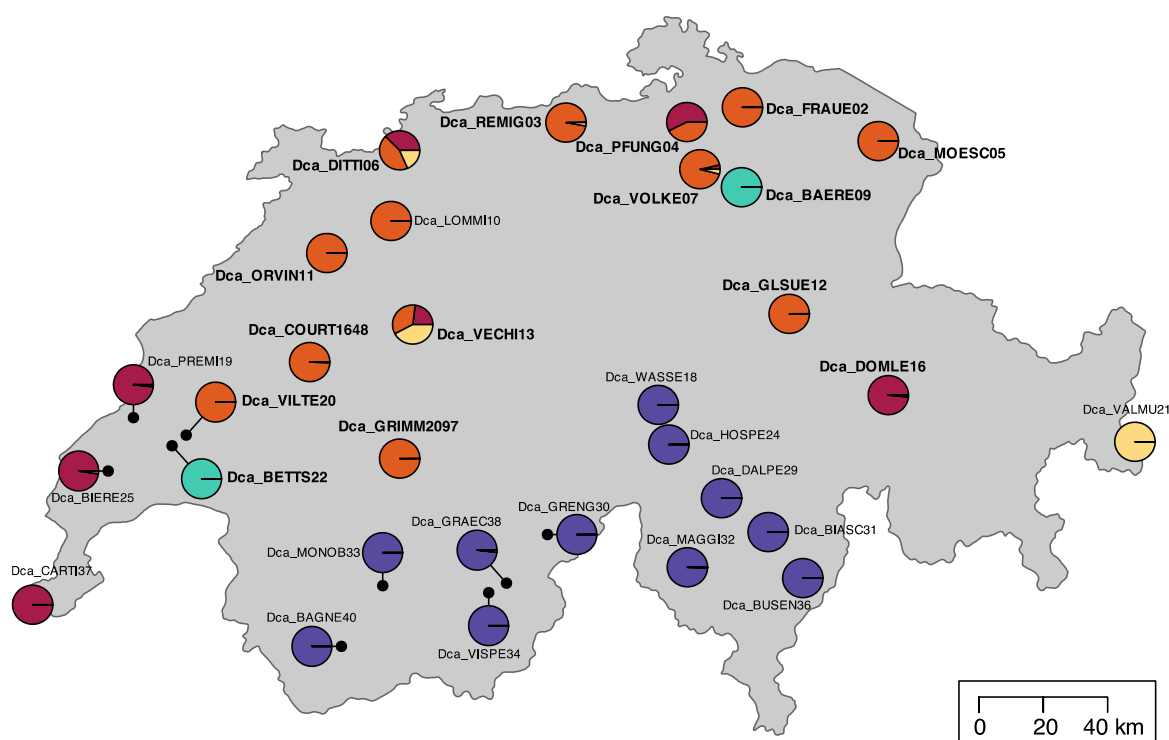


Tabelle 8: Angesäte Populationen der Kartäusernelke  Jahr der Ansaat, Zeitspanne seit Massnahmen (Referenzpunkt ist das Beprobungsjahr 2021) und mögliche Gründe für eine künstliche Begrünung mit Saatgut. Das ungefähre Jahr der Massnahmen wurde anhand von Luftbildvergleichen eruiert.

Population	Jahr der Ansaat	Zeitspanne seit Massnahme	Vermutlicher Grund
BAERE09	NA*	NA	Landwirtschaftliche Begrünung
BETTS22	2019±1	2±1	Kieswerk
COURT1648	2004	17	Strasse
DOMLE16	2013	8	Strasse
FRAUE02	2005	16	Strasse
GRIMM2097	2012±1	9±1	Fluss
GLSUE12	2021±2	1±1	Bahnlinie/Rekultivierung
ORVIN11	2008	13	Strasse
PFUNG04	2018±1	3±1	Bahnlinie
VECHI13	1996±2	26±2	Haus

*Auf den Luftbildern kein eindeutiger Zeitpunkt erkennbar.

Das Saatgut wurde im Durchschnitt in den letzten 10.5 Jahren (Zeitraum: 1-26 Jahren) aufgrund von Renaturierungs- und Begrünungsmassnahmen (Biodiversitätsfördermassnahmen) entlang von Strassen und Schienen angesät (Tabelle 8). Lediglich drei der Populationen wurden mit nicht-autochthonem Saatgut angesät. Zwei davon wurden mit ausländischem Saatgut angesät (türkisfarbige Kuchendiagramme in Abbildung 20; Dca_BETTS22 und Dca_BAERE09), welches durch die europaweiten Analysen nach Osteuropa zurückverfolgt werden konnte. Die dritte Population wurde in Graubünden mit Westschweizer Saatgut angesät (rotes Kuchendiagramm in Graubünden in Abbildung 20; Dca_DOMLE16). In sieben Populationen (Dca_DITTI06, Dca_DOMLE16, Dca_PFUNG04, Dca_REMIG03, Dca_VECHI13, Dca_VISPE34, Dca_VOLKE07) wurde eine genetische Vermischung der stark divergierten Linien in Folge der künstlichen Ansaat beobachtet. In drei Populationen (Dca_DITTI06, Dca_VECHI13, Dca_VOLKE07) wurde sogar eine anthropogen-bedingte genetische Vermischung von drei Linien festgestellt. Die Konsequenzen dieser Vermischungen können ohne weiteres Monitoring nicht abgeschätzt werden, sollten aber weiter untersucht werden, da wir im Moment nicht wissen, wie gut nicht autochthones Saatgut an die lokalen Umweltbedingungen angepasst ist. Durch die Verwendung von künstlichem Saatgut kann zwar die Artenvielfalt kurzfristig wiederhergestellt werden, aber der langfristige Erfolg solcher Massnahmen ist nicht bekannt.

1.8.2 Inzucht und Ab- oder Zunahme der Brutpaardichte

Wie bereits in Kapitel 1.7.4 über Inzucht kurz angedeutet, zeigt die Goldammer  in gewissen Populationen Anzeichen von Inzucht, die erst in den letzten 25 Generationen in gewissen Regionen stattgefunden hat. Darüber hinaus wiesen die Individuen mit den höchsten F_{ROH} -Werten (>0.05) alle sehr lange ROHs auf, was bedeutet, dass Inzucht in den letzten bis zu vier Generationen zwischen sehr eng verwandten Individuen stattgefunden hat. Diese Ergebnisse korrelieren teilweise mit dem beobachteten Rückgang der Zahl der Brutpaare in der Schweiz in den letzten 20 Jahren (Abbildung 21). Obwohl das Gesamtniveau der Inzucht bei der Goldammer niedrig ist, sind diese Ergebnisse bemerkenswert, da die von uns beobachtete Inzucht erst in den letzten Generationen stattgefunden hat und bereits bis zu 15% des Genoms einiger Individuen jegliche genetische Vielfalt verloren haben, was das Risiko für negative Auswirkungen stark erhöht. Diese unerwarteten Ergebnisse unterstreichen, wie wichtig es ist, weitere Untersuchungen durchzuführen, um die Ursachen für diesen jüngsten Anstieg der Inzucht zu ergründen. Da die Goldammer eine Art mit grosser Mobilität ist, aber scheinbar doch nicht mehr alle Regionen der Schweiz gleichhäufig aufsucht, könnten hier Konnektivitäts-Fördermassnahmen der Inzucht entgegenwirken, in dem man Lebensräume im Ackerland zum Beispiel mit Korridoren aus Hecken und Bäumen vernetzen.

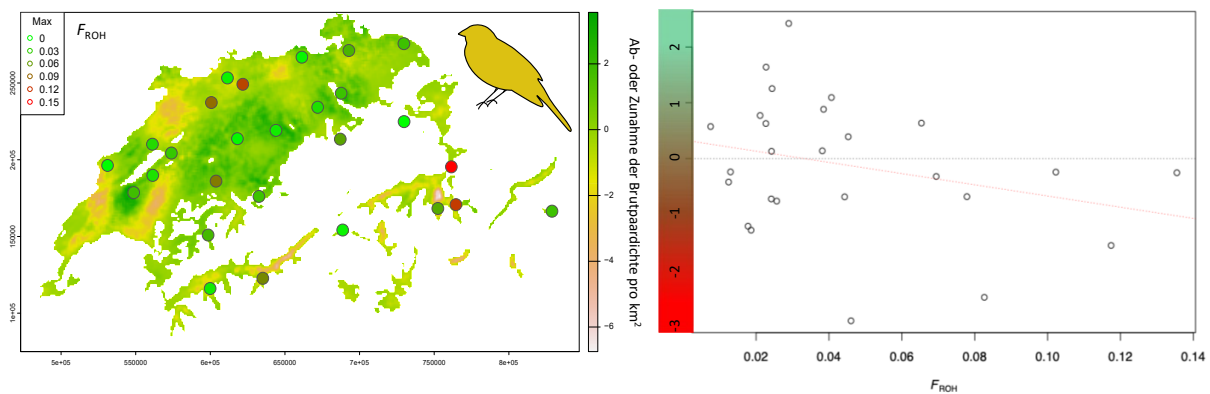


Abbildung 21: Inzucht verglichen mit der Ab- oder Zunahme der Brutpaardichte der Goldammer pro km². Karte: Vogelwarte (Nicolas Strebel, Jérôme Guélat).

