

**Artbildung via Wirtsrassen bei *Tephritis conura*
(Diptera: Tephritidae)**



Dissertation
zur Erlangung des Grades
Doktor der Naturwissenschaften

am Fachbereich Biologie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Thorsten Diegisser
geboren am 14.10.1974 in Rüsselsheim

Mainz, 2005

1	EINLEITUNG	1
2	DAS WIRT-PARASIT-SYSTEM	7
2.1	Bionomie von <i>Tephritis conura</i>	7
2.2	Die Wirtspflanzen	8
2.2.1	<i>Cirsium heterophyllum</i>	8
2.2.2	<i>Cirsium oleraceum</i>	9
3	MATERIAL & METHODE	11
3.1	Sammelschema für genetische/morphometrische Analysen	11
3.2	Allozymelektrophorese	14
3.2.1	Durchführung	14
3.2.2	Datenauswertung	14
3.3	Sequenzierung der mitochondrialen DNA	16
3.3.1	Durchführung	16
3.3.2	Datenauswertung	16
3.4	Morphometrische Messungen	18
3.5	Versuche	19
3.5.1	Tiermaterial	19
3.5.2	Pflanzenmaterial	19
3.5.3	Wirtspräferenzen	20
3.5.3.1	Versuch mit Blättern	20
3.5.3.2	Versuch mit Rosetten	20
3.5.4	Paarungspräferenzen	20
3.5.5	Paarungsdauer	21
3.5.6	Eiablageversuche	22
3.6	Hybridstandort	22
3.6.1	Die Hybride	22
3.6.2	Probenentnahme & Analysen	23
3.6.3	Auswertung	24
4	ERGEBNISSE	25
4.1	Allozyme	25
4.1.1	Linkage Disequilibrium	25
4.1.2	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht	27
4.1.3	Genetische Diversität	27
4.1.4	Allelfrequenzen	29
4.1.5	Populationsstruktur	31
4.1.6	Genetische Distanzen & Identitäten	33
4.1.7	Isolation-by-Distance	37
4.1.8	Zuordnung der Individuen zu den Wirtsrassen	37
4.2	Mitochondriale DNA	37

4.2.1	Sequenzdiversität	37
4.2.2	Diversität & Verteilung der Haplotypen zwischen den Wirtsrassen	38
4.2.3	Haplotypenverteilung innerhalb der Wirtsrassen	43
4.2.4	Neutralitätstests & Mismatch Distribution	46
4.3	Morphometrie	48
4.3.1	Einfluss des Sammeljahres	48
4.3.2	Einfluss des Geschlechts	48
4.3.3	Einfluss der geographischen Lage	49
4.3.4	Morphometrische Differenzierung zwischen den Wirtsrassen	50
4.3.5	Einfluss des Verbreitungsmusters der Wirtspflanzen	53
4.3.6	Allometrische Beziehung zwischen Flügelgröße und Ovipositorlänge	54
4.4	Wirtspräferenzen	55
4.4.1	Versuch mit Blättern	55
4.4.2	Versuch mit Rosetten	57
4.5	Paarungspräferenzen	59
4.5.1	Einfluss der Wirtspflanzen auf die Paarungsaktivität	59
4.5.2	Zeitliche Differenzierung der Paarungsaktivität	61
4.5.3	Wirtspflanzenunabhängige Paarungspräferenzen	63
4.6	Paarungsdauer	64
4.7	Eiablageversuch	65
4.8	Hybridstandort	67
4.8.1	Die Parentalpopulationen	67
4.8.2	Gelegeanzahl & Gelegegröße	68
4.8.3	Analyse der mitochondrialen DNA	71
4.8.4	Morphometrische Analysen	72
5	DISKUSSION	74
5.1	Das heutige Wirtsrassen-System	74
5.1.1	Genetische Differenzierung	74
5.1.2	Morphologische Differenzierung	78
5.1.3	Heutige Isolationsbarrieren	84
5.1.4	Wirtsrassen oder Geschwisterarten?	91
5.2	Die Entwicklung des Systems	93
5.2.1	In welche Richtung fand der Wirtswechsel statt?	93
5.2.2	Wann fand der Wirtswechsel statt?	95
5.2.3	Welche Mechanismen waren für die Artbildung entscheidend?	97
5.2.4	Was war der geographische Modus der Artbildung?	101
5.2.5	Welche Bedingungen ermöglichten den Wirtswechsel?	105
6	ZUSAMMENFASSUNG	112
7	LITERATUR	115
ANHANG		

1 EINLEITUNG

"Arten sind Gruppen von sich untereinander tatsächlich oder potentiell fortpflanzender Populationen, die reproduktiv von anderen solchen Gruppen isoliert sind", definierte Ernst Mayr (1942, S. 120). Obgleich es inzwischen eine ganze Reihe weiterer miteinander konkurrierender Artkonzepte gibt, die versuchen Arten zum Beispiel als genotypische Cluster (Mallet 1995), phylogenetische (de Queiroz & Donoghue 1988, Cracraft 1989, Shaw 1998) oder evolutionäre Einheiten (Wiley 1978) zu charakterisieren, bleibt Mayrs biologisches Artkonzept jenes, welches bei der Frage, wie Arten *entstehen*, am nützlichsten ist. Denn bei der Artbildung interessieren (zumindest bei sich sexuell fortpflanzenden Eukaryoten) jene Prozesse und Mechanismen, aufgrund derer Gruppen von Populationen reproduktiv voneinander isoliert werden und daraufhin eigenständig evolvieren können. Es gilt, diese Isolationsbarrieren zu erkennen und zu quantifizieren, um Artbildung verstehen zu können (Coyne & Orr 2004).

In den letzten Jahren hat das Studium von Artbildungsprozessen nach jahrzehntelanger Stagnation eine Renaissance erfahren. Verschiedenste Aspekte wurden untersucht und resultierten in zahlreichen Artikeln und Büchern (siehe z.B. Otte & Endler 1989, Howard & Berlocher 1998, Barton 2001, Coyne & Orr 2004). Obgleich auf diese Weise eine Reihe von Prozessen und Phänomenen besser dokumentiert und verstanden werden konnte (Coyne & Orr 2004), bleiben die Antworten auf manche Fragen bislang ungeklärt, beziehungsweise werden kontrovers diskutiert. Dies gilt im besonderen Maße für die relative Bedeutung der Prozesse, die der Differenzierung von Populationen zugrunde liegen. Wie wichtig ist genetische Drift im Vergleich zu natürlicher Selektion (Gavrilets & Hastings 1996, Schluter 2001)? Ist die reproduktive Isolation nur ein Nebenprodukt verschiedener Selektionsregime oder gibt es direkte Selektion gegen Genfluss (Schluter 2001)? Und wenn letzteres der Fall ist: Kann dies während des gesamten Artbildungsprozesses der entscheidende Mechanismus sein (Dieckmann & Doebeli 1999) oder nur in der abschließenden Phase (Noor 1999)?

Damit eng verbunden ist die besonders kontrovers geführte Diskussion über den geographischen Modus der Artbildung. Unbestritten ist die Bedeutung der allopatrischen Artbildung, bei der sich geographisch getrennte Populationen aufgrund genetischer Drift und/oder verschiedener Selektionsregime differenzieren und daraus als ein Nebenprodukt reproduktive Isolation entsteht (Mayr 1963). Doch über die Wahrscheinlichkeit sympatrischer Artbildung gibt es sehr unterschiedliche Meinungen (siehe z.B. Berlocher & Feder 2002, Coyne & Orr 2004). Bei der sympatrischen Artbildung gibt es nämlich keine geographische Trennung der Populationen, sondern es kommt zur "Entstehung von Isolationsmechanismen (d.h. die Evolution einer Genflussbarriere) zwischen Mitgliedern einer sich kreuzenden

Population" (Futuyma & Mayer 1980, S. 255). Entsprechend müssen die Populationen bei der sympatrischen Artbildung also divergieren, obwohl wegen der fehlenden geographischen Trennung möglicher Genfluss die Differenzierung erschwert. Die meisten Modelle zur sympatrischen Artbildung beinhalten daher disruptive Selektion, das heißt Selektion gegen intermediäre Phänotypen, sodass die Populationen trotz anfänglichen Genflusses divergieren können (z.B. Kawecki 1996, 1997, Dieckmann & Doebeli 1999, Kondrashov & Kondrashov 1999, Fry 2003). In der abschließenden Phase kann dann Selektion gegen Hybride zur Stärkung präzygotischer Isolation führen, sodass es direkte Selektion für reproduktive Isolation gäbe (Via 2001, Dres & Mallet 2002). Es sind diese der Artbildung zugrunde liegenden Prozesse, deren Plausibilität und relative Bedeutung umstritten sind.

Obgleich manche dieser Aspekte mittels vergleichender phylogenetischer Methoden untersucht werden können (Berlocher 1998, Barraclough & Vogler 2000), sind vor allem mehr Fallstudien nötig, um ein besseres Verständnis der Prozesse und Mechanismen während der Artbildung zu erlangen (Jiggins & Mallet 2000, Schluter 2001, Via 2001). Mit Hilfe solcher Fallstudien kann auch untersucht werden, welche Isolationsbarrieren für die Diversifizierung von Populationen wichtig sind und unter welchen Umständen und in welcher Reihenfolge sich diese entwickeln. Dafür eignen sich besonders Systeme, bei denen der Artbildungsprozess noch im Gange ist (Harrison 1991, Templeton 1994).

Solche Systeme lassen sich besonders gut bei phytophagen Insekten finden, die schätzungsweise 25 bis 40 Prozent aller bekannten Arten ausmachen (Zwölfer 1975, Berlocher & Feder 2002). Phytophage Insekten weisen oft ein sehr enges Verhältnis zu ihren Wirtspflanzen auf, die bei vielen Arten sowohl Lebensraum für die Larven als auch Paarungsort der Adulten darstellen (Zwölfer 1974a). Aufgrund dieser engen Beziehung kann die Spezialisierung einer Insektenart auf verschiedene Wirtsarten dazu führen, dass die Populationen der einen Wirtspflanze von denen der anderen Wirtspflanze mehr oder weniger reproduktiv isoliert sind. Man spricht dann von sogenannten Wirtsrassen, wenn "Populationen einer Art als unmittelbare Folge der Anpassung an einen spezifischen Wirt von anderen, konspezifischen Populationen partiell reproduktiv isoliert sind" (Diehl & Bush 1984, S. 472). Diese Wirtsrassen stellen im kontinuierlich verlaufenden Artbildungsprozess eine Zwischenstufe dar, und eignen sich daher sehr gut, um die zugrunde liegenden Mechanismen und Prozesse zu untersuchen.

Die Existenz solcher Wirtsrassen konnte inzwischen für eine Reihe von Insektengruppen nachgewiesen werden, von Blattläusen (*Acythosiphon pisum*, Via 1999) über Käfer (*Epilachna niponica*, Katakura & Hosogai 1994), Grashüpfer (*Nilaparvata lugens*, Sezer & Butlin 1998) bis zu Kleinschmetterlingen (*Zeiraphera diniana*, Emelianov *et al.* 2001). Eine Gruppe, die besonders gut untersuchte Wirtsrassensysteme aufweist, sind die Frucht- oder Bohrfiegen (Diptera: Tephritidae). Bekanntestes Beispiel, vor allem aufgrund

der Pionierarbeit von Bush (1969, 1975), ist wohl die in Nordamerika verbreitete *Rhagoletis pomonella*, bei der der Wirtswechsel vom Weißdorn zu Apfelbäumen historisch belegt ist und sich seitdem eigene Wirtsrassen gebildet haben (Berlocher & McPheron 1996, Bush & Smith 1998, Feder *et al.* 1998). Andere Tephritiden-Arten, bei denen die Existenz von Wirtsrassen belegt werden konnte, sind *Eurosta solidaginis* (Brown *et al.* 1996, Itami *et al.* 1998, Craig *et al.* 2001) und *Tephritis bardanae* (Diegisser *et al.* 2004).