1.9 Retrospektive Analyse der genetischen Vielfalt

1.9.1 Studienaufbau und Probenahme

Für die Quantifizierung und Charakterisierung potenzieller Veränderungen der genetischen Vielfalt im Laufe der Zeit wurden der Baldrian-Scheckenfalter und das Scheiden-Wollgras retrospektiv analysiert. Hierfür wurden historische Proben aus den letzten 100-200 Jahren in Sammlungen beprobt. Schweizweit wurden Sammlungen kontaktiert und nach diesen Arten gesucht. Insgesamt wurden 1'435 Baldrian-Scheckenfalter (*Melitaea diamina*) und 767 Individuen des Scheiden-Wollgrases (*Eriophorum vaginatum*) gefunden, digitalisiert und georeferenziert. Für die Pilotstudie wurden zwei verschiedene Probenahme-Strategien zur Untersuchung der Veränderung der genetischen Vielfalt über die Zeit getestet.

Baldrian-Scheckenfalter 🦋

Für den Baldrian-Scheckenfalter wählten wir ein populationsbasiertes Sampling. Dieses zielt darauf ab, zwei unterschiedliche Zeithorizonte in der Vergangenheit mit heute zu vergleichen. Jede Population und jeder Zeithorizont aus der Vergangenheit ist mit 3-10 Individuen repräsentiert. Aus dem Zeithorizont 1900-1920 sind es 21 Populationen, aus dem Zeithorizont 1960-1980 sind es 22 Populationen und 30 kontemporäre Populationen aus dem Frühling und Sommer 2021. Insgesamt wurden 202 Baldrian-Scheckenfalter aus sechs Sammlungen beprobt, welche aus 1435 Individuen ausgewählt wurden (Tabelle 9), was bis zu 29 geografisch paarweise Zeitvergleiche zulassen würde (Abbildung 22).

Tabelle 9: Liste der Individuen des Baldrian-Scheckenfalters 🦋, die für die DNA-Extraktion verwendet wurden.

Ort	Sammlung	Anzahl Individuen
Zürich	Entomologische Sammlung der ETH Zürich	36
St. Gallen	Naturmuseum St.Gallen	30
Chur	Bündner Naturmuseum	1
Bern	Naturhistorisches Museum Bern	36
Genf	Muséum d'histoire naturelle de Genève	80
Lausanne	Musée cantonal de zoologie Lausanne	20

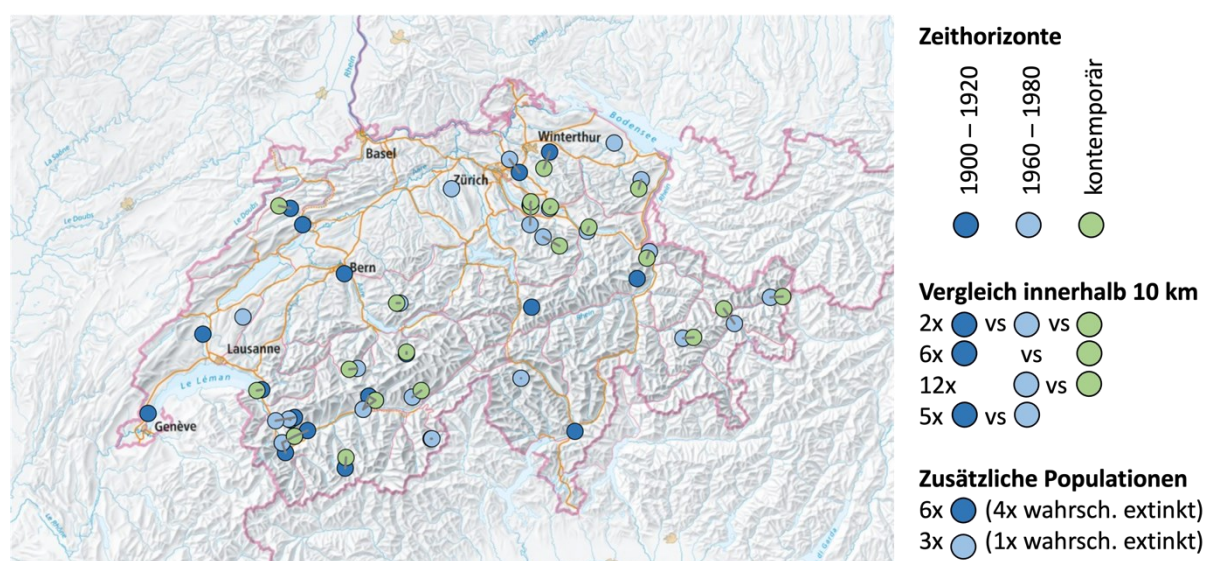


Abbildung 22: Karte der 29 paarweisen Zeitvergleiche mit 300 kontemporären und 202 historischen Baldrian-Scheckenfalters 🦋 (*Melitaea diamina*).

Scheiden-Wollgras

Für das Scheiden-Wollgras wurden aus sieben Sammlungen 226 Herbarbelege ausgewählt, welche mindestens 70 Jahre alt sind (Tabelle 10). Die älteste Probe ist 218 Jahre alt. Die meisten Herbarbelege stammen aus den Jahren um 1900 und sind somit älter als 100 Jahre. Das Ziel für das Scheiden-Wollgras war es, einzelne, möglichst regelmässig über die Schweiz verteilte Individuen zu beproben, so dass Aussagen über die generelle Veränderung der genetischen Vielfalt in der Schweiz möglich sind. Bereits die Georeferenzierung und der Abgleich mit der heutigen Verbreitung des Scheiden-Wollgrases lieferten interessante Einblicke. So konnte an schweizweit 73% der früheren Fundorte, an denen Herbarbelege gesammelt wurden, die Art auch heute noch nachgewiesen werden. Im Mittelland war dies jedoch nur an 41% der Fundorte der Fall (Abbildung 23). Dies deutet auf einen deutlichen Habitatsverlust – in diesem Fall Hochmoore – im Mittelland hin.

Tabelle 10: Liste der Herbarbelege des Scheiden-Wollgras , die für die DNA-Extraktion verwendet wurden.

Ort	Sammlung	Anzahl Belege
Zürich	Vereinigte Herbarien der Universität Zürich und ETH Zürich	154
Neuchâtel	Herbarium der Universität Neuenburg	9
Lausanne	Herbarium des Museums und Botanischen Gartens Lausanne	29
Genf	Herbarium des Konservatoriums und Botanischen Gartens Genf	6
Basel	Herbarium der Universität Basel und der Botanischen Gesellschaft Basel	16
Bern	Herbarium des Botanischen Gartens der Universität Bern	8
Fribourg	Herbarium des Naturhistorischen Museums Freiburg	4

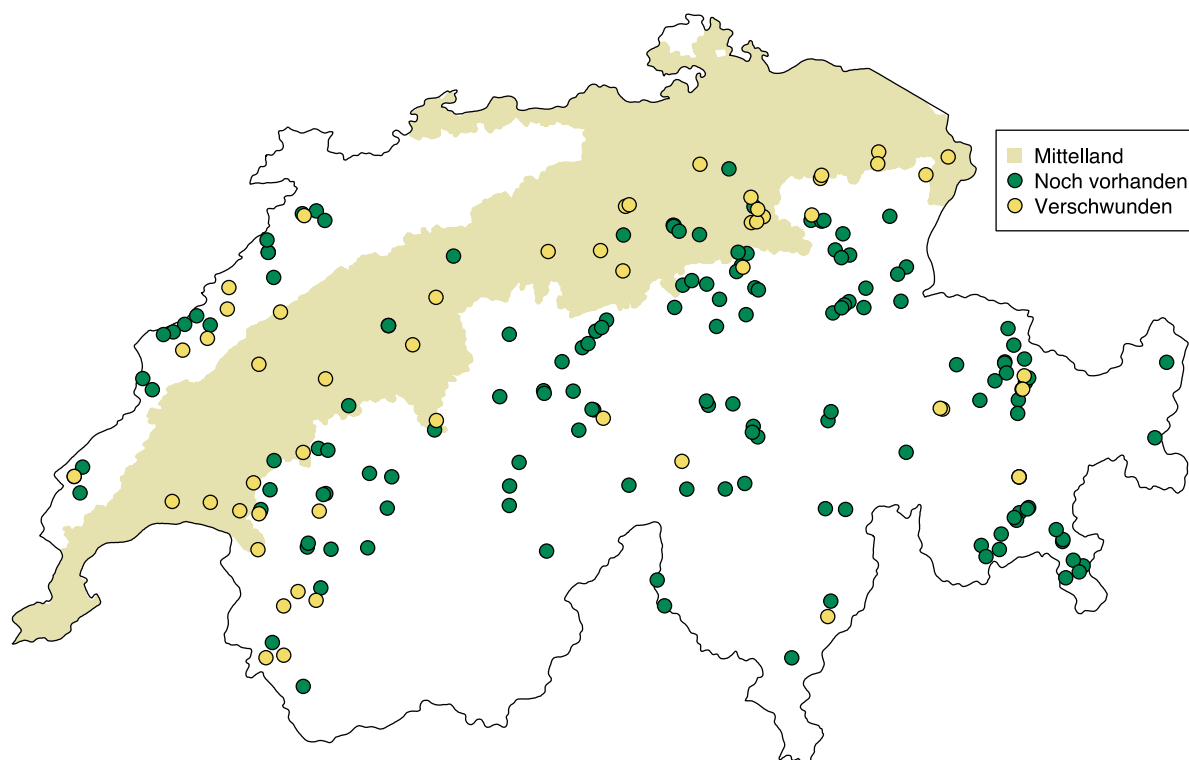


Abbildung 23: An 73 % der Standorte, an denen die 226 Herbarbelege vom Scheiden-Wollgras  (*Eriophorum vaginatum*) gesammelt wurden, wurde die Art noch gefunden. Im Mittelland war dies nur an 41 % der Standorte der Fall.

1.9.2 DNA-Extraktion

Für alle 428 Individuen der beiden Arten wurde zuerst die Beprobungserlaubnis bei den Kurator*innen angefordert. Anschliessend wurden die Individuen unter Einhaltung der Hochreinheitslabor-Regeln beprobt.

Die Protokolle für DNA-Extraktionen aus alten Proben wurden im Hochreinheitslabor der Universität Zürich und mit der Unterstützung von Dr. Enrique Rayos und Prof. Dr. Verena Schünemann etabliert. Es wurden insgesamt fünf verschiedenen Protokolle getestet und verglichen. Die DNA-Extraktion im Reinraumlabor an der Universität Zürich wurde für die 226 Scheiden-Wollgräser und die 202 Baldrian-Schneckenfalter erfolgreich durchgeführt. Die Arbeiten waren zeitaufwändiger, komplexer und materialaufwändiger als erwartet und dauerten deshalb mehr als ein Jahr (Abbildung 24).

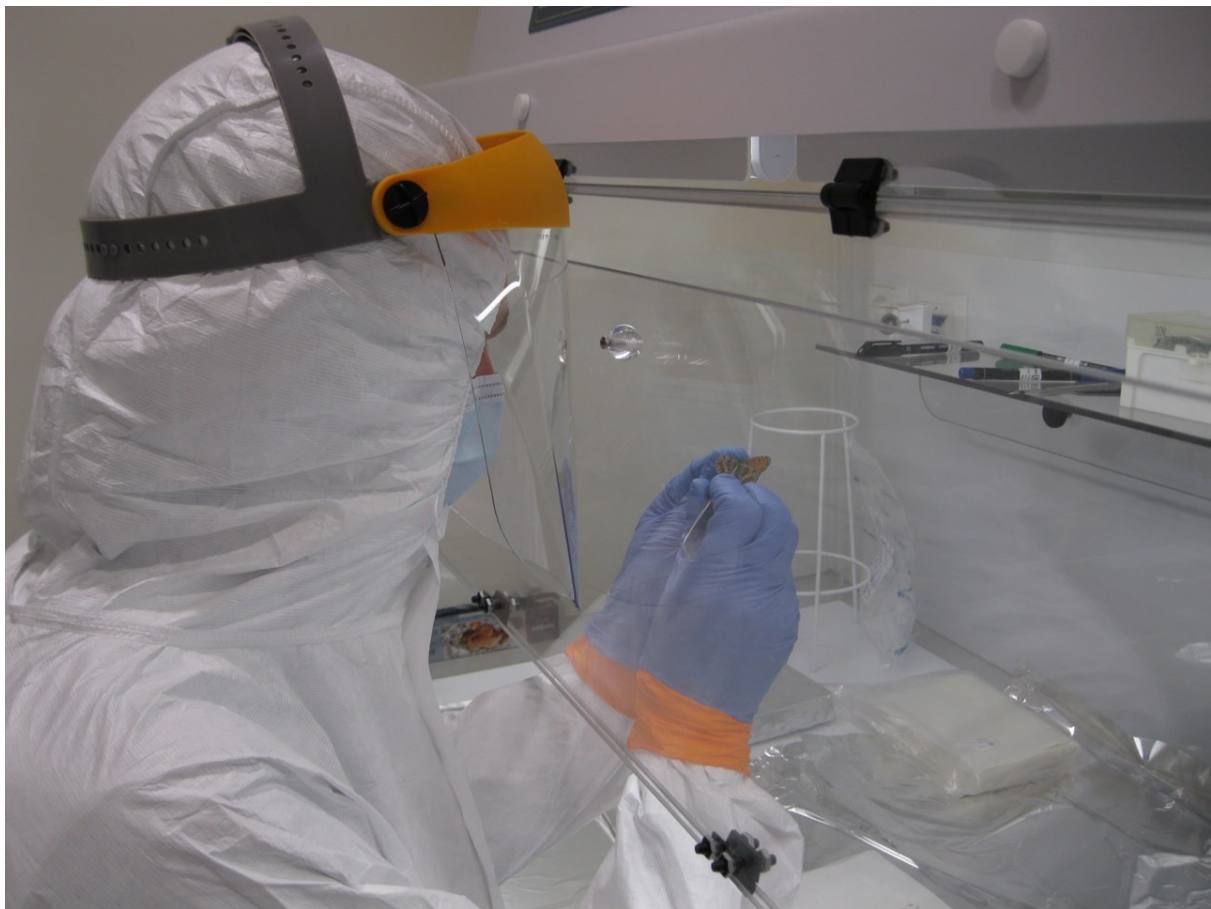


Abbildung 24: Beprobung eines Beines eines Baldrian-Schneckenfalters im Reinraumlabor für eine DNA-Extraktion (©Enrique Rayo).

1.9.3 Sequenzierung

Für 391 der 428 Proben konnten genügend Sequenzdaten erhoben werden. Für 67 Proben war der endogene DNA-Gehalt zu gering ($<40\%$). Diese wurden deshalb ausgeschlossen. Nach der Anwendung weiterer Ausschlusskriterien, wie falsche Art, Kontaminationen (abnormaler GC-Gehalt) und minimalem Sequenzier-Coverage ($>2x$), konnten für die historischen Baldrian-Schneckenfalter 187 Individuen und für das Scheiden-Wollgras 157 historische Proben analysiert werden.

1.9.4 Veränderung der genetischen Vielfalt im Laufe der Zeit

Für beide Arten konnten wir nun mit diesen Proben aus Museen und Herbarien die Veränderung der genetischen Vielfalt über die Zeit untersuchen. Für historische Proben können wir nicht den Indikator $\theta_{\text{Watterson}}$ verwenden, da wir aus der Vergangenheit keine Populationsdaten haben, sondern Daten einzelner Individuen. Deshalb haben wir hier die beobachtete Heterozygotie pro Individuum berechnet (observed Heterozygosity, H_o), also der Prozentsatz an Stellen im Genom an denen ein Individuum eine unterschiedliche Variante von der Mutter als vom Vater erhalten hat.

Die drei Zeithorizonte (1900/1920, 1960/1980 und 2021) des Baldrian-Scheckenfalters  zeigen unterschiedliche Veränderung der genetischen Vielfalt über die Zeit auf. Die Scheckenfalter zeigten im schweizweiten Durchschnitt und beim Ausschluss der ausgestorbenen Population im Tessin (rote Punkte), eine Abnahme der genetischen Vielfalt um -0.8% zwischen 1900-20 und 1960-80. Zwischen 1960-80 und 2021 jedoch kam es zu einer statistisch signifikanten Zunahme von der genetischen Vielfalt um +2.1% (Abbildung 25).

Für das Scheiden-Wollgras  konnten wir im Zeithorizont von ~1900 bis 2021 im Durchschnitt eine signifikante Abnahme der genetischen Vielfalt in der Schweiz um 3.1% feststellen (Abbildung 25). Es ist aber wichtig hervorzuheben, dass einige Populationen immer noch gleiche oder ähnliche genetische Vielfalt aufweisen wie vor 100 Jahren. Der Verlust der genetischen Vielfalt ist nicht gleichmässig über die Schweiz verteilt und weitere Details zur Veränderung der genetischen Vielfalt sind in den Kapiteln 1.7.2 und 1.9.5 aufgezeigt. Ein Verlust von 4% genetischer Vielfalt klingt zuerst nach wenig, wenn man diese aber mit den hohen Inzucht-Niveaus vergleicht (Abbildung 15), ist das Resultat besorgniserregend.

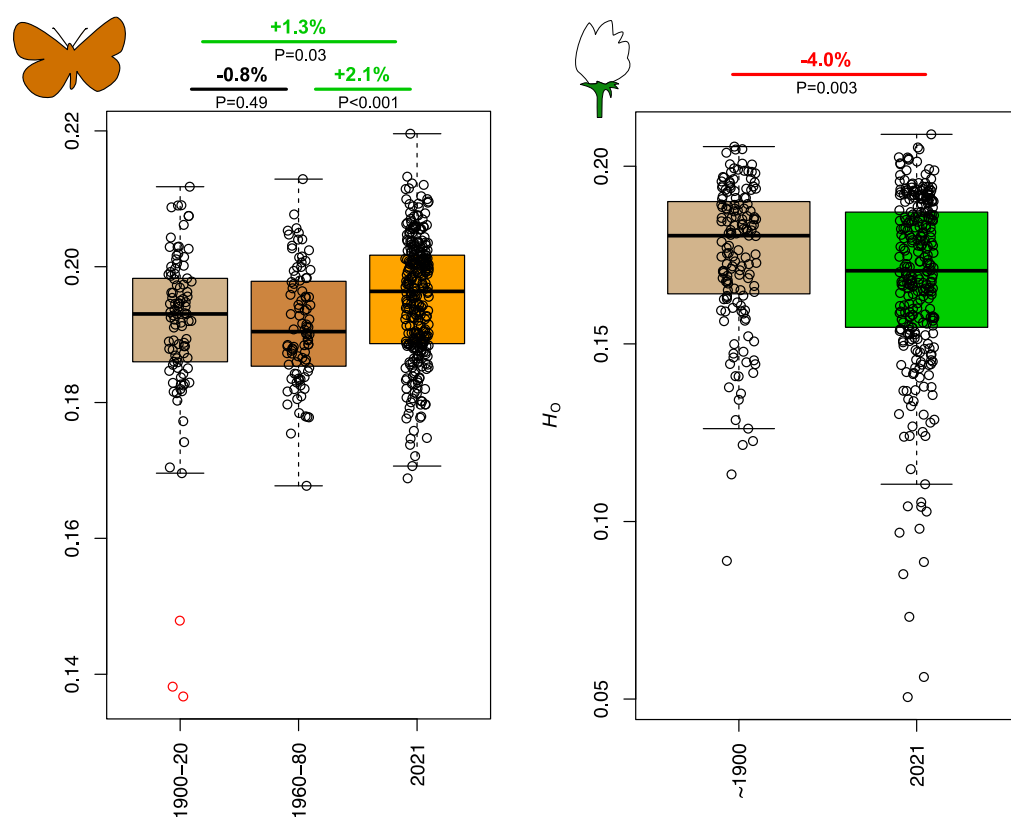


Abbildung 25: Die Veränderung der genetischen Vielfalt über die Zeit in der Schweiz. Der Baldrian-Scheckenfalter zeigt zuerst eine Abnahme bis ca. 1980 und danach eine Zunahme der genetischen Vielfalt. Drei Individuen der Population im südlichen Tessin hatte schon vor über 100 Jahren eine tiefe genetische Vielfalt, die Population ist heute ausgestorben. Das Scheiden-Wollgras zeigt eine signifikante Abnahme der genetischen Vielfalt in den letzten ~100 Jahren von 4%.