Eine weitere Art, bei der Wirtsrassen nachgewiesen wurden, ist *Tephritis conura* (LOEW 1844). Diese Fliege befällt mindesten neun Arten von Kratzdisteln (*Cirsium*) (Dirlbekova & Dirlbek 1970, Zwölfer 1988, Romstöck-Völkl 1997) und weist damit das größte bekannte Wirtsspektrum innerhalb der Gattung *Tephritis* auf (Komma 1990). Seitz und Komma (1984) stellten bei allozymelektrophoretischen Untersuchungen fest, dass sich Fliegen, die von *Cirsium heterophyllum* geschlüpft waren, von denen, die von *Cirsium oleraceum* geschlüpft waren, in ihren Allelfrequenzen signifikant unterschieden. Besonders an dem Locus Hexokinase wiesen die Fliegen eine stark wirtsspezifische Differenzierung auf, was als Hinweis auf eingeschränkten Genfluss zwischen den Fliegen der beiden *Cirsium*-Arten interpretiert werden konnte. Spätere Untersuchungen zeigten, dass sich die Fliegen auch in weiteren Merkmalen unterscheiden: Komma (1990) beobachtete deutliche Aufenthaltspräferenzen der Fliegen für ihren Wirt, wenn sie im Frühjahr aus ihren Winterquartieren zurückkehrten, und konnte mittels Farbkartenversuchen nachweisen, dass diese Präferenzen (zumindest teilweise) visueller Natur sind. Des Weiteren wiesen die Fliegen, die aus *C. heterophyllum* geschlüpft waren, signifikant kleinere Flügel auf als die Fliegen, die aus *C. oleraceum* geschlüpft waren (Komma 1990), während der Ovipositor länger war (Komma 1990, Romstöck-Völkl & Zwölfer 1991). [Im Folgenden werden Fliegen, die aus *C. heterophyllum* bzw. *C. oleraceum* geschlüpft sind, einfach als Heterophyllum-Fliegen bzw. Oleraceum-Fliegen bezeichnet.]

Eine wichtige Rolle bei dem Differenzierungsprozess könnte dabei die unterschiedliche Phänologie der beiden Wirtspflanzenarten spielen. Im Hauptuntersuchungsgebiet der bisherigen Studien, dem bayerischen Fichtelgebirge, kommen *C. heterophyllum* und *C. oleraceum* hauptsächlich parapatratisch vor, doch gibt es auch ein kleines Gebiet, wo beide gemeinsam auftreten. Allerdings blüht *C. heterophyllum* ungefähr drei bis vier Wochen früher als *C. oleraceum*. Da die Larvalentwicklung der Fliegen innerhalb der Blütenköpfe stattfindet und mit der Blütenkopfentwicklung der Wirtspflanze synchronisiert sein muss, um ein Überleben der Larven zu ermöglichen (Romstöck-Völkl & Zwölfer 1991), muss die Eiablage dementsprechend bei Heterophyllum-Fliegen deutlich früher stattfinden als bei Oleraceum-Fliegen. Tatsächlich konnte Komma (1990) beobachten, dass Heterophyllum-Fliegen drei bis vier Wochen vor den Oleraceum-Fliegen auf ihren Wirtspflanzen auftauchen (aus bislang unbekanntem Winterquartieren) und sich dort paaren und Eier ablegen. Bis die Oleraceum-

Fliegen auf den *C. oleraceum*-Rosetten erscheinen, sind die Heterophyllum-Fliegen mit der Eiablage auf *C. heterophyllum* bereits fertig und größtenteils gestorben. Entsprechend wird der Genfluss zwischen den Wirtsrassen durch die zeitliche Trennung stark eingeschränkt.

Zusammengefasst lässt sich also feststellen, dass es bei *T. conura* offenbar Anpassungen an verschiedene Wirtspflanzen gibt (nachgewiesene Wirtspräferenzen, morphologische Differenzierung) und der Genfluss zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen eingeschränkt ist (Hinweise durch Allozymdaten und Freilandbeobachtungen). Dementsprechend erfüllen die Fliegen die Kriterien der Definition von Diehl und Bush (1984) und können daher als Wirtsrassen bezeichnet werden.

In der vorliegenden Arbeit soll durch die Untersuchung bislang unberücksichtigter Aspekte versucht werden, das durch die vorangegangenen Studien erhaltene Bild der Wirtsrassen zu erweitern und dadurch ein tieferes Verständnis der Artbildungsprozesse bei *T. conura* zu ermöglichen. Es wird ein möglichst umfassender Überblick über das Maß der heutigen Differenzierung zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen angestrebt, um daraus ableiten zu können, wie das System evolvierte und welche Mechanismen und Prozesse dabei eine Rolle spielten.

Dazu soll untersucht werden, welche Isolationsbarrieren den Genfluss zwischen den Wirtsrassen überhaupt unterbinden. Dass Habitatpräferenzen existieren und dabei eine wichtige Rolle spielen, konnte Komma (1990) bereits nachweisen. Eine Bestätigung mit naiven Fliegen (d.h. Fliegen, die vor der Versuchsdurchführung keinerlei Kontakt mit ihren Wirtspflanzen als Adulte hatten) könnte aber zeigen, dass es sich dabei um ein genetisch determiniertes Verhaltensmuster handelt und die Präferenzen nicht, wie bei anderen Tephritiden nachgewiesen, auf Prägungsereignisse zurückzuführen sind (Prokopy *et al.* 1982, 1986). Auch soll analysiert werden, ob es sich bei der allochronen Isolation der Wirtsrassen nur um ein Nebenprodukt der Habitatpräferenz oder eine eigene präzygotische Isolationsbarriere handelt. Des Weiteren sollen Paarungsversuche Aufschluss darüber geben, ob es zusätzliche Partnerpräferenzen gibt. Schließlich wird mittels Eiablageexperimenten und der Analyse von Hybridgelegen auch untersucht, ob und inwieweit postzygotische Isolation zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen existiert.

Wie stark die durch die Isolationsbarrieren bedingte reproduktive Isolation ist, soll aus dem Maß der genetischen Differenzierung geschlossen werden. Zwei verschiedene Markersysteme, mitochondriale DNA und Allozyme, werden dafür eingesetzt. Während erstere neutral evolviert (Kimura 1991) und eine vorhandene Differenzierung entsprechend auf genetische Drift zurückgeführt werden kann, könnte bei den Allozymen auch das Wirken natürlicher Selektion aus dem Differenzierungsmuster abzuleiten sein (Slatkin 1987). Des Weiteren wird auch die morphologische Differenzierung zwischen den Wirtsrassen näher untersucht. Vorherige Untersuchungen dazu waren, ebenso wie die Allozymuntersuchungen,

zum größten Teil auf ein kleines geographisches Gebiet, das bayerische Fichtelgebirge, beschränkt. Dort kommen die beiden Wirtspflanzen *C. heterophyllum* und *C. oleraceum* in einem kleinen Gebiet gemeinsam vor, sind aber im Wesentlichen parapatrisc h verbreitet. Über einen großen Teil ihres Verbreitungsgebietes kommen die beiden Wirtspflanzen jedoch allopatrisch vor, in anderen Regionen wiederum sind sie über weite Gebiete sympatrisch verbreitet (Abb. 3.1). Diese verschiedenen Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen bieten eine viel versprechende Möglichkeit, die Prozesse, die der Wirtsrassendifferenzierung zugrunde liegen, näher zu untersuchen. In der vorliegenden Arbeit werden daher Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen aus allopatrischen, sympatrischen und parapatrischen Gebieten miteinander verglichen. Dadurch lassen sich möglicherweise Rückschlüsse auf die Mechanismen ziehen, welche die Differenzierung bewirkt haben.

Im Wesentlichen sind drei Muster möglich, die unterschiedliche Aussagen über den Artbildungsprozess bedingen. Eine Möglichkeit wäre, dass sich die Wirtsrassen in Kontaktzonen der Wirtspflanzen (Sympatrie/Parapatrie) aufgrund stärkeren Genflusses weniger unterscheiden als in Allopatrie. Dies könnte durch Eiablagen in die "falsche" Wirtspflanze und/oder durch Hybridpaarungen geschehen. Das Maß geringerer Differenzierung in Sympatrie/Parapatrie im Vergleich zur allopatrischen Region könnte dann Hinweise darüber liefern, wie stark der Genfluss zwischen den Wirtsrassen in solchen Gebieten ist und ob in sympatrischen Gebieten die Wirtsrassen überhaupt stabil sind beziehungsweise bestehen. In jedem Fall würde ein solches Muster darauf hinweisen, dass die reproduktive Isolation zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen eine passive Konsequenz verschiedener Selektionsregime und/oder genetischer Drift ist.

Alternativ könnte das genaue Gegenteil zu beobachten sein, das heißt eine stärkere Differenzierung der Wirtsrassen in den Kontaktzonen als in Allopatrie. Dieses Muster ließe sich durch Selektion gegen Hybridisierung und/oder Eiablagen in die falsche Wirtspflanzenart erklären. Wenn nämlich die falsche Wirtswahl oder Hybridpaarungen die Fitness der Nachkommen negativ beeinflussen, könnte Selektion in Kontaktzonen jene Merkmale fördern, die solche Ereignisse verhindern (z.B. Wirts- oder Partnerpräferenzen). Folglich wäre ein solches Muster ein Hinweis darauf, dass direkte Selektion für reproduktive Isolation eine Rolle beim Artbildungsprozess spielt.

Die dritte Möglichkeit schließlich wäre, dass die Wirtsrassendifferenzierung, unabhängig vom Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen, überall gleich stark ist. Dies könnte ein Beleg dafür sein, dass der Genfluss zwischen den Wirtsrassen so stark eingeschränkt ist, dass Introgressionereignisse (Hybridisierung/Eiablage in falschen Wirt) in den Kontaktzonen, wenn überhaupt, so selten sind, dass dadurch keine messbaren Unterschiede im Differenzierungsgrad festgestellt werden können. Alternativ könnte in den Kontaktzonen sowohl erhöhter Genfluss (Szenario 1) als auch Selektion gegen Hybridisierung/falsche

Eiablage (Szenario 2) stattfinden. Wenn sich beide Prozesse die Waage hielten, würde das Maß der Wirtsrassendifferenzierung jenem in Allopatrie entsprechen.

Durch die Ermittlung der der Differenzierung zugrunde liegenden Prozesse und der identifizierten Isolationsbarrieren sollen auch Aussagen darüber getroffen werden, in welchem geographischen Kontext diese Entwicklung stattgefunden haben könnte, das heißt, ob sich die Wirtsrassen in Sympatrie oder Allopatrie herausgebildet haben. Prinzipiell ist Ersteres bei der phytophagen *T. conura* leichter vorstellbar als bei anderen Tiergruppen. Normalerweise ergibt sich nämlich bei sympatrischen Artbildungsmodellen das Problem, dass die mittels disruptiver Selektion entstandene Differenzierung durch Rekombination wieder zunichte gemacht wird. Angenommen die Artbildung fände mittels einer Habitatisolation statt, so würde bei andauerndem Genfluss die Assoziation zwischen Allelen, welche die Fitness im entsprechenden Habitat beeinflussen, und jenen Allelen, welche die Habitaterkennung und/oder -präferenz bestimmen, durch Rekombination zerstört werden, sodass daraus Genotypen geringerer Fitness resultierten (Felsenstein 1981). Dieser Gegensatz zwischen Selektion und Rekombination besteht aber bei phytophagen Insekten, die sich wie *T. conura* auf ihren Wirtspflanzen paaren, nicht, da aus der Habitatwahl als pleiotropisches Nebenprodukt assortative Paarungen resultieren. Nach Bush (1969, 1975) ist daher für die sympatrische Artbildung von solchen Insekten nur nötig, dass in einem ersten Schritt Mutationen einen Wechsel der Wirtspräferenzen bedingen und daraufhin Adaptationen an die neue Wirtspflanze evolvieren, die ein optimales Überleben ermöglichen.

In der vorliegenden Arbeit soll aus den gewonnenen Erkenntnissen über die Art und Stärke der Isolationsbarrieren, sowie den zugrunde liegenden Differenzierungsprozessen auf die Wahrscheinlichkeit sympatrischer Artbildung bei *T. conura* geschlossen werden. Auch die phylogeographischen und populationshistorischen Analysen der mitochondrialen DNA könnten Hinweise auf den geographischen Kontext der Artbildung ergeben (Berlocher 1998, Berlocher & Feder 2002). Aus dem Differenzierungsmuster der DNA kann möglicherweise außerdem abgeleitet werden, in welche Richtung der Wirtswechsel stattgefunden hat und wie alt das System ist.

Die Kombination von genetischen und morphometrischen Analysen mit direkten Untersuchungen von potentiellen Isolationsbarrieren einerseits, und die Einbeziehung verschiedener Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen andererseits, stellen einen viel versprechenden Ansatz dar, um wichtige Aspekte der Wirtsrassendifferenzierung bei *T. conura* zu klären. Unter Einbeziehung der Ergebnisse früherer Studien soll die vorliegende Arbeit damit zu einem tieferen Verständnis der Artbildungsprozesse bei *T. conura* beitragen.