1.9.5 Veränderungen der genetischen Vielfalt in Raum und Zeit

Baldrian-Scheckenfalter

Für den Baldrian-Scheckenfalter  zeigt sich ein heterogenes Bild. Im Mittelland erfolgte eine signifikante Abnahme von bis zu -7% (Abbildung 26). Dieselben Populationen zeigen zudem bei den kontemporären genetischen Daten Zeichen von rezenter Inzucht (Abbildung 15). An der Alpennord- und Südflanke wurde eine Zunahme der genetischen Vielfalt beobachtet. In den Zentralalpen ist die genetische Vielfalt nach einem starken Rückgang zwischen 1900-1920 und 1960-1980 inzwischen stabil. Die eine untersuchte Population im Süd-Tessin aus dem ersten Zeithorizont hatte die tiefste genetischen Vielfalt aller Populationen und ist heute im Süd-Tessin ausgestorben (Abbildung 27). Der Grund für das Aussterben ist nicht bekannt, aber es ist interessant, dass die Population bereits in der Vergangenheit eine tiefe genetische Vielfalt hatte. Diese Resultate sind auch kongruent mit den N_e Veränderungen über die Zeit, wo wir vergleichbare Veränderungen beobachten im gleichen Zeithorizont (Abbildung 17). Zudem scheinen diese Trends auch mit den Resultaten aus den aktuellen Biodiversität Monitoringprogrammen übereinzustimmen. Im Tiefland übt die Intensität der menschlichen Aktivitäten einen starken Druck auf die biologische Vielfalt aus, weshalb die Vielfalt der Faltergemeinschaften tendenziell im Grasland abnimmt. Im Weiteren zeigen die Biodiversitätsmonitorings auch, dass in den Bergen die biologische Vielfalt der Schmetterlinge etwas besser vor dem Druck des Menschen geschützt ist. Aber in den Bergen sind die Auswirkungen des Klimawandels mit grosser Wahrscheinlichkeit stärker als im Tiefland, weshalb diese Trends weiter untersucht werden sollten.

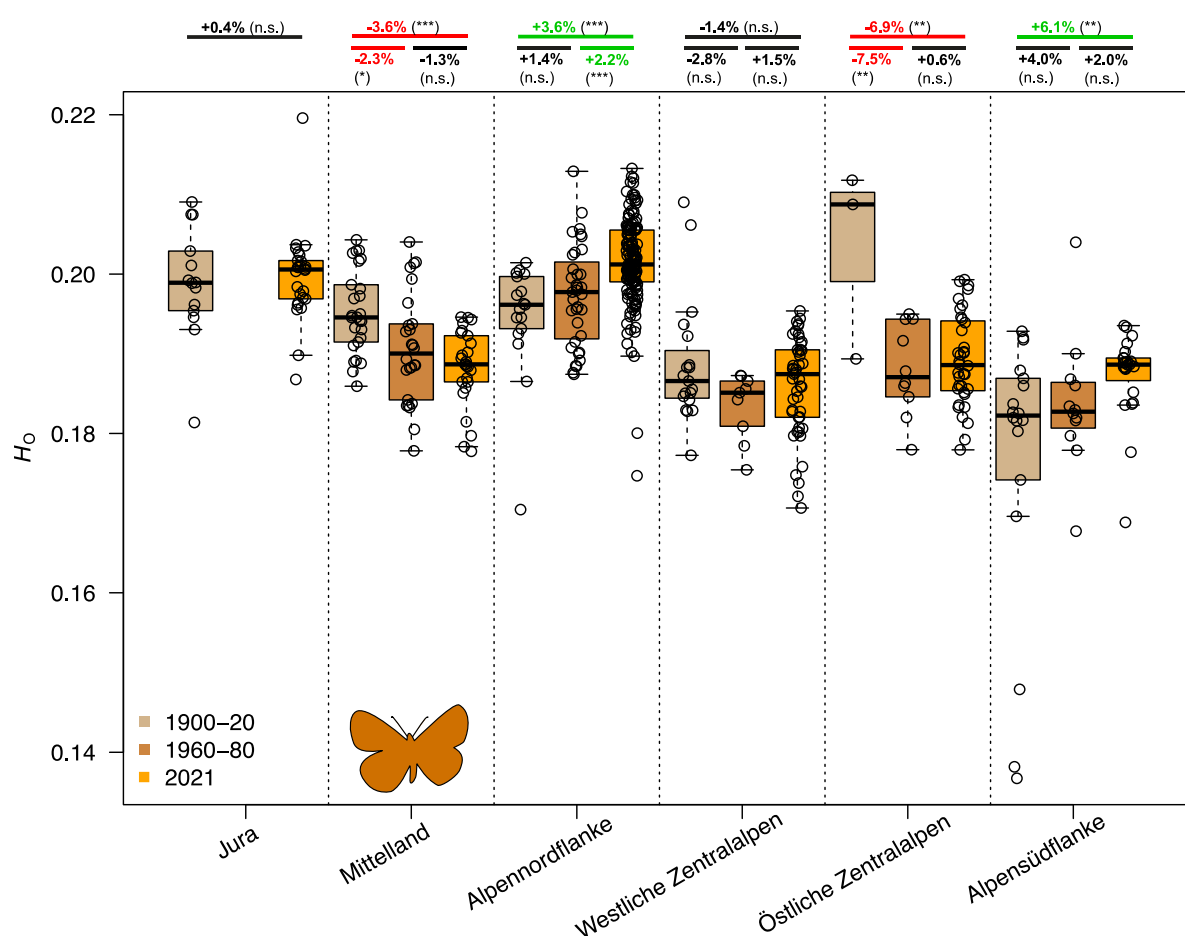


Abbildung 26: Genetische Vielfalt des Baldrian-Scheckenfalters im Verlauf von drei verschiedenen Zeitperioden aufgeteilt nach den sechs biogeografischen Regionen der Schweiz. Oberhalb der Figure sind die prozentuale Zu- und Abnahme zwischen den Zeithorizonten und deren statistische Signifikanz (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ und n.s. $p > 0.05$) sind angegeben.

Die genetische Struktur des Baldrian-Scheckenfalters hat sich über die drei verschiedenen Zeithorizonte kaum verändert (Abbildung 28). Die violette Population in Graubünden könnte ein Georeferenzierungs-Fehler sein, welcher noch überprüft werden sollte. Es gibt aber auch Anzeichen für Metapopulations-Austausch, so zum Beispiel in Glarus.