2 DAS WIRT-PARASIT-SYSTEM

2.1 BIONOMIE VON *TEPHRITIS CONURA*

Die Bohrflye *Tephritis conura* Loew (Diptera: Tephritidae) ist univoltin. Im Frühjahr treffen sich die Fliegen auf ihren Wirtspflanzen zur Paarung, kurz darauf legen die Weibchen ihre Eier in die Blütenknospen der Wirtspflanze ab. Die Blütenknospen müssen dabei ein bestimmtes Entwicklungsstadium aufweisen, was von den Weibchen mittels Einführen des Ovipositors überprüft wird. Eine Eiablage erfolgt anschließend nur, wenn der Hohlraum zwischen Blütenanlagen und den darüber zusammengebogenen Brakteen ausreichend groß ist (Romstöck 1982). Diese Abhängigkeit der Eiablage von einem spezifischen Entwicklungsstadium der Wirtspflanze grenzt die Eiablageperiode zeitlich stark ein (Eschenbacher 1982). Aus den Eiern schlüpfen nach einigen Tagen die Larven, die sich von den Röhrenblütenanlagen und vom Blütenboden ernähren. Nach Durchlaufen dreier Larvenstadien kommt es zur Verpuppung; ungefähr drei Wochen später schlüpfen die adulten Fliegen. Bei *C. heterophyllum* findet dies im Laufe des Julis statt, während sich bei *C. oleraceum* die Schlüpfperiode im Wesentlichen auf den August konzentriert. Über den Aufenthaltsort der Imagines, insbesondere im Winter, ist nichts bekannt. Im folgenden Frühjahr finden sich die Fliegen wieder auf ihren Wirtspflanzen ein, wo sie kurz nach Paarung und Eiablage absterben.

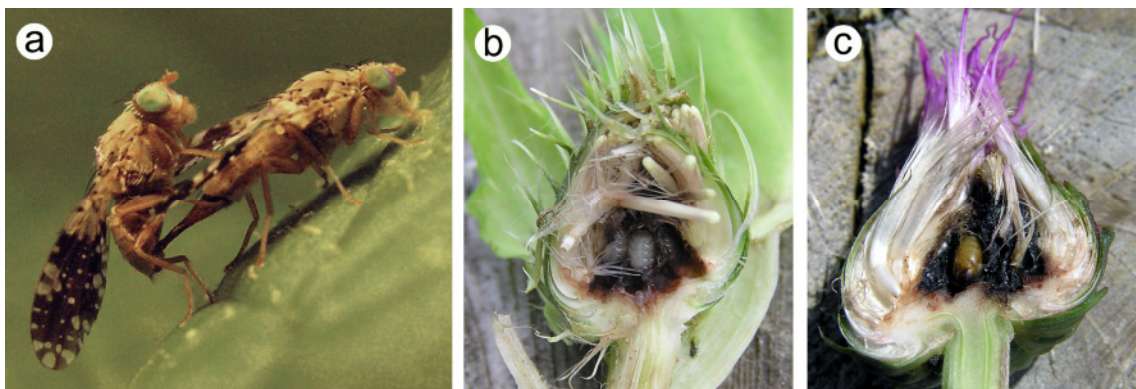


Abbildung 2.1. *Tephritis conura* a) Paarung b) Larven in *C. oleraceum* c) Puppen in *C. heterophyllum*.

2.2 DIE WIRTSPFLANZEN

Tephritis conura befällt ausschließlich Arten der Gattung *Cirsium* Mill. (Asteraceae: Cardueae) und ist innerhalb der Gattung wiederum auf die Sektion *Cirsium* beschränkt. Nachweise liegen für neun Arten vor: *Cirsium heterophyllum*, *C. oleraceum*, *C. acaule*, *C. palustre*, *C. spinosissimum*, *C. erisithales*, *C. filipendulum* (Romstöck-Völkl 1997), sowie *C. canum* und *C. pannonicum* (Dirlbekova & Dirlbek 1970). Diese weisen allerdings nicht alle eigene Wirtsrassen auf. Die auf Kalkmagerrasen vorkommende *C. acaule* erreicht wohl keine ausreichend hohen Dichten, um unabhängige Fliegenpopulationen zu erhalten, und wird statt dessen gelegentlich von Oleraceum-Fliegen als Wirt genutzt (Romstöck-Völkl 1997). Die Fliegen, welche die auf alpine Regionen begrenzte *C. spinosissimum* sowie *C. erisithales* befallen, lassen sich allozymelektrophoretisch ebenfalls nicht eigenen Wirtsrassen zuordnen, sondern clustern innerhalb der Heterophyllum-Wirtsrasse (Köhler 2005). Eine mögliche zusätzliche Wirtsrasse existiert in Schottland, wo *C. heterophyllum* und *C. palustre* von *T. conura*-Fliegen befallen werden, die sich morphologisch von der kontinentalen Heterophyllum-Wirtsrasse unterscheiden (Romstöck & Arnold 1987, Tritsch 2005). Von den anderen drei Wirtspflanzen (*C. filipendulum*, *C. canum* und *C. pannonicum*) wurden bislang keine Fliegen untersucht, sodass eine Zuordnung der entsprechenden Fliegen zu den bestehenden oder zu eigenen Wirtsrassen nicht möglich ist.

2.2.1 *Cirsium heterophyllum*

Cirsium heterophyllum (L.) Hill (synonym: *Cirsium helenioides* (L.) Hill) ist eine euro-sibirische Pflanze, deren Verbreitungsschwerpunkt im borealen Bereich liegt. Sie bevorzugt nährstoffreiche Nasswiesen, feuchte Gräben und Bachufer, sowie nasse Hochstaudenflure (Hegi 1979). Das Hauptareal von *C. heterophyllum* zieht sich von Skandinavien über das Baltikum bis nach Sibirien hinein (Abb. 3.1). Davon abgesehen weist sie aber auch noch eine Anzahl disjunkter Refugialgebiete in Mitteleuropa auf, wo sie in der montanen bis subalpinen Höhenstufe zu finden ist. Dazu gehören unter anderem die Alpen, die Pyrenäen, die Karpaten, und in Deutschland die östlichen Mittelgebirge (Fichtel- und Erzgebirge, sowie Bayerischer Wald). Dabei tritt *C. heterophyllum* in letzteren Regionen nicht unter 400m NN auf und wird erst ab 600m NN häufig. Unabhängig von den genauen Höhenvorkommen, die sich in den einzelnen Gebirgsregionen durchaus deutlich unterscheiden können, gibt es dabei aber (mit Ausnahme der Pyrenäen) stets einen schmalen Überlappungsbereich mit *C. oleraceum*.



Abbildung 2.2. *Cirsium heterophyllum* a) Trupp b) unbefallener (vorne) und parasitierter (hinten) Blütenkopf.

C. heterophyllum ist eine ausdauernde, 50 bis 150 cm hohe Pflanze mit walzenförmigem Wurzelstock, die sich über Ausläufer vegetativ vermehren kann (Hegi 1979). Die Laubblätter sind oberseits grün und kahl, während die Unterseite silbrig-weiß und behaart ist. Die Wuchsform der Laubblätter kann innerhalb eines Individuums zwischen fiederspaltig und ganzrandig wechseln; daher auch der deutsche Name "Verschiedenblättrige Kratzdistel". Der aufrechte Stängel besitzt meist mehrere Äste mit jeweils einem terminalen, purpurroten Blütenkopf (Abb. 2.2). Die phänologische Entwicklung der Blütenköpfe verläuft bei *C. heterophyllum* innerhalb eines Standortes relativ synchron (Romstöck-Völkl 1997), sodass Blütenknospen, die für die Eiablage von *T. conura* geeignet sind, nur über einen Zeitraum von zwei bis drei Wochen zur Verfügung stehen (standortabhängig zwischen Mitte Mai und Mitte Juni).

2.2.2 *Cirsium oleraceum*

Cirsium oleraceum (L.) Scop., die Kohldistel, bevorzugt nasse, nährstoffreiche, kalkhaltige, humose und tonige Böden, und ist daher typischerweise auf feuchten Wiesen, in Hochstaudenfluren, Sümpfen, Ufern, Gräben und Waldschlägen zu finden (Eschenbacher 1982). Es handelt sich bei ihr, wie bei *C. heterophyllum*, um eine eurosibirische Art, doch im Gegensatz zu Letzterer ist sie in Mitteleuropa häufig und kontinuierlich verbreitet (Abb. 3.1). Ihre West- und Nordgrenze erreicht sie in Nordfrankreich und Südkandinavien, südwärts dringt sie bis Ost- und Mittelfrankreich, Oberitalien und bis zum nördlichen Balkan vor. Im Osten reicht ihr Areal bis in die Ebenen Sibiriens (Hegi 1979). Sie ist entsprechend vor allem in planaren und kollinen Höhenstufen zu finden, kann aber in den Gebirgen auch montan

und teilweise subalpin vorkommen. Dabei tritt sie stets in geringeren Höhen als *C. heterophyllum* auf, doch existiert, wie bereits erwähnt, in der Regel zumindest eine schmale Überlappungszone.

C. oleraceum ist perennierend und treibt alljährlich aus einem Rhizom neu aus (Hegi 1979). Standortabhängig können die trupp- bis herdenweise auftretenden Pflanzen bis zu 2 m hoch werden. Der aufrechte Stängel verzweigt sich im oberen Teil, sodass er meist 5 bis 20 Blütenköpfe aufweist. Die weißlich-gelben Blütenköpfe sitzen zu mehreren gehäuft an den Enden der Äste und sind bis zur Blütezeit von bleich gelbgrünen Hüllblättern umgeben (Abb. 2.3). Die Phänologie der Blütenköpfe ist im Vergleich zu *C. heterophyllum* um ungefähr drei bis vier Wochen nach hinten verschoben, weshalb eine Belegung durch *T. conura* erst ab Mitte/Ende Juni stattfinden kann.

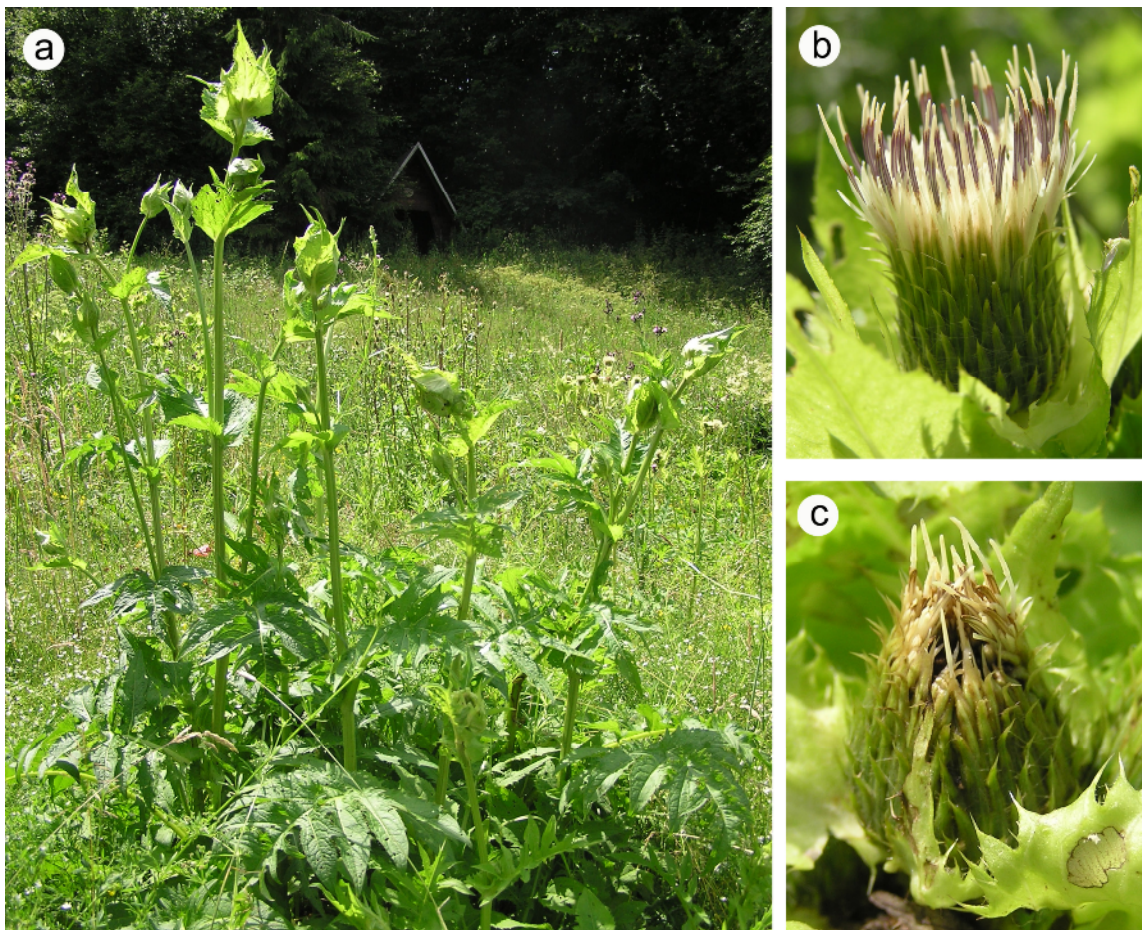


Abbildung 2.3. *Cirsium oleraceum* a) Trupp b) Blütenkopf (unbefallen) c) Blütenkopf (befallen).