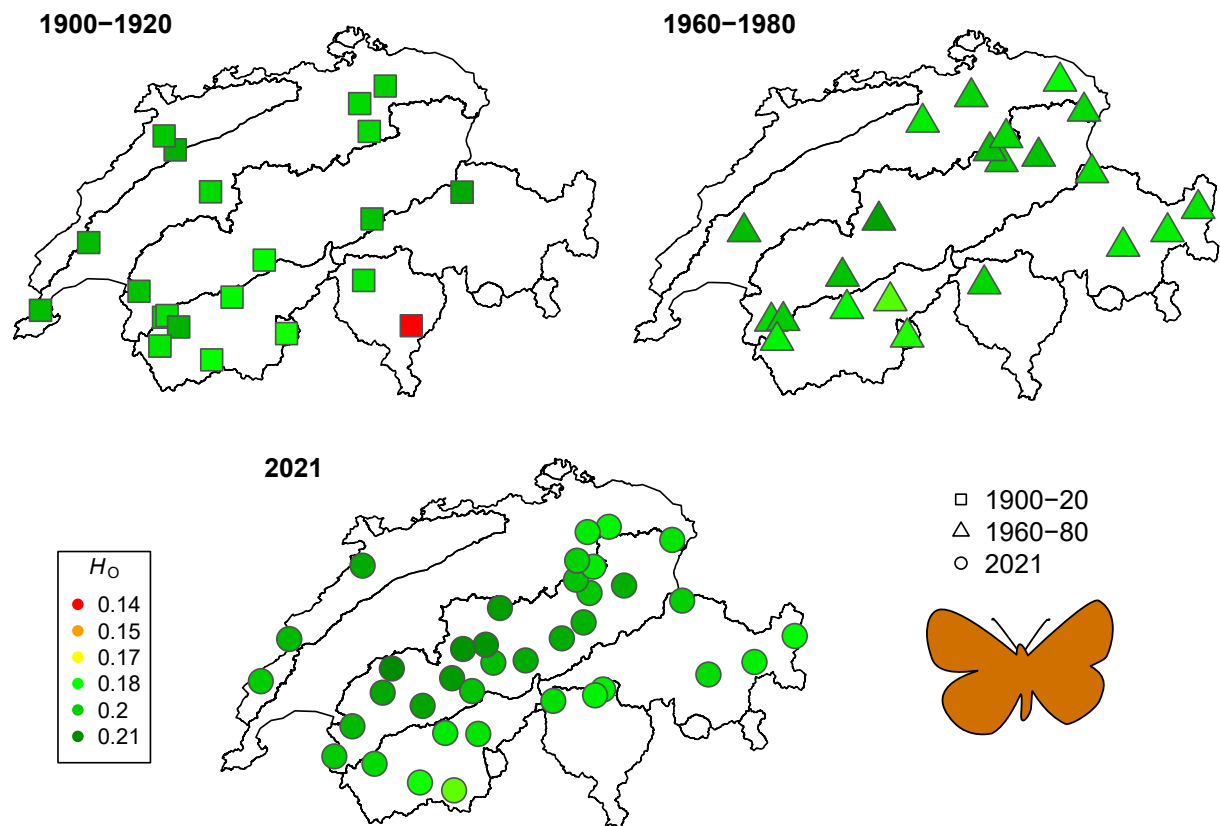


Abbildung 27: Kontemporäre und historische genetische Vielfalt des Baldrian-Scheckenfalters aufgeteilt nach drei Zeitperioden. Die Graustufen verweisen auf die sechs biogeografischen Regionen der Schweiz.

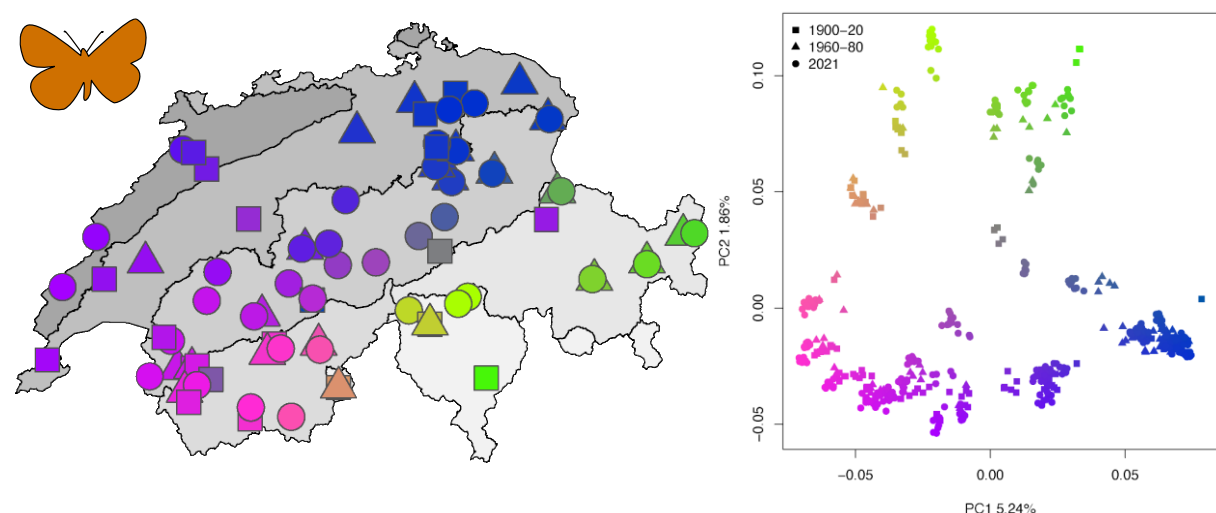


Abbildung 28: Genetische Struktur des Baldrian-Scheckenfalters von Individuen aus zwei Zeitperioden, welche mehr als 100 Jahre abdecken. Dargestellt als zweidimensionale PCA (rechts) und räumlich explizit auf der Schweizerkarte (links). Grau schattiert sind die sechs biogeografischen Regionen.

Scheiden-Wollgras

Auch beim Scheiden-Wollgras  ist der Verlust der genetischen Vielfalt nicht gleichmässig über die Schweiz verteilt, sondern überraschenderweise grösser in den Regionen ausserhalb des Mittellandes, obwohl im Mittelland im Verhältnis mehr Populationen und Habitate verloren gegangen sind (Abbildung 23). Im Gegensatz zum Baldrian-Schneckenfalter sind die Veränderung in den einzelnen biogeografischen Regionen statistisch nicht signifikant, zeigen aber deutliche Trends auf. Im Mittelland ist die genetische Vielfalt in den letzten 100 Jahre mehr oder weniger stabil geblieben, aber tendenziell nimmt im Jura sowie in den westlichen und östlichen Zentralalpen die genetische Vielfalt ab (Abbildung 29). Ein möglicher Grund für einen langsamen Verlust der genetischen Vielfalt könnte das Alter der Pflanze sein. Einzelne Scheiden-Wollgräser können über 100 Jahre alt werden (Mark *et al.* 1985). Die Generationszeit des Scheiden-Wollgrases ist deshalb auch länger, so dass Veränderung langsamer stattfinden. Die Analysen der effektiven Populationsgrössen (N_e) zeigen aber deutlich, dass die effektive Populationsgrösse N_e über die letzten 100 Generationen beim Scheidenwollgras stark abgenommen hat (Abbildung 18). Da die Generationszeit des Scheiden-Wollgras nicht genau bekannt ist, können keine genaueren Rückschlüsse über die Zeit in Jahren gemacht werden.

Die genetische Struktur des Scheiden-Wollgrases blieb in den letzten hundert Jahren stabil (Abbildung 31). Dass die Farben der einzelnen Populationen nicht genau mit der Abbildung 9 übereinstimmen hängt nur mit der Drehung der PC2-Achse zusammen, die Struktur der PCA ist aber sehr ähnlich und unterscheidet sich nur leicht, weil mehr Individuen in die Analyse eingeflossen sind. Dass die genetische Struktur der historischen und kontemporären Population so gut übereinstimmen ist auch eine Validierung, dass historische und kontemporäre DNA vergleichbar sind, auch wenn die historische DNA stark degradiert ist.

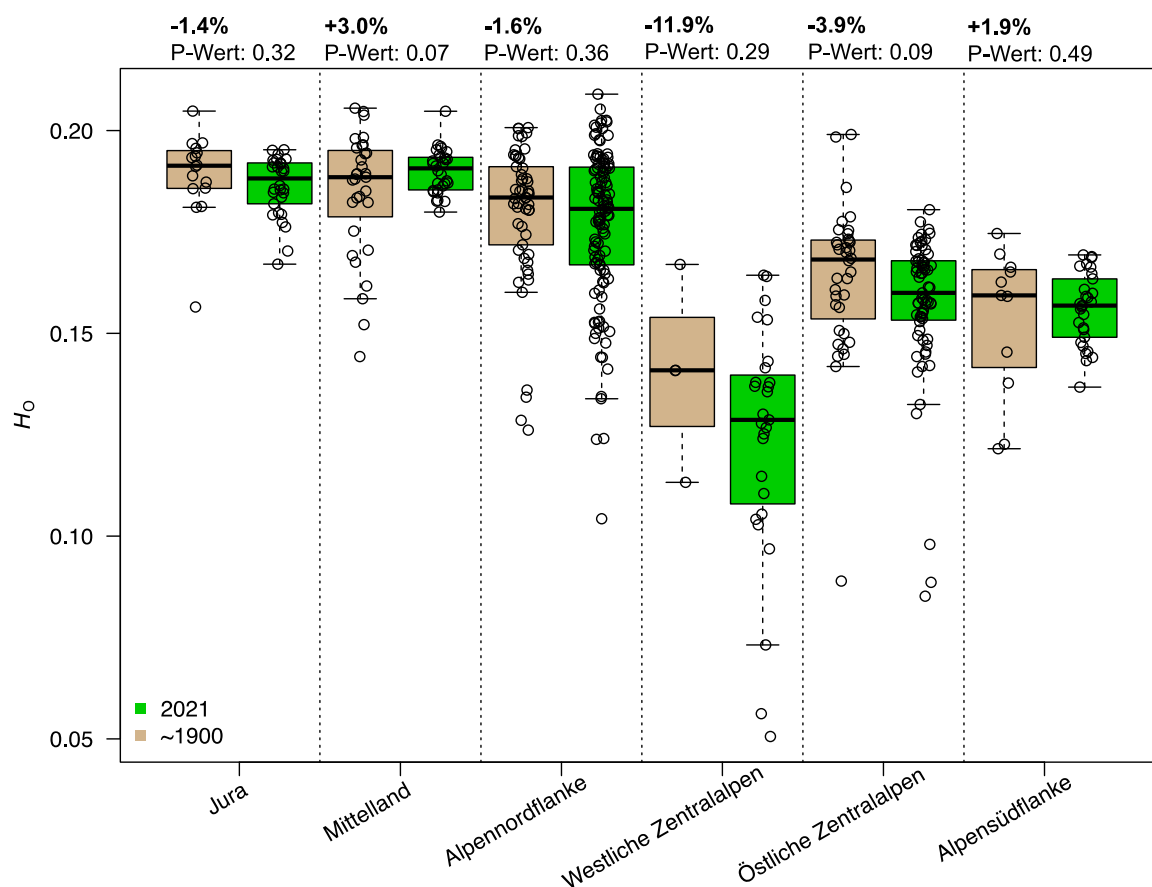


Abbildung 29: Genetische Vielfalt des Scheiden-Wollgrases im Verlauf von zwei verschiedenen Zeitperioden aufgeteilt nach den sechs biogeografischen Regionen der Schweiz.