3 MATERIAL & METHODE

3.1 SAMMELSCHEMA FÜR GENETISCHE/MORPHOMETRISCHE ANALYSEN

In die genetischen und morphometrischen Untersuchungen wurden *T. conura*-Fliegen von 64 verschiedenen Standorten einbezogen. Bei der Standortwahl wurde insbesondere darauf geachtet, Regionen einzubeziehen, in denen die Wirtspflanzen allopatrisch, parapatrisch beziehungsweise sympatrisch verbreitet sind (Abb. 3.1). Dabei wurde als Standort ein räumlich und kleinklimatisch abgegrenzter Ort bezeichnet, an dem *C. heterophyllum* und/oder *C. oleraceum* vorkamen. Die Fliegen, die von einer Wirtspflanzenart eines Standortes stammten, wurden als Population definiert. Da an drei Standorten beide Wirtspflanzen syntop vorkamen, resultiert dies in einer Gesamtzahl von 67 Populationen (Tabelle 3.1).

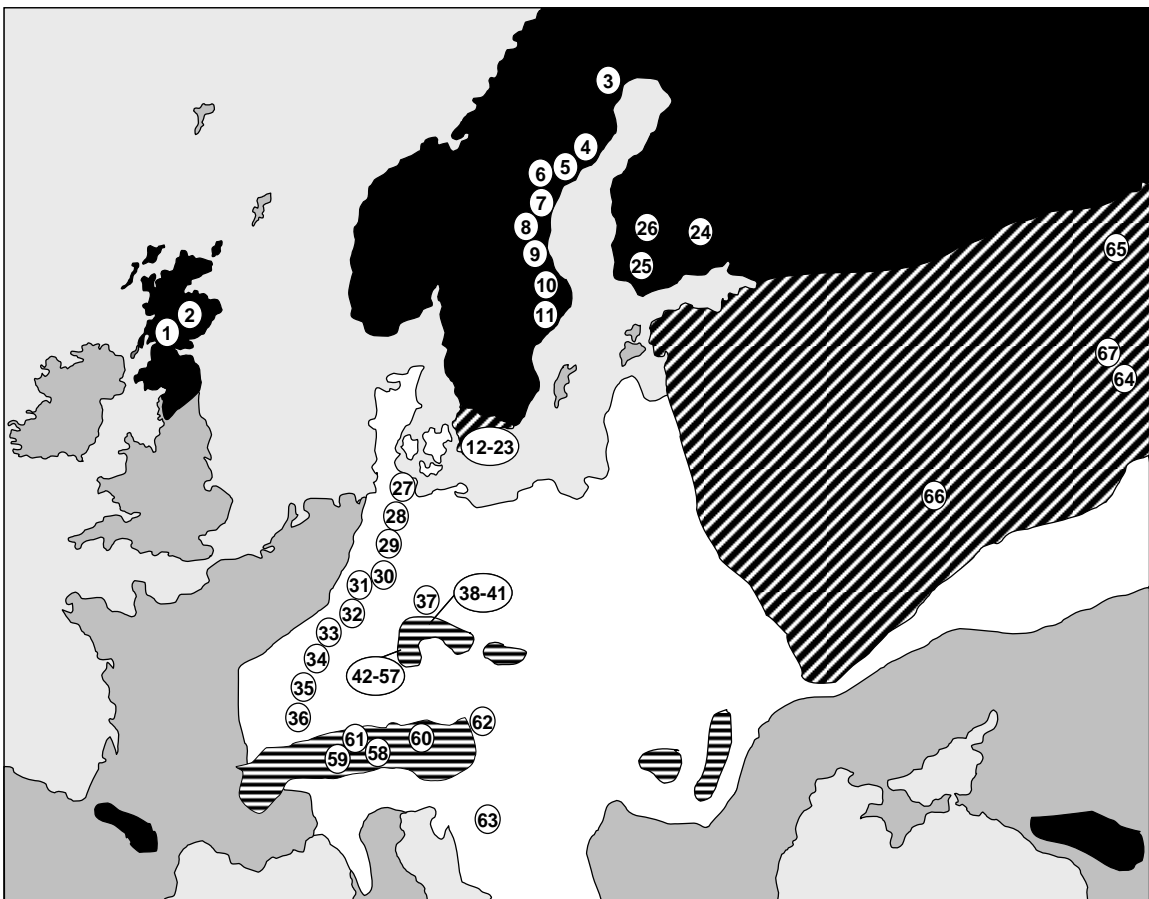


Abbildung 3.1. Verbreitung der Wirtspflanzen und Standorte aller genetisch und/oder morphometrisch untersuchten Populationen. Details zu den Standorten finden sich in Tabelle 3.1. weiß = allopatrische *C. oleraceum* Verbreitung; schwarz = allopatrische *C. heterophyllum* Verbreitung; diagonal gestreift = sympatrische Gebiete; horizontal gestreift = parapatrische Gebiete.

Tabelle 3.1. Übersicht aller genetisch und/oder morphometrisch untersuchten Populationen. Die erste Spalte bezieht sich auf Abbildung 3.1. Weitere Details zu den Standorten finden sich im *Anhang 1*. Die letzten drei Spalten geben Auskunft über die Art der durchgeführten Untersuchungen. A+F = Allozymelektrophorese & Flügelvermessung; DNA = Sequenzierung mitochondrialer DNA; M = morphometrische Vermessungen von Flügel und Ovipositor; *hetero* = *C. heterophyllum*; *olera* = *C. oleraceum*.

No.	Population	Wirt	Standort	Region	A+F	DNA	M
1	HSc2	<i>hetero</i>	Bridge of Orchy	Schottland		x	
2	HSc6	<i>hetero</i>	Little Dunkeld	Schottland		x	
3	HST11	<i>hetero</i>	Boden	Transekt Schweden		x	
4	HST10	<i>hetero</i>	Fredrika	Transekt Schweden	x	x	x
5	HST9	<i>hetero</i>	Peresjö	Transekt Schweden	x	x	x
6	HST8	<i>hetero</i>	Herrskog	Transekt Schweden	x	x	
7	HST7	<i>hetero</i>	Njurunda	Transekt Schweden	x	x	
8	HST6	<i>hetero</i>	Sörfosa	Transekt Schweden	x	x	
9	HST5	<i>hetero</i>	Lingbo	Transekt Schweden	x	x	
10	HST4	<i>hetero</i>	Tierp	Transekt Schweden	x	x	
11	HST3	<i>hetero</i>	Rydbo	Transekt Schweden	x	x	x
12	HS2	<i>hetero</i>	Harphult	Südschweden	x	x	x
13	HS4	<i>hetero</i>	Gaddaröd	Südschweden	x	x	
14	HS6	<i>hetero</i>	Aspinge	Südschweden	x	x	x
15	HS8	<i>hetero</i>	Höör	Südschweden	x	x	
16	HS13	<i>hetero</i>	Tommaholma	Südschweden	x	x	x
17	OS2	<i>olera</i>	Osbyholm	Südschweden	x	x	
18	OS3	<i>olera</i>	Rövarkulans	Südschweden	x	x	x
19	OS6	<i>olera</i>	Bjärnum	Südschweden	x	x	
20	OS7	<i>olera</i>	Skäldervigen	Südschweden	x	x	
21	OS8	<i>olera</i>	Rosendal	Südschweden	x	x	
22	OS9	<i>olera</i>	Rästanga	Südschweden			x
23	OS10	<i>olera</i>	Brönnestad	Südschweden	x	x	
24	HF2	<i>hetero</i>	Mäntyharju	Finnland		x	
25	HF4	<i>hetero</i>	Helsinki	Finnland		x	
26	HF6	<i>hetero</i>	Putkilahti	Finnland		x	
27	OD2	<i>olera</i>	Lütjenburg	Transekt Deutschland	x	x	
28	OD4	<i>olera</i>	Luhdorf	Transekt Deutschland	x	x	
29	OD5	<i>olera</i>	Unsen	Transekt Deutschland	x	x	
30	OD6	<i>olera</i>	Bad Karlshafen	Transekt Deutschland			x
31	OD7	<i>olera</i>	Spangenberg	Transekt Deutschland	x	x	
32	OD8	<i>olera</i>	Vogelsberg	Transekt Deutschland	x	x	

Fortsetzung Tabelle 3.1

No.	Population	Wirt	Standort	Region	A+F	DNA	M
33	OD9	<i>olera</i>	Eitville	Transekt Deutschland	x	x	x
34	OD10	<i>olera</i>	Altleiningen	Transekt Deutschland	x	x	
35	OD12	<i>olera</i>	Hohenhurst	Transekt Deutschland	x	x	
36	OD14	<i>olera</i>	Ühlingen	Transekt Deutschland	x	x	
37	OD15	<i>olera</i>	Nossen	Transekt Deutschland		x	
38	HE2	<i>hetero</i>	Frauenstein	Erzgebirge		x	
39	HE3	<i>hetero</i>	Zöblitz	Erzgebirge		x	
40	HE4	<i>hetero</i>	Erlabrunn	Erzgebirge		x	
41	HE5	<i>hetero</i>	Klingenthal	Erzgebirge		x	
42	H1	<i>hetero</i>	Huetten	Fichtelgebirge			x
43	H4	<i>hetero</i>	Fleckl	Fichtelgebirge	x	x	
44	H5	<i>hetero</i>	Bischofsgrün	Fichtelgebirge			x
45	H9	<i>hetero</i>	Schneeberg	Fichtelgebirge	x	x	
46	H13	<i>hetero</i>	Mehlmeisel	Fichtelgebirge	x	x	
47	HO1	<i>hetero</i>	FGS Radweg	Fichtelgebirge	x	x	
48	HO2	<i>hetero</i>	Sickenreuth	Fichtelgebirge	x	x	
49	HO3	<i>hetero</i>	Pfeiferhaus	Fichtelgebirge	x	x	x
50	OH1	<i>olera</i>	FGS Radweg	Fichtelgebirge	x	x	
51	OH2	<i>olera</i>	Sickenreuth	Fichtelgebirge	x	x	
52	OH3	<i>olera</i>	Pfeiferhaus	Fichtelgebirge	x	x	
53	O2	<i>olera</i>	Eimersmühle	Fichtelgebirge	x	x	x
54	O7	<i>olera</i>	Heinersreuth	Fichtelgebirge	x	x	
55	O9	<i>olera</i>	Lessau	Fichtelgebirge			x
56	O10	<i>olera</i>	Seulbitz	Fichtelgebirge			x
57	O11	<i>olera</i>	Ützdorf	Fichtelgebirge	x	x	
58	HA1	<i>hetero</i>	Astlehn	Alpen		x	
59	HA2	<i>hetero</i>	Wirl	Alpen		x	
60	OA1	<i>olera</i>	St. Johann	Alpen		x	
61	OA2	<i>olera</i>	Paznauntal	Alpen		x	
62	OA3	<i>olera</i>	Aggsbach-Dorf	Alpen		x	
63	OK1	<i>olera</i>	Zagreb	Kroatien		x	
64	OR1	<i>olera</i>	Tetjushi	Russland		x	
65	OR3	<i>olera</i>	Kotelnich	Russland		x	
66	HR2	<i>hetero</i>	Elets	Russland		x	
67	HR3	<i>hetero</i>	Raifa	Russland		x	

Die Proben wurden in den Monaten Juli und August der Jahre 2002 bis 2004 gesammelt. Dazu wurden an den Standorten ungefähr 50 bis 150 Blütenköpfe abgeschnitten (die Anzahl richtete sich nach der Standortgröße), die aufgrund ihres Erscheinungsbildes parasitiert erschienen. Anschließend wurden die Blütenköpfe in abgedunkelten Plastikflaschen gelagert, die eine lichtdurchlässige Öffnung im Deckel aufwiesen. Schlüpfende Fliegen wurden vom einfallenden Licht aus der Plastikflasche gelockt und mittels umgedrehter Glasfläschen abgefangen. Bis zu den morphometrischen und genetischen Untersuchungen wurden sie dann bei -80°C eingefroren.

3.2 ALLOZYMELEKTROPHORESE

3.2.1 Durchführung

Die Allozymanalysen wurden mittels Zellulose-Acetat-Elektrophorese durchgeführt. Nötige Vorbereitungen sind bei Hebert und Beaton (1989) beschrieben. Es wurden (wenn möglich) 24 Individuen pro Standort untersucht, je zwölf Männchen und zwölf Weibchen. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Fliegen möglichst an verschiedenen Tagen geschlüpft waren. Dies sollte den Anteil an Vollgeschwistern verringern, da Fliegen eines Geleges in der Regel innerhalb von ein bis zwei Tagen schlüpfen (Romstöck 1982, eigene Beobachtungen). Insgesamt wurden 950 Fliegen von 40 Populationen allozymelektrophoretisch untersucht.

In ausführlichen Screening-Tests erwiesen sich 13 verschiedene Loci als auswertbar (Tabelle 3.2). Die beiden verwendeten Puffersysteme *Tris-Citrat pH8,2* und *Tris-Glycin pH8,5* entstammen Richardson *et al.* (1986), beziehungsweise Hebert und Beaton (1989). Alle Enzyme wurden für 30 Minuten bei 250 Volt elektrophoretisch getrennt. Die Rezepte für das Färbechemikaliengemisch entstammen entweder direkt Hebert und Beaton (1989) oder wurden leicht modifiziert (Diegisser 2001).