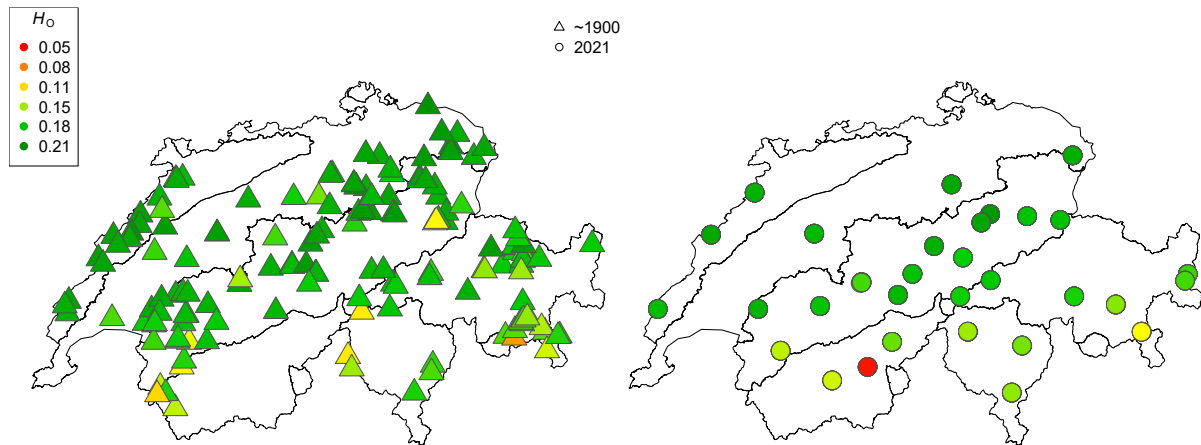


Abbildung 30: Kontemporäre und historische genetische Vielfalt des Scheiden-Wollgras, aufgeteilt nach zwei Zeitperioden, ~1900 und 2021. Die Graustufen verweisen auf die sechs biogeografischen Regionen der Schweiz.

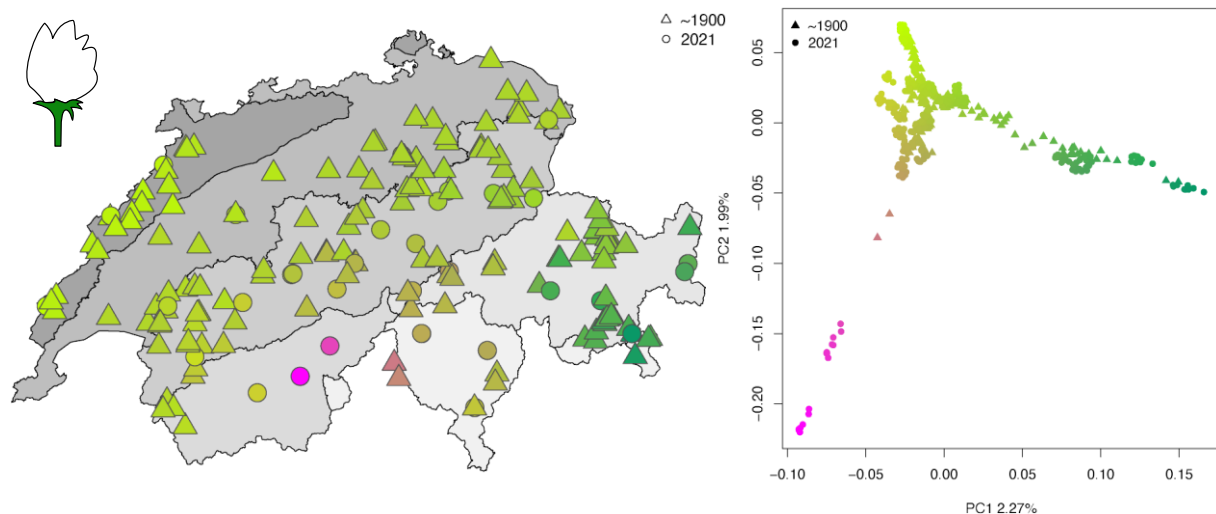


Abbildung 31: Genetische Struktur des Scheiden-Wollgrases für Individuen aus zwei Zeitperioden, welche mehr als 100 Jahre abdecken. Dargestellt als zweidimensionale Grafik PCA (rechts) und räumlich explizit auf der Schweizerkarte (links). Grau schattiert sind die sechs biogeografischen Regionen ausgewiesen.

Kernbotschaften: Retrospektive genetische Vielfalt

- Mit bis zu 200 Jahre alten Proben aus biologischen Sammlungen ist es möglich, die genetische Vielfalt retrospektiv zu untersuchen und so Veränderungen der genetischen Vielfalt im Laufe der Zeit zu detektieren und auch Populationen zu untersuchen, welche heute ausgestorben sind.
- Das Scheiden-Wollgras hat in den letzten 100 Jahren schweizweit ca. 4% der genetischen Vielfalt verloren. Der Baldrian-Schneckenfalter zeigt eine zeitliche und räumliche stärkere Veränderung der genetischen Vielfalt. Es gibt Populationen, die immer noch genetische Vielfalt verlieren, aber auch solche, welche sich wieder erholt haben.
- Mit den historischen Proben lässt sich die verlorene Konnektivität im Mittelland zeigen.
- Retrospektive Analysen sind aufwändig und mit einem deutlich erhöhten Zeit- und Finanzaufwand verbunden.
- Durch die Analyse historischer Belege lassen sich selbst ausgestorbene Populationen untersuchen.

1.10 Diskussion

Die Pilotstudie hat gezeigt, dass ein Monitoring der genetischen Vielfalt in der Schweiz machbar ist. In den mehr als drei Jahren dieser Pilotstudie haben wir viel gelernt und mussten einige Punkte kritisch hinterfragen, welche wir hier kurz diskutieren möchten.

Die Artenauswahl war ein schwieriger Prozess bei welchen viele Leute involviert wurden, um eine möglichst nützliche Auswahl an Arten zu erhalten. Trotzdem kann diese immer kritisiert werden. Die Pilotstudie hat jedoch gezeigt, dass für alle fünf Arten naturschutzrelevante Ergebnisse erzielt werden konnten, die wir zum Teil im Voraus nicht erwarten konnten. Unsere Erfahrungen mit der Artenauswahl für diese Pilotstudie flossen auch in das IUCN Guidance Dokument ein (Hvilsom *et al.* 2022), welches nun international als Referenzdokument für die Artenauswahl dient und eine Kriterienliste beinhaltet. Da alle Arten entweder in einem Lebensraum von nationaler Bedeutung vorkommen oder in anthropogen veränderten Landschaften leben, könnten in Kombination mit den anderen Biodiversitätsmonitorings Aussagen über ganze Lebensräume und nicht nur über einzelne Arten gemacht werden. Für künftige Untersuchungen ist es wünschenswert, dass auch Arten aus aquatischen Lebensräumen und Wäldern einbezogen werden. Zudem wäre es interessant, mehr Arten mit bekannten Generationszeiten zu untersuchen, da sich bei diesen allfälligen Veränderungen besser einem bekannten Zeitraum zuordnen lassen.

Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Beprobungs-Strategie. Die von uns entwickelte 'Proportional Stratified Random Sampling Strategy' ist aufwändig, stellt aber sicher, dass verallgemeinerbare Resultate erzielt werden können, indem durch die zufällige Auswahl sowohl kleine, als auch grosse oder mehr oder weniger stark isolierte Population beprobt werden. Synergien mit andern Biodiversitätsmonitorings für die Beprobung sind einerseits erstrebenswert, allerdings müssen die Konsequenzen, beispielsweise in Bezug auf die Beprobung kleiner Populationen, gut abgewogen werden. Im Weiteren ist das Beprobieren einzelner Arten stark wetterabhängig. Es ist daher wichtig, ausreichend Pufferzeit oder -jahre einzuplanen, damit eine möglichst vollständige Probenahme stattfinden kann. Während der Pilotstudie war dies insbesondere für den Baldrian-Schneckenfalter zwingen notwendig. Ansonsten hätten insbesondere in der Ost-Schweiz die Proben für eine Analyse gefehlt.

Unser Vorgehen, genomweite Daten durch Re-Sequenzierung zu erheben, hat sich als zukunftssträftig erwiesen. Auf Grund sinkender Kosten sind diese Analysen im Moment gleich teuer und in Zukunft sogar weniger teuer als das Sammeln der Proben. Auf Grund der nun verfügbaren umfangreichen Daten lassen sich auch neue, aufwändige Analysen durchführen, wie beispielsweise die Berechnungen zur Inzucht und zur effektiven Populationsgrösse. Genomweite Re-Sequenzierungsdaten sollten deshalb der Standard für ein künftiges Monitorings der genetischen Vielfalt sein. Dadurch lässt sich sicherstellen, dass künftig auch neu entwickelte Analysemethoden auf die gesammelten Daten angewendet werden können. Ein derartiges Monitoring hat weltweit Pioniercharakter (O'Brien *et al.* 2022).