3.2.2 Datenauswertung

Diversitätsparameter und genetische Identitäten (Nei 1972) wurden mit *G-Stat* (Siegismund 1993) berechnet. Das Programm *GDA* (Lewis & Zaykin 2001) wurde benutzt, um Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht und Linkage Disequilibrium mittels Exakt-Tests zu diagnostizieren. Genetische Distanzen (Nei 1972) und UPGMA Phänogramme (Fitch & Margoliash 1967) wurden mit dem Softwarepaket *Phylip* (Felsenstein 1993) errechnet. Auf Isolation-by-distance (Wright 1943) wurde mit dem Programm *Genepop* (Raymond & Rousset 2000) getestet, welches mittels eines Mantel-Tests (Mantel 1967) auf Signifikanz prüft.

Für die hierarchische F-Statistik wurde das Programm *Arlequin 2.0* (Schneider *et al.* 2000) verwendet, welches nach der Methode von Weir und Cockerham (1984) die Varianz zwischen Populationen (F_{ST}) auf verschiedene Hierarchiestufen aufteilen kann. In der vorliegenden Arbeit wurde als weitere Hierarchieebene die Wirtspflanzenzugehörigkeit (W) eingeführt, sodass der F_{ST} aufgeteilt wird in einen F_{WT} (der Anteil der Varianz, der auf die Wirtspflanzenzugehörigkeit zurückgeführt werden kann) und in einen F_{SW} (der Anteil der Varianz, der innerhalb einer Wirtspflanzengruppe zwischen den Populationen existiert). Die entsprechenden F-Werte wurden mit einem nichtparametrischen Permutationsansatz nach Excoffier *et al.* (1992) auf Signifikanz überprüft (implementiert in *Arlequin 2.0*).

Mit dem Programm *Structure 2.1* (Pritchard *et al.* 2000) wurde quantifiziert, wie gut sich Individuen aufgrund ihres Allozymgenotyps einer Wirtsrasse zuordnen lassen. Das Programm berechnet aus Multilocusdaten mittels einer modellbasierten Clustermethode die Wahrscheinlichkeit, mit der sich Genotypen einer Gruppe zuordnen lassen. Die Anzahl der Gruppen entsprach den Wirtsrassen ($K = 2$); sowohl die Burnin-Länge als auch die Anzahl der Durchläufe wurde auf 10.000 gesetzt.

Tabelle 3.2. Untersuchte Allozyme. EC = Internationale Enzymnummer; TG 8.5 = Tris-Glycin pH 8,5; TC 8.2 = Tris-Citrat pH 8,2.

EC	Enzym	Abkürzung	Puffer
4.2.1.3	Aconitathydratase	Acon	TG 8.5
2.7.3.3	Argininkinase	Apk	TG 8.5
4.2.1.2	Fumarathydratase	Fum	TG 8.5
1.2.1.12	Glyceraldehyd-3-phosphatdehydrogenase	G3pdh	TC 8.2
2.6.1.1	Glutamat-Oxalacetattransferase	Got	TG 8.5
1.1.1.30	β -Hydroxybutyratdehydrogenase	Hbdh	TG 8.5
2.7.1.1	Hexokinase	Hex	TC 8.2
1.1.1.42	Isocitratdehydrogenase	Idh	TC 8.2
1.1.1.44	6-Phosphogluconatdehydrogenase	Pgd	TC 8.2
3.4.11.11	Peptidase A (Gly-Leu)	PepA	TG 8.5
3.4.13.9	Peptidase D (Phe-Pro)	PepD	TG 8.5
5.4.2.2	Phosphoglucomutase	Pgm	TG 8.5
3.2.1.28	Trehalase	Tre	TC 8.2

3.3 SEQUENZIERUNG DER MITOCHONDRIALEN DNA

3.3.1 Durchführung

Insgesamt wurden 241 Individuen von 61 Populationen an zwei verschiedenen mtDNA Loci untersucht. Die DNA wurde aus dem Homogenat der vorangegangenen Allozymanalysen gewonnen. Extraktions- und PCR-Bedingungen entsprechen denen bei Diegisser *et al.* (2004). Die Primer S2792 (5' ATA-CCT-CGA-CGT-TAT-TCA-GA 3') und A3661 (5' CCA-CAA-ATT-TCT-GAA-CAT-TGA-CCA 3') (Brown *et al.* 1996) wurden verwendet, um ein Fragment zu amplifizieren, das Teile der Cytochrom Oxidase Untereinheit I, tRNA_{Leu}, und Teile der Cytochrom Oxidase Untereinheit II kodiert (der Locus wird im folgenden COI/II genannt). Der zweite Locus (16S/ND1) kodiert für Teile der 16S rRNA, tRNA_{Leu}, sowie Teile der NADH1 Dehydrogenase und wurde mit den Primern LR-N-12945 (5' CGA-CCT-CGA-TGT-TGA-ATT-AA 3') und N1-J-12261 (5' TCG-TAA-GAA-ATT-ATT-TGA-GC 3') (Hedin 1997) erhalten. Details zu Aufreinigung, Sanger-PCR und Sequenzierung finden sich bei Diegisser (2001).

3.3.2 Datenauswertung

Mit dem Programm *Arlequin 2.0* (Schneider *et al.* 2000) wurden Diversitätsindices, wie die Anzahl der Haplotypen pro Population und die Nukleotiddiversität (π), berechnet. Um zu überprüfen, ob die beobachtete mtDNA Variation auf neutrale Evolution oder Selektion zurückzuführen ist, wurden verschiedene Neutralitätstests durchgeführt. Der McDonald-Kreitman-Test (McDonald & Kreitman 1991) wurde benutzt, um die Nullhypothese, die eine neutrale Evolution der vorhandenen Variation postuliert, auf signifikante Abweichungen zu überprüfen. Dies geschieht über einen Vergleich des Anteils synonyme und nichtsynonyme Mutationen innerhalb und zwischen Arten. Im Gegensatz zu anderen Neutralitätstests (siehe unten) ist dieser Ansatz weitgehend unabhängig von der Genealogie der Populationen (Nielsen 2001). Für den zwischenartlichen Vergleich wurden Sequenzen von *Tephritis bardanae* benutzt (GenBank Accession Numbers: AY956401, AY343502); der Test wurde mit dem Programm *DnaSP v4.0* (Rozas *et al.* 2003) durchgeführt.

Des Weiteren wurden Tajimas D-Test (Tajima 1989) und Fus F_s -Test (Fu 1997) mit *Arlequin 2.0* (Schneider *et al.* 2000) berechnet. Im Gegensatz zu dem McDonald-Kreitman-Test beinhaltet die Nullhypothese dieser Tests jedoch nicht nur die Annahme, dass die Variation selektionsneutral evolviert ist, sondern auch, dass sich die Populationen in einem demographischen Gleichgewicht befinden. Dies bedeutet, dass die Ablehnung der Nullhypothese auch von demographischen Parametern verursacht werden kann. So können

beispielsweise mit dem D-Test genetische Flaschenhälse ("population bottlenecks") entdeckt werden (Simonsen *et al.* 1995), während der F_s -Test sehr sensibel für Populationsexpansionen ist (Fu 1997). Wenn daher der McDonald-Kreitman-Test eine neutrale Evolution nicht ablehnen kann, werden in der vorliegenden Arbeit signifikante Abweichungen bei den D- und F_s -Tests in einem demographischen Kontext diskutiert, das heißt als Abweichungen vom Populationsgleichgewicht. Die D- und F_s -Tests wurden für die Wirtsrassen getrennt durchgeführt, wobei innerhalb der Wirtsrassen zusätzlich noch einmal verschiedene geographische Regionen getestet wurden: Die Heterophyllum-Populationen wurden den Regionen Schottland, Skandinavien, Russland, Alpen, und Fichtel-/Erzgebirge zugeordnet, die Oleraceum-Populationen den Regionen Schweden, Deutschland, Alpen, Kroatien und Russland.

Eine weitere Methode, um Aussagen über die demographische Populationsgeschichte treffen zu können, stellt die sogenannte "Mismatch Distribution" dar. Darunter versteht man die Verteilung der beobachteten paarweisen Nukleotidunterschiede innerhalb einer Population. In stabilen, verhältnismäßig alten Populationen wird eine multimodale Verteilung erwartet, während Populationen, die eine relativ rezente demographische Expansion erlebt haben, eine unimodale Verteilung aufweisen sollten (Harpending *et al.* 1998). Mit *Arlequin 2.0* (Schneider *et al.* 2000) wurden beide Wirtsrassen und zusätzlich jede Region getrennt (siehe oben) auf Abweichungen von einem schrittweisen Expansionsmodell überprüft.

Um zwischen dem Einfluss historischer Prozesse und jenem gegenwärtigen Genflusses auf die Populationsstruktur bei *T. conura* unterscheiden zu können, wurde eine "Nested Clade Analysis" (NCA) durchgeführt. Diese kladistische Methode versucht mittels der Genealogie von Haplotypen und deren geographischer Verbreitung Aussagen über die zugrunde liegenden Differenzierungsprozesse zu treffen (Templeton *et al.* 1995, Templeton 1998). Das dazu benötigte "Minimum Spanning Network" der Haplotypen, das die minimal nötigen Mutationen zwischen allen Haplotypen visualisiert, wurde mit dem Programm *TCS 1.13* (Clement *et al.* 2000) erstellt. Wenn es mehrere gleichwertige Möglichkeiten gab, Haplotypen miteinander zu verbinden, wurde für die NCA jene Alternative ausgewählt, die aufgrund verschiedener Kriterien am wahrscheinlichsten schien. Nach Voraussagen aus der Koaleszenztheorie (Pfenninger & Posada 2002) sind dies: (1) das Frequenzkriterium (die Verbindung zu einem häufigeren Haplotypen wird bevorzugt), (2) das topologische Kriterium (die Verbindung zu einem inneren Haplotypen wird gegenüber einem äußeren bevorzugt) und (3) das geographische Kriterium (Verbindungen zu Haplotypen der gleichen Population/Region werden gegenüber Haplotypen entfernter Populationen bevorzugt).

Bei den entsprechend erstellten Haplotypnetzwerken wurden dann die Kladen gemäß Templeton (1998) zugeordnet. Mit diesen Kladen wurden dann in dem Programm *Chiperm v1.2* (Posada 2000) kategorische Tests durchgeführt. Damit sollte überprüft werden, ob die Haplotypen/Kladien inhomogen zwischen den Wirtsrassen verteilt sind. Des Weiteren wurden

die sogenannten "Clade Distances" mit *GeoDis 2.2* (Posada *et al.* 2000) berechnet. Details zu diesen, sowie Anleitungen zu ihrer Interpretation, finden sich unter anderem bei Templeton *et al.* (1995) und Templeton (1998). Statistisch signifikante "Clade Distances" wurden mit einem Bestimmungsschlüssel (Templeton 2004) interpretiert.

3.4 MORPHOMETRISCHE MESSUNGEN

Die morphometrischen Untersuchungen beruhen auf zwei unterschiedlichen Datensätzen. Zum einen wurde bei allen allozymelektrophoretisch untersuchten Individuen die Flügellänge vermessen. Voruntersuchungen hatten gezeigt, dass die Flügellänge bei *T. conura* stark mit der Thoraxlänge korreliert ($R_{177} = 0,84$; $P < 0,0001$) und daher als Maß für die Körpergröße betrachtet werden kann. Um die Flügel zu vermessen, wurden sie mittels Uhrmacherpinzetten abpräpariert, mit einem Tesafilmstreifen auf Diagonalrahmen geklebt und digital fotografiert (Details in Diegisser 2001). Vermessen wurde immer nur der rechte Flügel, wobei die Flügellänge als die Distanz zwischen den Punkten A und B in Abbildung 3.2a definiert wurde. Der ursprünglich erhaltene Pixelwert wurde mittels Eichungen in Millimeter umgerechnet.

In einem weiteren Datensatz wurden ausschließlich Weibchen analysiert. Die entsprechenden Populationen wurden unter Berücksichtigung aller Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen (allo-, para- und sympatrisch) ausgewählt. Zusätzlich zu den Flügeln wurde an diesen Populationen noch der Ovipositor analysiert. Dazu wurde ventral die Länge des Oviskaps, des sklerotisierten Teils des Legebohrers, vermessen (Abb.3.2b). Die statistische Auswertung aller morphometrischen Daten geschah mit *Statistica v6.1* (StatSoft Inc. 2004).