Ein weiteres Ziel der Pilotstudie war es, möglichst wenige, aber informative Indikatoren auszuwählen, um den Zustand der genetischen Vielfalt jeder Art mit möglichst komplementären, Informationen abzubilden. Aus unserer Sicht braucht es dazu alle fünf Indikatoren. Die Methoden, die wir gewählt haben, um die Indikatoren zu berechnen, sind unterschiedlich weit entwickelt und haben entsprechend auch unterschiedliche Aussagekraft. So ist der Schätzer für die genetischen Vielfalt ($\theta_{\text{Watterson}}$) der wohl am häufigsten verwendete und am besten anerkannte Schätzer der genetischen Vielfalt. Er erlaubt aber nur durch wiederholte Messungen, Veränderungen der genetischen Vielfalt zu detektieren. Dafür ermöglicht dieser Schätzer das Erkennen von Hotspots der genetischen Vielfalt und eine Bewertung der Qualität von Populationen. Im Gegensatz dazu weist der Indikator für die adaptive genetischen Vielfalt am meisten Verbesserungspotenzial auf. In den kommenden Jahren sind jedoch große Fortschritte in diesem Forschungsbereich zu erwarten, so dass beispielsweise die klimarelevante genetische Vielfalt besser abgeschätzt werden kann. Dadurch werden verbesserte Aussagen über das zukünftige Anpassungspotenzial einzelner Populationen an den Klimawandel möglich. Der Indikator für die Konnektivität wird häufig in der Forschung angewendet, weshalb er relativ gut bekannt und von vielen Personen korrekt interpretiert wird. Weitere Verbesserungen lassen sich hier voraussichtlich dann erzielen, wenn detaillierte Genfluss-Resistenz-Karten für jede Art entwickelt werden können. Die

Indikatoren für Inzucht (F_{ROH}) und effektive Populationsgrösse (N_e) haben unsere Erwartungen deutlich übertroffen. Sie etablieren nicht nur für jede untersuchte Population einen Referenzwert, sondern können auch rückwirkend Veränderung über die Zeit feststellen. Aus unserer Sicht sind deshalb die gewählten Indikatoren ein guter Startpunkt. Es bleibt abzuwarten, welche weiteren Entwicklungen in diesem sehr aktiven Forschungsfeld in den kommenden Jahren stattfinden werden (Hoban *et al.* 2022; O'Brien *et al.* 2022; Thurfjell *et al.* 2022; Bertola *et al.* 2023; Kurland *et al.* 2023; Robuchon *et al.* 2023).

Erwartungsgemäss hat die Pilotstudie auch gezeigt, dass die Analysen von derart umfangreichen genetischen Datensätzen mehr Zeit in Anspruch nehmen, als ursprünglich erwartet wurde, insbesondere wenn aufwändige Methoden notwendig sind, um einzelne Schätzer zu berechnen. Bei der zukünftigen Planung muss dies berücksichtigt werden, indem ausreichend Zeit für die Etablierung neuer Analyseverfahren veranschlagt wird.

1.11 Fazit

Mit der «Pilotstudie für ein Monitoring der genetischen Vielfalt in der Schweiz» wurde die Durchführbarkeit eines Monitorings der genetischen Vielfalt anhand von fünf sehr unterschiedlichen Tier- und Pflanzenarten etabliert. Das in der Machbarkeitsstudie (Fischer *et al.* 2020) erarbeitete Konzept für eine Untersuchung des Zustands und der Veränderung der genetischen Vielfalt in natürlichen Populationen einheimischer Arten wurde auf seine praktische Anwendbarkeit, sowie den benötigten Zeitaufwand und Kostenumfang, getestet. Zusammenfassend lässt sich sagen:

Die Zusammenarbeit von Forschung, Bund und Stakeholdern bei der Projektorganisation, Artenauswahl und Sampling war erfolgreich. Die etablierten Prozesse haben sich bewährt.

Der praktische Teil des Monitorings (Sampling, DNA-Sequenzierung, Auswertung) konnte gemäss Konzept umgesetzt werden. Eine systematische Zufalls-Beprobung ist geeignet, um Muster und Referenzwerte der genetischen Vielfalt im Raum zu erheben und (bei zwei Arten) retrospektive Veränderungen der genetischen Vielfalt über den untersuchten Zeitraum festzustellen. Das Monitoring der genetischen Vielfalt ist aus technischer Sicht machbar und ist somit umsetzbar für ein zukünftiges Routine-Monitoring.

Die Re-Sequenzierung des Genoms ist technisch und finanziell machbar und wird die Anwendung neuer Analysemethoden in der Zukunft ermöglichen. Dieser Ansatz ist somit zukunftsfähig. Bereits in der Pilotstudie hat es sich gezeigt, dass mit den erhobenen Daten Analysen durchgeführt werden konnten, die bei Projektbeginn noch nicht verfügbar waren und einen deutlichen Erkenntnisgewinn gebracht haben. So können wir bereits mit den kontemporären Daten 100 Generationen in die Vergangenheit schauen und so Veränderung der effektiven Populationsgrösse, welche massgeblich für den Umfang der genetischen Vielfalt in Populationen ist, im Verlauf der Zeit dokumentieren.

Der kontemporäre Referenzwert für die genetische Vielfalt konnte für fünf Arten erfolgreich etabliert werden. Diese Referenzwerte sind die Basis für zukünftige Analysen von Veränderungen.

Die Daten aus den retrospektiven Untersuchungen zeigen direkt Veränderungen der genetischen Vielfalt im Laufe der Zeit. Dadurch lassen sich auch Einblicke in Populationen gewinnen, die heute ausgestorben sind.

Die ausgewählten Indikatoren lassen sinnvolle Aussagen zum Zustand der genetischen Diversität in der Schweiz zu und ergänzen die bestehenden Biodiversitätsmonitoring-Programme der Schweiz, indem sie beispielsweise eine Aussage über die Qualität von Populationen ermöglichen, oder indirekt

Rückschlüsse auf Veränderungen zulassen, die nicht direkt beobachtet werden können, wie beispielsweise der Verlust von Konnektivität, oder ein Anstieg der Inzucht.

Die Pilotstudie hat gezeigt, dass ein Monitoring der genetischen Vielfalt die laufenden Biodiversitätsmonitorings gut komplementiert und so auch die grundlegende Ebene der Biodiversität, die genetische Vielfalt, abdeckt. Ein solches Monitoring ist ein effizientes Frühwarnsystem für Veränderungen des Inzuchtgrads von gefährdeten Populationen, erlaubt die Identifikation von abnehmenden oder kleinen effektiven Populationsgrössen und erlaubt Rückschlüsse über den Verlust der Konnektivität von Populationen. Diese und weitere Aussagen erlauben es, gezielt Massnahmen zu ergreifen, mit denen die Biodiversität gestärkt und erhalten werden kann. Dazu gehören beispielsweise das Planen und Fördern von Vernetzungsmassnahmen mit Hilfe der ökologischen Infrastruktur, die Ausweisung schützenswerter Regionen mit hoher genetischer Vielfalt, oder die Identifikation und Berücksichtigung evolutionärer Abstammungslinien bei der Auswahl von geeignetem Saatgut für künstlichen Begrünungs-, Wiederansiedlungs- oder Umsiedlungsmassnahmen.

Danksagung

Einen speziellen Dank geht an Glenn Litsios, welcher mit seinem unerschöpflichen Enthusiasmus und seiner Weitsichtigkeit diese Pilotstudie und auch die Machbarkeitsstudie für eine Monitoring der genetischen Vielfalt im Namen des BAFUs unterstützt und ermöglicht hatte. Diese enthusiastischen Pläne wurden nach Glenns Wechsel zu InfoSpecies von Jérôme Frei übernommen und weiterentwickelt. Wir möchten uns ganz herzlich bei Glenn und Jérôme für ihr entgegengebrachtes Vertrauen bedanken, sowie beim BAFU für die finanzielle und inhaltliche Unterstützung dieses Projekts.

Im Weiteren danken wir folgenden Personen für ihre Mitarbeit:

- Mitglieder der Begleitgruppe: Ariel Bergamini, Stefan Birrer, Marylaure de La Harpe, Simone Fontana, Urs Gimmi, Michael Greeff, Jodok Guntern, Lukas Keller, Glenn Litsios, Sophie Rudolf, Benedikt Schmidt, Sofia Wyler
- ETH Zürich, Gruppe Ökologische Pflanzengenetik: Enrique Rayo, Jasmine Tschan, Oliver Reutimann, Gabriel Ulrich, Karim Clivaz, Franziska Berger, Patrick Ackermann, Claudia Michel, Tamara Schlegel
- GDC: Niklaus Zemp, Aria Minder, Silvia Kobel
- FGCZ: Natalia Zajac
- Universität Zürich, Reinraumlabor: Verena Schünemann, Michael Grützen
- Forum Biodiversität Schweiz, SCNAT; Inputs zum Schlussbericht: Jodok Guntern
- Herbarien: Alessia Guggisberg, Patrice Descombes, Jurriaan de Vos, Jason Grant, Katja Rembold, Gregor Kozlowski, Fred Stauffer
- Museen und Sammlungen: Michael Greeff, Emmanuel Toussaint, Bernard Landry, Karin Urfer, Hans-Peter Wymann, Ueli Rehsteiner, Stephan Liersch, Jarno Kurz, Anne Freitag
- Umwelt- und Planungsbüros: UNA (Michael Ryf, Lea Bauer), Topos (Rebecca Kurz, Seraina Nuotclà), Maddalena (Ivan Candolfi), Beprobung Baldrian-Scheckenfalter (Marco Thoma)
- karch, Beprobung der Kreuzkröte: Benedikt Schmidt, Andi Hafner, Oliver Dosch, Mario Lippuner, Timo Reissner, Beatrice Lüscher, Sarah Althaus, Silvia Zumbach, Jérôme Pellet, Adrian Aebischer, Jacques Thiébaud, Ursina Tobler, Esther Schweizer
- Vogelwarte: Beprobung der Goldammer: Reto Burri, Gilberto Pasinelli, Julien Mazenauer, Nicolas Auchli, Marco Pilati. Verbreitungsatlas der Brutvögel der Schweiz: Nicolas Strebel, Jérôme Guélat
- NMBE, Probenarchivierung: Manuel Schweizer
- Diskussionen zu der Beprobungsstrategie: Stefan Birrer, Tobias Roth (Hintermann und Weber), Ariel Bergamini (WSL)

Quellen und Publikationsliste

- BAFU (2012) Strategie Biodiversität Schweiz: Ausarbeitung einer Strategie zur Erhaltung und Förderung der Biodiversität. BAFU, Bern.
- BAFU (2017) Aktionsplan Strategie Biodiversität Schweiz. BAFU, Bern.
- Bertola LD, Brüniche-Olsen A, Kershaw F, Russo IRM, MacDonald AJ, Sunnucks P, Bruford MW, Cadena CD, Ewart KM, de Bruyn M, Eldridge MDB, Frankham R, Guayasamin JM, Grueber CE, Hoareau TB, Hoban S, Hohenlohe PA, Hunter ME, Kotze A, Kuja J, Lacy RC, Laikre L, Lo N, Meek MH, Mergeay J, Mittan-Moreau C, Neaves LE, O'Brien D, Ochieng JW, Ogden R, Orozco-terWengel P, Páez-Vacas M, Pierson J, Ralls K, Shaw RE, Sogbohossou EA, Stow A, Steeves T, Vernesi C, Watsa M, Segelbacher G (2023) A pragmatic approach for integrating molecular tools into biodiversity conservation. *Conservation Science and Practice*.
- Bonin A, Nicole F, Pompanon F, Miaud C, Taberlet P (2007) Population adaptive index: a new method to help measure intraspecific genetic diversity and prioritize populations for conservation. *Conservation Biology* **21**, 697-708.
- Brüniche-Olsen A, Kellner KF, Anderson CJ, DeWoody JA (2018) Runs of homozygosity have utility in mammalian conservation and evolutionary studies. *Conservation Genetics* **19**, 1295-1307.
- Capblancq T, Morin X, Gueguen M, Renaud J, Lobreaux S, Bazin E (2020) Climate-associated genetic variation in *Fagus sylvatica* and potential responses to climate change in the French Alps. *Journal Of Evolutionary Biology* **33**, 783-796.
- COP15 (2022) Kunming-Montreal Global biodiversity framework. CBD <https://www.cbd.int/article/cop15-cbd-press-release-final-19dec2022>.
- Curik I, Ferenčaković M, Sölkner J (2014) Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock Science* **166**, 26-34.
- Dixon P (2003) VEGAN, a package of R functions for community ecology. *Journal of Vegetation Science* **14**, 927-930.
- Fischer MC, Pärli R, Gugerli F, Holderegger R, Lieberherr E, Widmer A (2020) Machbarkeitsstudie zur Untersuchung des Zustands und der Veränderung der genetischen Vielfalt: Vernetzung, Inzucht und Anpassungsfähigkeit. ETH Zurich, Zürich.
- Fischer MC, Ruprecht K, Gugerli F, Holderegger R, Widmer A (2021) Pilotstudie für ein Monitoring der genetischen Vielfalt in der Schweiz. Études pilotes sur le monitoring de la diversité génétique en Suisse. *N+L Inside* **21**, 11-13.
- Fischer MC, Ryffel A, Ruprecht K, Widmer A (2022) Monitoring der genetischen Diversität nimmt Formen an. *HotSpot* **46**, 24-25 (https://scnat.ch/de/uuid/i/dc57b51a-8656-8520d-ae8677-8027b8442abb8650-HOTSPOT_4622_Biodiversität_überwachen).
- Hoban S, Archer FI, Bertola LD, Bragg JG, Breed MF, Bruford MW, Coleman MA, Ekblom R, Funk WC, Grueber CE, Hand BK, Jaffe R, Jensen E, Johnson JS, Kershaw F, Liggins L, MacDonald AJ, Mergeay J, Miller JM, Muller-Karger F, O'Brien D, Paz-Vinas I, Potter KM, Razgour O, Vernesi C, Hunter ME (2022) Global genetic diversity status and trends: towards a suite of Essential Biodiversity Variables (EBVs) for genetic composition. *Biol Rev Camb Philos Soc*.
- Hoban S, Bruford M, D'Urban Jackson J, Lopes-Fernandes M, Heuertz M, Hohenlohe PA, Paz-Vinas I, Sjögren-Gulve P, Segelbacher G, Vernesi C, Aitken S, Bertola LD, Bloomer P, Breed M, Rodríguez-Correa H, Funk WC, Grueber CE, Hunter ME, Jaffe R, Liggins L, Mergeay J, Moharrek F, O'Brien D, Ogden R, Palma-Silva C, Pierson J, Ramakrishnan U, Simo-Droissart M, Tani N, Waits L, Laikre L (2020) Genetic diversity targets and indicators in the CBD post-2020 Global Biodiversity Framework must be improved. *Biological Conservation* **248**.
- Hvilsom C, Segelbacher G, Ekblom R, Fischer MC, Laikre L, Leus K, O'Brien D, Shaw RG, Sork V (2022) Selecting species and populations for monitoring of genetic diversity. *IUCN, Gland, Switzerland*.
- Johannssen C (2021) Silent witnesses. *Globe* (<https://ethz.ch/en/news-and-events/eth-news/news/2021/06/silent-witnesses.html>) **2**.
- Kardos M, Armstrong EE, Fitzpatrick SW, Hauser S, Hedrick PW, Miller JM, Tallmon DA, Funk WC (2021) The crucial role of genome-wide genetic variation in conservation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **118**.
- Karger DN, Conrad O, Böhner J, Kawohl T, Kreft H, Soria-Auza RW, Zimmermann NE, Linder HP, Kessler M (2017) Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas. *Sci Data* **4**, 170122.

- Kurland S, Saha A, Keehnen N, de la Paz Celorio-Mancera M, Diez-Del-Molino D, Ryman N, Laikre L (2023) New indicators for monitoring genetic diversity applied to alpine brown trout populations using whole genome sequence data. *Molecular Ecology*.
- Mark AF, Fetcher N, Shaver GR, Chapin FS (1985) Estimated ages of mature tussocks of *Eriophorum vaginatum* along a latitudinal gradient in Central Alaska, U.S.A. *Arctic and Alpine Research* **17**, 1-5.
- Mueller RP (2016) *Genetic assessment of translocations: a case study of two endangered amphibians*, Universität Zürich and WSL.
- Narasimhan V, Danecek P, Scally A, Xue Y, Tyler-Smith C, Durbin R (2016) BCFtools/RoH: a hidden Markov model approach for detecting autozygosity from next-generation sequencing data. *Bioinformatics* **32**, 1749-1751.
- Novembre J, Johnson T, Bryc K, Kutalik Z, Boyko AR, Auton A, Indap A, King KS, Bergmann S, Nelson MR, Stephens M, Bustamante CD (2008) Genes mirror geography within Europe. *Nature* **456**, 98-U95.
- O'Brien D, Laikre L, Hoban S, Bruford MW, Ekblom R, Fischer MC, Hall J, Hvilsom C, Hollingsworth PM, Kershaw F, Mittan CS, Mukassabi TA, Ogden R, Segelbacher G, Shaw RE, Vernesi C, MacDonald AJ (2022) Bringing together approaches to reporting on within species genetic diversity. *Journal of Applied Ecology* **59**, 2227-2233.
- Pärli R, Lieberherr E, Holderegger R, Gugerli F, Widmer A, Fischer MC (2021) Developing a monitoring program of genetic diversity: what do stakeholders say? *Conservation Genetics* **22**, 673-684.
- Patterson N, Price AL, Reich D (2006) Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genet* **2**, e190.
- Robuchon M, da Silva J, Dubois G, Gumbs R, Hoban S, Laikre L, Owen NR, Perino A (2023) Conserving species' evolutionary potential and history: Opportunities under the Kunming–Montreal Global Biodiversity Framework. *Conservation Science and Practice* **5**.
- Santiago E, Novo I, Pardinas AF, Saura M, Wang J, Caballero A (2020) Recent demographic history inferred by high-resolution analysis of linkage disequilibrium. *Mol Biol Evol* **37**, 3642-3653.
- Thurfjell H, Laikre L, Ekblom R, Hoban S, Sjögren-Gulve P (2022) Practical application of indicators for genetic diversity in CBD post-2020 global biodiversity framework implementation. *Ecological Indicators* **142**.
- Waples RS (2023) Practical application of the linkage disequilibrium method for estimating contemporary effective population size: A review. *Mol Ecol Resour*.
- Watterson GA (1975) On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theoretical Population Biology* **7**, 256-276.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**, 1358-1370.
- Weir BS, Hill WG (2002) Estimating F-statistics. *Annu Rev Genet* **36**, 721-750.
- Whitlock MC, McCauley DE (1999) Indirect measures of gene flow and migration: $F_{st} \neq 1/(4Nm + 1)$. *Heredity* **82**, 117-125.
- Willi Y, Kristensen TN, Sgro CM, Weeks AR, Orsted M, Hoffmann AA (2022) Conservation genetics as a management tool: The five best-supported paradigms to assist the management of threatened species. *Proc Natl Acad Sci U S A* **119**.

ETH Zürich
Institut für Integrative Biologie (IBZ)
Universitätstrasse 16
8092 Zürich

www.gendiv.ethz.ch

Redaktion: Martin C. Fischer und Andrea Ryffel
Gestaltung: Martin C. Fischer und Andrea Ryffel
Fotos: Martin C. Fischer

© ETH Zürich, Dezember 2023