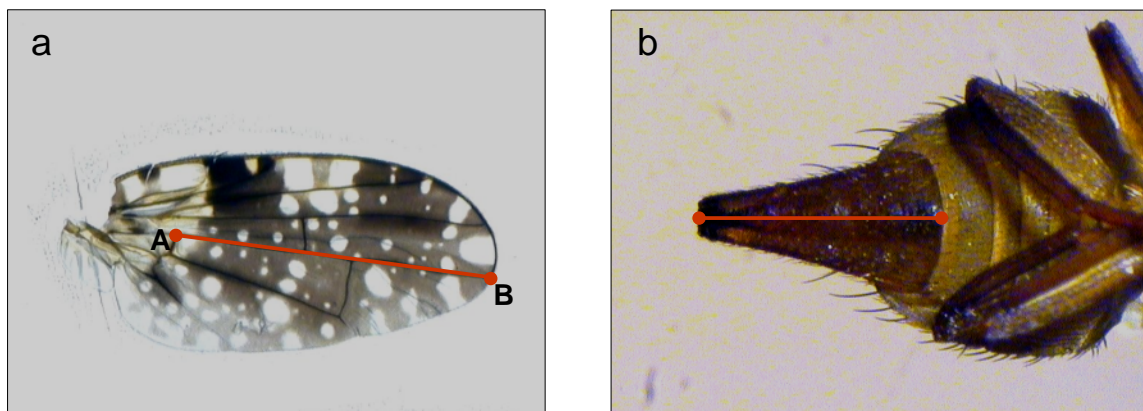


Abbildung 3.2. Morphometrische Vermessungspunkte a) Flügel b) Ovipositor.

3.5 VERSUCHE

3.5.1 Tiermaterial

Für die Versuche wurden *T. conura*-Fliegen verschiedener Herkunft verwendet. Entweder wurden sie im Frühjahr direkt im Freiland von ihren Wirtspflanzen abgefangen oder es handelte sich um im Labor geschlüpfte Tiere. Letztere wurden, wenn möglich, aus verschiedenen Gründen bevorzugt. Zum einen handelte es sich dabei um "naive" Fliegen, die vor den Versuchen noch keinen Kontakt mit ihrer Wirtspflanze gehabt hatten. Für die Ermittlung von Wirtspräferenzen konnte damit der Einfluss einer eventuellen (nichtgenetischen) Prägung, wie sie in anderen Tephritiden nachgewiesen wurde (Prokopy *et al.* 1982, 1986), ausgeschlossen werden. Zum anderen wurden für einige Versuche Fliegen beider Wirtsrassen gleichzeitig benötigt (z.B. bei den Paarungsversuchen). Da im Freiland aber eine zeitliche Trennung im Auftreten der Wirtsrassen besteht (entsprechend der unterschiedlichen Phänologie ihrer Wirtspflanzen), ist es praktisch nicht möglich, beide Wirtsrassen zur gleichen Zeit im Feld abzufangen.

Die Hälterung der Fliegen im Labor erwies sich allerdings als schwierig. *T. conura* wird erst nach dem Überwintern sexuell aktiv und zeigt vorher auch kein Interesse an der Wirtspflanze. Daher müssen die Fliegen, um entsprechende Versuche durchführen zu können, erfolgreich über den Winter gebracht werden, was bislang nicht gelungen war (Romstöck-Völkl 1997). In der vorliegenden Arbeit konnten zumindest Teilerfolge erzielt werden. Insbesondere im Hinblick auf zukünftige Studien werden daher im Anhang die Hälterungs- und Versuchsbedingungen detailliert beschrieben und diskutiert. Eine Reihe von ursprünglich geplanten Versuchen konnte aber nicht durchgeführt werden. Dies betraf insbesondere den Vergleich von Partner- und Wirtspräferenzen von Fliegen aus sympatrischen, parapatrischen und allopatrischen Gebieten. Die für die durchgeführten Versuche verwendeten Fliegen stammten alle aus dem Fichtelgebirge.

3.5.2 Pflanzenmaterial

Für viele Versuche wurden die Wirtspflanzen *C. heterophyllum* und *C. oleraceum* benötigt. Diese stammten entweder aus dem Freiland oder waren in Gewächshäusern und Anzuchträumen aufgezogen worden. Letzteres sollte zusammen mit der Laborhälterung der Fliegen die Versuchsdurchführung von jahreszeitlichen Bedingungen unabhängig machen. Dies gelang in der vorliegenden Arbeit nur teilweise. Obgleich daher manche ursprünglich geplanten Versuche nicht durchgeführt werden konnten, gilt es aber - wie bei der Fliegenhälterung - die gewonnenen Erkenntnisse und erzielten Fortschritte für künftige Arbeiten zu dokumentieren (siehe Anhang 3).

3.5.3 Wirtspräferenzen

Für die Versuche zur Wirtspräferenz wurden Käfige mit den Maßen 70 x 50 x 40 cm genutzt. An den Längsseiten befanden sich Plexiglasscheiben, der Rest des Käfigs war mit Gaze bespannt.

3.5.3.1 Versuch mit Blättern

Je vier Blätter von *C. oleraceum* und *C. heterophyllum* wurden in kleine mit Wasser gefüllte Gläschen gestellt und je 10 Fliegen im Käfig angeboten. Alle fünf Minuten wurde notiert, wo sich die Fliegen aufhielten (Versuchsdauer pro Ansatz: 50 min). Nach jeder Beobachtung wurden alle Fliegen von den Blättern vertrieben. Die erste Messung erfolgte 5 min nachdem die Fliegen in den Käfig eingesetzt wurden. Nach jeder Messreihe wurden die Blätter nach einem Zufallsschema neu verteilt.

Dieser Versuch wurde im Mai/Juni 2003 mit aus dem Freiland abgefangenen Fliegen durchgeführt, sowie im Februar 2004 mit Fliegen, die seit dem Schlüpfen im vorherigen Sommer im Labor gehalten worden waren.

3.5.3.2 Versuch mit Rosetten

Innerhalb des Versuchskäfigs befanden sich jeweils eine *C. heterophyllum*- und eine *C. oleraceum*-Rosette. Diese waren vorher "ausgedünnt" worden, sodass der Aufenthaltsort aller auf der Rosette befindlichen Fliegen erkennbar war. Die Fliegen hatten einen Tag Zeit, sich an den Käfig zu gewöhnen, dann wurden sowohl vormittags als auch nachmittags je 10 Beobachtungen in 10-minütigem Abstand gemacht. Nach jeder Beobachtung wurden alle Fliegen von den Rosetten vertrieben. Die Käfige standen unter Pflanzenleuchten, sodass beide Rosetten gleichermaßen beleuchtet waren. Zwischendurch wurden die Käfige gedreht, um einen eventuellen Einfluss von ungleichen Lichtverhältnissen zu kompensieren.

Der Versuch fand im Januar 2005 mit naiven Fliegen statt. Dabei wurden getrennte Messreihen für beide Geschlechter, sowie verpaarte und unverpaarte Fliegen mit jeweils 30 Fliegen durchgeführt.

3.5.4 Paarungspräferenzen

Generell wurden die Fliegen bei diesen Versuchen immer markiert, um die Wirtsrassen auseinander halten zu können. Dazu wurden die Fliegen zunächst mit Kohlendioxid betäubt. Anschließend wurde am Mesonotum ein Farbpunkt aufgetragen, indem eine Sonde in farbiges Tipp-Ex getaucht und auf der Fliege abgetupft wurde. Nachdem die Betäubung nachgelassen hatte, ließen sich so markierte Fliegen in keiner Weise in ihrem Verhalten von unmarkierten Fliegen unterscheiden.

Die Quantifizierung von Paarungspräferenzen fand in den gleichen Versuchskäfigen statt, die auch für die Wirtspflanzenversuche benutzt wurden (siehe oben). Vorversuche hatten darauf hingewiesen, dass Wirtspflanzen einen wichtigen Faktor darstellen könnten, was die Paarungsaktivität betrifft. In dem Versuchsdesign wurden daher verschiedene Wirtspflanzenkombinationen berücksichtigt (Tabelle 3.3)

Tabelle 3.3. Versuchsdesign Paarungspräferenzen.

Käfig	Rosetten
1	2 <i>C. heterophyllum</i>
2	2 <i>C. oleraceum</i>
3	1 <i>C. heterophyllum</i> und 1 <i>C. oleraceum</i>
4	keine
5	je 1 (kleine) <i>C. palustre</i> , <i>C. acaule</i> , <i>C. tuberosum</i> , <i>C. erisithales</i>

In allen fünf Käfigen befanden sich je 20 Fliegen beider Wirtsrassen und beiderlei Geschlechts. Diese waren zwei Wochen nach dem Schlüpfen (Juli/August 2004) in Klimakammern gebracht und dort bis kurz vor der Versuchsdurchführung (Mitte November) unter Winterbedingungen gehalten worden. Der Versuch wurde bei Zimmertemperatur (ca. 21°C) und unter Langtagsbedingungen durchgeführt. Die Käfige waren so aufgestellt, dass kein visueller Kontakt zwischen ihnen möglich war. Mehrfach täglich wurde auf Paarungen kontrolliert. Aufgrund der langen durchschnittlichen Paarungsdauer bei *T. conura* (siehe Ergebnisse) sollten dadurch die meisten Paarungen beobachtet worden sein.

Der Versuchsansatz erwies sich als ungeeignet, um Paarungspräferenzen zu quantifizieren (siehe Ergebnisse), weswegen ein weiterer Paarungsversuch durchgeführt wurde. In einen Versuchskäfig (Käfig 6, 44 x 48 x 50 cm, keine Wirtspflanzen) kamen je 50 Fliegen beider Wirtsrassen und beiderlei Geschlechts. Bei diesen beiden Ansätzen wurden sich paarende Fliegen entnommen und durch entsprechend markierte Fliegen ersetzt.

3.5.5 Paarungsdauer

Zur Messung der Paarungsdauer ausgewählte Käfige wurden im fünfminütigen Abstand auf Paarungen kontrolliert. Sich paarende Fliegen wurden direkt entnommen und in kleine Glasfläschchen überführt. Diese wurden mit einer Videokamera bis zum Paarungsende gefilmt, wobei die Uhrzeit mit aufgezeichnet wurde. Entsprechend sind die gemessenen Paarungszeiten maximal mit einem Fehler von fünf Minuten behaftet.

3.5.6 Eiablageversuche

Es konnten keine Eiablageversuche mit den verpaarten Weibchen der obigen Versuche durchgeführt werden, weil zu diesem Zeitpunkt keine Wirtspflanzen mit belegbaren Blütenknospen in den Anzuchträumen zur Verfügung standen. Zumindest teilweise gelang dies jedoch im Frühjahr 2003 mit Fliegen und Pflanzen aus dem Freiland. Sowohl Heterophyllum- als auch Oleraceum-Weibchen, die sich im Freiland bereits verpaart hatten, wurden auf belegbare *C. oleraceum*-Pflanzen gesetzt. Dazu wurde ein einzelnes Weibchen in einem Gazesäckchen über einen belegbaren Blütenkopf gebunden und dort für mehrere Tage belassen (mehrfach täglich wurden die Fliegen mit Wasser versorgt). Die entsprechenden Blütenköpfe wurden täglich auf Ablageversuche untersucht, die als Einstiche in den Hüllblättern erkennbar sind. Deuteten diese auf eine erfolgte Eiablage hin, wurde das Weibchen für morphometrische und genetische Analysen eingefroren.

Die Blütenköpfe wurden ungefähr drei Wochen später abgeschnitten und in kleine, mit Gaze verschlossene Plastikbehälter überführt. Schlüpfen aus einem Blütenkopf Fliegen, wurde noch zwei bis drei Tage gewartet (um ein quantitatives Schlüpfen zu gewährleisten), bevor diese ebenfalls eingefroren wurden. Sowohl bei den Müttern als auch bei der F1-Generation wurden Flügel und (bei Weibchen) der Ovipositor vermessen, sowie allozymelektrophoretische Untersuchungen durchgeführt (siehe entsprechende Abschnitte). Alle im Versuch angebotenen Blütenköpfe wurden schließlich noch seziiert, um festzustellen, ob sie eventuell nicht geschlüpfte *T. conura* (Eier, Larven, Puppen) enthielten.

3.6 HYBRIDSTANDORT

Im Erzgebirge konnte ein Standort gefunden werden, an dem nicht nur *C. oleraceum* und *C. heterophyllum*, sondern auch Hybride der beiden Wirtspflanzen auftreten. Dieser Standort befindet sich auf einer Wiese in Hanglage (436m üNN) und wird im Folgenden als Hybridstandort oder HXO bezeichnet.

3.6.1 Die Hybride

Die Hybride weisen einen intermediären Phänotyp auf (Abb. 3.3). Während der rötlich gefärbte Stängel und die kaum vorhandenen Hüllblätter dem *C. heterophyllum*-Phänotypen entsprechen, sind die Blüten meistens weißlich-gelb wie bei *C. oleraceum* (es kommen aber auch rötliche Blüten vor). Die Blätter liegen farblich und von der Form zwischen denen der Parentalarten (die typische silbrigweiße Unterseite von *C. heterophyllum* ist aber noch zu erkennen). Insgesamt konnten auf der Wiese mindestens neun Trupps als Hybride klassifiziert werden, deren Entfernung zueinander eine klonale, vegetative Ausbreitung unwahrscheinlich macht. Durchgeführte Mikrosatelliten-Analysen (nach der Methode

beschrieben in Lampei 2005) zeigten, dass es sich in der Tat um verschiedene Individuen handelt.



Abbildung 3.3. *C. oleraceum* x *C. heterophyllum*-Hybride a) Trupp b) Blütenköpfe.

3.6.2 Probenentnahme & Analysen

Der Standort wurde im Sommer 2004 zweimal beprobt. Ende Juni wurden anscheinend befallene Blütenköpfe von *C. heterophyllum*, *C. oleraceum* und den Hybriden gesammelt, ohne zwischen einzelnen Pflanzen zu unterscheiden. Die *C. oleraceum*-Pflanzen waren in ihrer Phänologie deutlich hinter *C. heterophyllum* und den Hybriden zurück, die Blütenköpfe wiesen zumeist noch keine Puppen oder fortgeschrittene Larvenstadien auf.

Mitte Juli wurde ein zweites Sampling durchgeführt. Diesmal wurden von den Hybriden die Blütenköpfe jeder Pflanze separat gesammelt. Im Labor wurden anscheinend befallene Blütenköpfe einzeln in mit Gaze bedeckten Plastikdöschen aufbewahrt. Nach dem Schlüpfen von Fliegen wurde noch mindestens zwei Tage gewartet, bis die Fliegen des entsprechenden Blütenkopfes eingefroren wurden, um ein möglichst vollständiges Schlüpfen zu gewährleisten.

Alle geschlüpfen Fliegen von den Hybridpflanzen wurden sowohl morphometrisch als auch allozymelektrophoretisch ausgewertet. Allerdings beschränkte sich die Untersuchung auf die Loci *Hex*, *PepD*, *Idh*, *Pgd*, *Got* und *Hbdh*. Bei einem Teil der Individuen wurde außerdem noch mitochondriale DNA (16S/ND1) sequenziert. Des Weiteren wurden Fliegen

der Parentalpopulationen (d.h. von *C. heterophyllum* bzw. *C. oleraceum* geschlüpfte Fliegen) genetisch (Allozyme und mtDNA) untersucht.

Schließlich wurden noch die Blütenköpfe der Hybridpflanzen mit einer Schieblehre vermessen, um auf einen Zusammenhang zwischen Blütenkopfgröße und Anzahl geschlüpfter Fliegen testen zu können.

3.6.3 Auswertung

Mittels der Allelfrequenzen der Parentalpopulationen konnte für jeden Genotypen berechnet werden, mit welcher Wahrscheinlichkeit er aus einer reinrassigen Paarung (*heterophyllum* bzw. *oleraceum*) oder einer Hybridpaarung entstanden war. Dafür wurden nur die beiden Loci verwendet, welche die mit Abstand deutlichsten Allelfrequenzunterschiede zwischen den Wirtsrassen aufweisen: *Hex* und *PepD*. Aus den Frequenzen der beiden häufigsten Allele jedes Locus' (siehe Ergebnisse) konnten die absoluten Wahrscheinlichkeiten für neun verschiedene F1-Genotypen berechnet werden.

Dies soll an einem Beispiel verdeutlicht werden: Angenommen eine F1-Fliege hat den Genotyp *Hex100100/PepD100100*. Wären ihre Eltern *Heterophyllum*-Fliegen, hätten sie in ungefähr 75% aller Fälle diesen Genotypen gezeugt (dies berechnet sich aus den entsprechenden Allelfrequenzen der Parentalpopulation: $0,91^2 \times 0,95^2$; siehe Anhang 16). Wären ihre Eltern *Oleraceum*-Fliegen, wäre ein solcher Genotyp nur in 0,01% aller Fälle entstanden ($0,34^2 \times 0,03^2$). Bei einer Hybridpaarung schließlich betrüge die Chance 0,8% diesen Genotypen zu produzieren ($[0,91 \times 0,34] \times [0,95 \times 0,03]$). Diese Wahrscheinlichkeiten wurden als *absolute* Wahrscheinlichkeiten bezeichnet. Aus diesen wurden dann *relative* Wahrscheinlichkeiten berechnet. Unter der Voraussetzung, dass alle Paarungstypen (H x H, O x O, H x O) gleich häufig sind, lässt sich für das gewählte Beispiel folgendes schließen: Zu 98,95% waren die Eltern *Heterophyllum*-Fliegen, zu 0,01% *Oleraceum*-Fliegen und zu ca. 1% ist der beobachtete Genotyp Ergebnis einer Hybridpaarung. Wann immer ein Genotyp mit mindestens 95% *relativer* Wahrscheinlichkeit einer Wirtsrasse beziehungsweise Hybridpaarung entstammte, wurde er entsprechend zugeordnet.

Von allen Blütenköpfen, bei denen die Genotypen auf ein Hybridgelege schließen ließen, wurden immer noch zusätzlich einzelne Individuen sequenziert. Aufgrund wirtsrassenspezifischer Haplotypen im Erzgebirge und der maternalen Vererbung der mtDNA konnte auf diese Weise bestimmt werden, ob das Gelege von einem *Heterophyllum*- oder *Oleraceum*-Weibchen stammte. Auch bei Blütenköpfen, deren Allozym-Genotypen darauf hinwiesen, dass Mehrfachbelegungen verschiedener Wirtsrassen stattgefunden hatten, wurden einzelne Tiere am 16S/ND1 Locus sequenziert.

4 ERGEBNISSE

4.1 ALLOZYME

Um die Vergleichbarkeit mit anderen (zukünftigen) Studien zu ermöglichen, wurden die Allele nach ihrer relativen Laufstrecke benannt (Tabelle 4.1). Dabei wurde dem häufigsten Allel der Wert 100 zugeteilt. Am Locus *Hbdh* wanderte das häufigste Allel unter den gewählten Laufbedingungen nicht, sondern verblieb exakt auf dem Auftragspunkt. Daher wurde das zweithäufigste Allel als Referenz genommen. Dieses lief allerdings nicht in Richtung Anode, sondern in Richtung Kathode, und erhielt daher den Wert -100.

Tabelle 4.1. Relative Laufstrecken aller gefundenen Allele.

	Relative Laufstrecke von Allel								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Acon	70	100	110	125	150				
Apk	80	100	115						
Fum	35	70	100	185	290				
G3pdh	75	100							
Got	45	65	75	100	125	135	145		
Hbdh	-290	-200	-100	0	40	100			
Hex	95	100	104	107					
Idh	85	92	96	100	108	115			
PepA	65	70	80	85	90	95	100	108	115
PepD	75	80	88	92	100	108	112	123	
Pgd	85	100	110	120					
Pgm	10	60	100	140	155				
Tre	91	95	97	98	100	103			

4.1.1 Linkage Disequilibrium

Es besteht prinzipiell die Möglichkeit, dass die untersuchten Loci nicht unabhängig voneinander vererbt, sondern gekoppelt weitergegeben werden. Da in einem solchen Fall die einzelnen Loci nicht mehr als unabhängig betrachtet werden können (Weir 1990) und dies bei der weiteren Auswertung berücksichtigt werden müsste, wurde mittels FISHER-Exakt-Tests (3200 Durchläufe) auf ein solches Kopplungsungleichgewicht (Linkage Disequilibrium) geprüft. Dazu wurden alle Loci innerhalb einer Population paarweise miteinander verglichen. Aufgrund der entsprechend hohen Testanzahl (40 Populationen x 78 Locuskombinationen)

kommt es zu einer beträchtlichen Alpha-Fehler-Kumulierung, die rein statistisch eine gewisse Zahl an signifikanten Abweichungen erwarten lässt. Daher wurde eine sequenzielle Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Danach wiesen noch fünf Populationen für jeweils eine Locuskombination signifikante Abweichungen auf (HST3 und HST5 bei *PepA/Acon*; HST7 bei *PepA/PepD*; OD2 bei *Acon/Apk*; OS7 bei *Got/Pgm*). Da dies einerseits nur ein kleiner Bruchteil aller Kombinationen war und außerdem verschiedene Kombinationen betroffen waren, wurde für die weiteren Analysen davon ausgegangen, dass Linkage Disequilibria bei den untersuchten Populationen keinen entscheidenden Faktor darstellten.

Tabelle 4.2. Test auf Hardy-Weinberg-Verteilung. Aufgeführt sind nur Populationen und Loci mit signifikanten Abweichungen ($p < 0,05$). Pop. = Populationen; F_{IS} = Inzuchtskoeffizient nach Weir & Cockerham (1984). Hervorgehobene Zahlen = signifikante Abweichung nach sequenzieller Bonferroni-Korrektur.

Pop.	<i>Acon</i>		<i>Got</i>		<i>Hbdh</i>		<i>ldh</i>		<i>Pgm</i>		<i>PepA</i>		<i>PepD</i>		<i>Tre</i>	
	P	F_{IS}	P	F_{IS}	P	F_{IS}	P	F_{IS}	P	F_{IS}	P	F_{IS}	P	F_{IS}	P	F_{IS}
HST8					0,030	+0,51							0,020	+0,24		
HST7					0,016	-0,43										
HS6					0,047	+0,42										
HS8													0,005	+0,26		
OS3					0,033	+0,49										
OS6											0,014	-0,48				
OD2			0,019	+0,29							0,030	+0,12	0,017			
OD4	0,003	+0,66														
OD5							0,020	+1,00								
OD8	0,020	+0,32							0,043	-0,30						
OD9					0,015	+0,45										
OD10	0,023	+0,37														
OD12	0,019	+0,22														
OD14											0,001	+0,32				
HO1					0,034	-0,46					0,005	+0,24				
HO2											0,027	-0,19				
HO3					0,016	-0,53										
H4											0,028	+0,20				
H13											0,001	+0,55				
OH2															0,026	+0,63
O2	0,027	+0,40											0,017	+0,44		

4.1.2 Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) wurde mittels Exakt-Tests (3200 Durchläufe; FISHER-Methode) überprüft, da diese bei kleinen Stichproben und mehreren Allelen anderen Methoden vorzuziehen sind (Weir 1990). Über alle Loci gab es keine einzige Population, die eine signifikante Abweichung vom HWG aufwies. Dies änderte sich, wenn man die Loci separat betrachtete (Tabelle 4.2). Eine Reihe von Populationen zeigte dann an verschiedenen Loci signifikante Abweichungen der Genotypverteilung vom Erwartungswert. Signifikante P-Werte wurden dabei sowohl durch Heterozygotenüberschüsse (entspricht negativen F_{IS} -Werten), als auch durch Heterozygotendefizite (positive F_{IS} -Werte) verursacht. Wegen der großen Anzahl durchgeführter Tests (40 Populationen x 13 Loci) wurden wiederum sequenzielle Bonferroni-Korrekturen durchgeführt. Danach wiesen nur noch zwei Populationen am Locus *PepA* ein signifikantes Heterozygotendefizit auf. Für die weitere Auswertung wurde daher davon ausgegangen, dass im Wesentlichen innerhalb der definierten Populationen Panmixie vorlag.

4.1.3 Genetische Diversität

Tabelle 4.3 gibt einen Überblick über verschiedene Diversitätsparameter aller untersuchten Populationen. Beim Vergleich zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen zeigten sich dabei deutliche Unterschiede. Sowohl die erwartete als auch die beobachtete Heterozygotie war bei Heterophyllum-Fliegen niedriger als bei Oleraceum-Populationen (heterophyllum: $H_E = 0,193 / H_O = 0,175$; oleraceum: $H_E = 0,216 / H_O = 0,213$), und dieser Unterschied war hochsignifikant (Mann-Whitney-U-Test für H_E : $Z_{38} = 3,55$, $P < 0,001$; für H_O : $Z_{38} = 3,68$, $P < 0,001$). Analysierte man die Loci separat, so ließ sich dieses Muster bei vier Loci wieder finden: Der Heterozygotiegrad der Loci *Got*, *Hex*, *PepA* und *Pgd* war bei den Heterophyllum-Fliegen jeweils signifikant geringer als bei den Oleraceum-Fliegen (alle $P < 0,027$).

Die unterschiedliche genetische Diversität der Wirtsrassen schlug sich auch in den anderen Diversitätsparametern nieder. Die durchschnittliche Allelzahl pro Locus war geringer in Heterophyllum-Populationen ($AA_{Het} = 2,19$; $AA_{Olera} = 2,39$; U-Test: $Z_{38} = 2,28$, $P = 0,023$), und auch die Anzahl der polymorphen Loci je Population unterschied sich signifikant ($P[95]_{Het} = 6,74$; $P[95]_{Olera} = 8,19$; U-Test: $Z_{38} = 3,07$, $P = 0,002$).

Im Gegensatz dazu gab es innerhalb der Wirtsrassen zwischen den verschiedenen geographischen Regionen (heterophyllum: Schweden Transekt, Südschweden, Fichtelgebirge; oleraceum: Südschweden, Deutschland Transekt, Fichtelgebirge) keine signifikanten Unterschiede im Heterozygotie- und Polymorphiegrad sowie in der Allelzahl.

Tabelle 4.3. Diversitätsparameter für allozymelektrophoretisch untersuchte Populationen.
hetero = *C. heterophyllum*; olera = *C. oleraceum*; allo = Allopatrie; sym = Sympatrie;
para = Parapatrie; N = Anzahl Fliegen; AA = Allelanzahl; P [95%] = Anzahl polymorpher Loci auf
dem 95% Niveau; H_E = erwartete Heterozygotie; H_O = beobachtete Heterozygotie.

Population	Wirtspflanze	Patrie	N	mittlere AA/Locus	P [95%]	H _E	H _O
HST10	hetero	allo	24	2,31	9	0,169	0,171
HST9	hetero	allo	24	2,39	7	0,140	0,154
HST8	hetero	allo	24	2,46	8	0,220	0,208
HST7	hetero	allo	24	2,00	6	0,140	0,170
HST6	hetero	allo	24	2,31	7	0,158	0,157
HST5	hetero	allo	24	2,15	7	0,172	0,178
HST4	hetero	allo	24	2,31	6	0,490	0,147
HST3	hetero	allo	24	2,39	8	0,202	0,180
HS2	hetero	sym	24	2,08	7	0,189	0,192
HS4	hetero	sym	24	1,85	6	0,142	0,154
HS6	hetero	sym	24	2,54	10	0,217	0,208
HS8	hetero	sym	24	1,92	6	0,191	0,184
HS13	hetero	sym	24	2,00	6	0,169	0,183
OS2	olera	sym	24	2,46	7	0,196	0,181
OS3	olera	sym	24	2,46	9	0,226	0,221
OS6	olera	sym	24	2,46	9	0,209	0,237
OS7	olera	sym	23	2,15	9	0,271	0,281
OS8	olera	sym	24	2,00	8	0,174	0,183
OS10	olera	sym	24	2,39	8	0,208	0,231
OD2	olera	allo	24	2,54	8	0,226	0,218
OD4	olera	allo	21	2,31	6	0,193	0,165
OD5	olera	allo	24	2,46	7	0,167	0,157
OD7	olera	allo	24	2,23	8	0,223	0,212
OD8	olera	allo	24	2,39	10	0,275	0,279
OD9	olera	allo	24	2,46	9	0,222	0,205
OD10	olera	allo	24	2,85	8	0,235	0,215
OD12	olera	allo	24	2,23	6	0,203	0,192
OD14	olera	allo	24	2,31	6	0,207	0,183
H4	hetero	para	24	2,31	6	0,194	0,193
H9	hetero	para	24	2,39	7	0,179	0,176
H13	hetero	para	24	2,23	7	0,184	0,159
HO1	hetero	para	24	1,85	4	0,146	0,146
HO2	hetero	para	24	2,15	6	0,178	0,178
HO3	hetero	para	24	2,08	5	0,183	0,183
OH1	olera	para	18	2,08	9	0,202	0,222
OH2	olera	para	24	2,23	10	0,195	0,185
OH3	olera	para	24	2,23	9	0,195	0,186
O2	olera	para	24	2,23	8	0,218	0,192
O7	olera	para	24	2,77	10	0,256	0,271
O11	olera	para	24	2,92	8	0,236	0,249

4.1.4 Allelfrequenzen

Eine Übersicht über die Allelfrequenzen aller Populationen und Loci findet sich im Anhang. Zwischen den Wirtsrassen gab es eine Reihe hochsignifikanter Allelfrequenzunterschiede, die in Tabelle 4.4 zusammengefasst sind. Dabei fallen zwei Loci auf, bei denen sich die Allelfrequenzen mehrerer Allele besonders stark zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen unterschieden. Bei der Hexokinase wurden im Wesentlichen zwei Allele gefunden: *Hex100* war das mit Abstand dominierende Allel bei Heterophyllum-Fliegen mit einer durchschnittlichen Frequenz von 93%, während bei Oleraceum-Fliegen das Allel *Hex107* vorherrschte (Allelfrequenz 0,80). Eine ähnlich große Differenzierung zwischen den Wirtsrassen fand sich am Locus Peptidase D. Während *PepD100* fast ausschließlich bei Heterophyllum-Fliegen zu finden war, dominierte *PepD92* bei Oleraceum-Populationen (trat im Gegensatz dazu aber kaum bei Heterophyllum-Tieren auf).

Im Vergleich zu den Allelfrequenzunterschieden an den Loci Hexokinase und Peptidase D waren jene an den anderen Loci deutlich geringer und betrafen meist seltenere Allele.

Tabelle 4.4. Signifikante Allelfrequenzunterschiede zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen. (Mann-Whitney-U-Tests; FG = 38) Signifikanzniveaus (nach Bonferroni-Korrektur): *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001.

<i>Allel</i>	Frequenz		Z
	oleraceum	heterophyllum	
<i>Acon125</i>	0,06	0,01	3,66*
<i>Hex100</i>	0,19	0,93	-5,40***
<i>Hex107</i>	0,80	0,07	5,40***
<i>Pgd100</i>	0,90	0,97	-3,74*
<i>Pgd110</i>	0,07	0,01	4,79***
<i>PepA85</i>	0,24	0,13	3,47*
<i>PepD80</i>	0,07	0,01	4,58***
<i>PepD92</i>	0,88	0,06	5,40***
<i>PepD100</i>	0,03	0,84	-5,40***

Zusätzlich zu dem Einfluss der Wirtspflanze wurde auch auf eine mögliche geographische Differenzierung getestet. Nach Bonferroni-Korrektur ergaben sich zwischen den verschiedenen Regionen einer Wirtsrasse nur am Locus *Hbdh* signifikante Differenzen. Sowohl bei Heterophyllum- als auch bei Oleraceum-Fliegen unterschieden sich die schwedischen von den bayerischen Populationen. Das Hauptallel *Hbdh00* kam in den schwedischen Populationen deutlich häufiger vor als in bayerischen (heterophyllum: 0,76 vs. 0,48; $Z_{17} = -3,35$, $P < 0,001$; oleraceum: 0,76 vs. 0,59; $Z_{10} = -2,67$, $P = 0,007$). Dementsprechend war das zweithäufigste Allel *Hbdh-100* in Schweden seltener als im Fichtelgebirge (heterophyllum: 0,22 vs. 0,52; $Z_{17} = -3,35$, $P < 0,001$; oleraceum: 0,22 vs. 0,40; $Z_{10} = 2,81$, $P = 0,004$). Dagegen gab es weder signifikante Unterschiede zwischen bayerischen und Transekt-Populationen bei *C. oleraceum*, noch zwischen allopatrischen und sympatrischen Heterophyllum-Populationen aus Schweden.

Um zu testen, ob sich die beobachteten Allelfrequenzunterschiede zwischen schwedischen und bayerischen Populationen in beiden Wirtsrassen durch einen Breitengradgradienten erklären lassen, wurden von den Transektpopulationen die entsprechenden Frequenzen gegen den Breitengrad aufgetragen (Abb. 4.1). Die Korrelation war allerdings für keines der beiden Allele signifikant ($P > 0,21$). Dies änderte sich auch nicht, wenn man die Transekte einzeln betrachtete (alle $P > 0,10$).

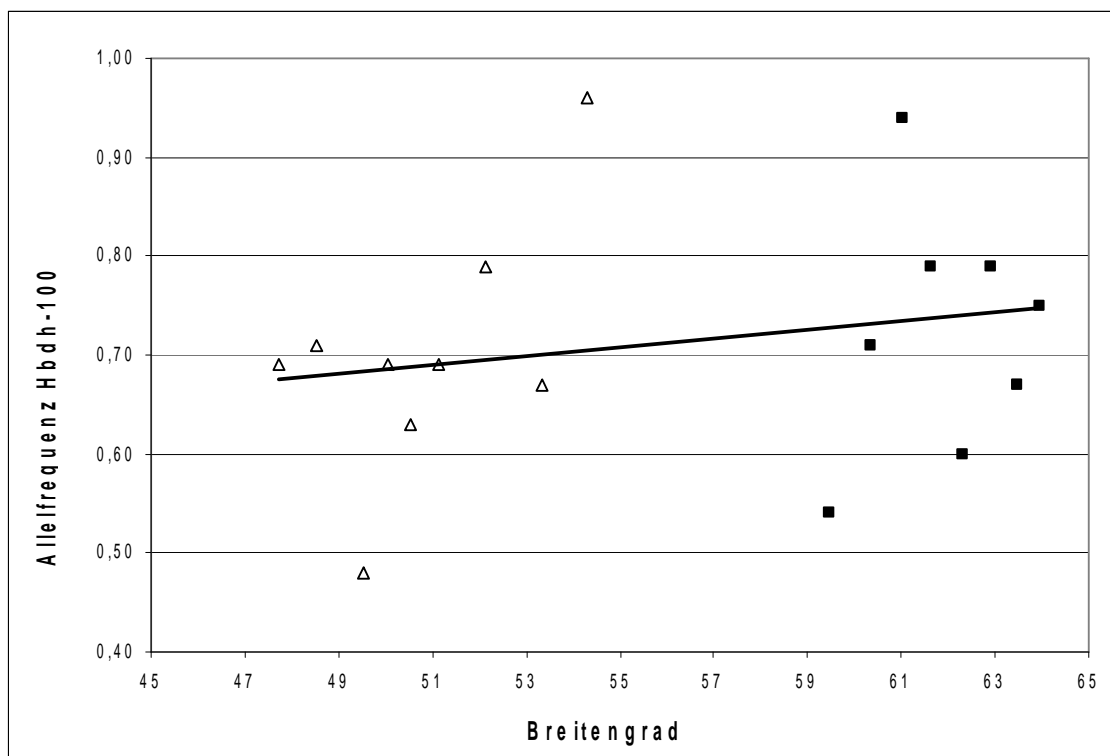


Abbildung 4.1. Korrelation zwischen Breitengrad und Frequenz des Allels *Hbdh-100*. Quadrate und Dreiecke entsprechen Heterophyllum- bzw. Oleraceum-Populationen.

4.1.5 Populationsstruktur

Mittels der F-Statistik sollte untersucht werden, inwieweit die Populationen genetisch strukturiert sind. Dabei ist der F_{ST} ein Maß dafür, welcher Anteil der beobachteten genetischen Variation auf eine Substrukturierung der Populationen zurückzuführen ist. Eine Analyse aller Loci zeigte, dass eine solche Strukturierung der Populationen existiert (Tabelle 4.5). Der F_{ST} über alle Loci unterschied sich hochsignifikant von null, und dies galt auch für fast alle Loci, wenn sie separat analysiert wurden (lediglich die beinahe monomorphe *G3pdh* und der Locus *Tre* wiesen nur schwach signifikante F_{ST} -Werte auf).

Dabei unterschieden sich die einzelnen Loci deutlich in dem Ausmaß der Strukturierung. Die meisten Loci hatten einen $F_{ST} < 0,07$, das heißt, weniger als 7% der gefundenen Variation konnte auf Populationsdifferenzierung zurückgeführt werden; die restlichen 93% waren folglich Variation innerhalb der Populationen. Zwei Loci allerdings fielen aus diesem Rahmen heraus: Hexokinase und Peptidase D hatten beide extrem hohe F_{ST} -Werte von über 0,70.

Tabelle 4.5. Hierarchische F-Statistik. $V_{WT}/V_{ST}[\%]$ = prozentualer Anteil der durch die Wirtspflanzenzugehörigkeit erklärten Varianz an der Gesamtvarianz zwischen Populationen (nur angegeben, wenn F_{WT} signifikant). Signifikanzniveaus: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Locus	F_{ST}	F_{SW}	F_{WT}	$V_{WT}/V_{ST}[\%]$
Acon	0,040***	0,037***	0,004	
Apk	0,027***	0,028***	-0,001	
Fum	0,032***	0,034***	-0,001	
G3pdh	0,021*	0,021	0,000	
Got	0,040***	0,032***	0,009**	21,93
Hbdh	0,071***	0,075***	-0,004	
Hex	0,707***	0,037***	0,696***	98,42
Idh	0,011**	0,010**	0,001	
PepA	0,049***	0,027***	0,026***	46,06
PepD	0,735***	0,051***	0,721***	98,06
Pgd	0,075***	0,041***	0,036***	47,50
Pgm	0,039***	0,039***	0,001	
Tre	0,008*	0,011**	-0,001	
∅	0,343***	0,040***	0,315***	91,97

Insgesamt ergab sich so über alle Loci ein F_{ST} -Wert von 0,34, was auf das Vorhandensein einer sehr ausgeprägten Populationsstruktur schließen lässt. Es stellte sich nun die Frage, worauf diese Populationsdifferenzierung zurückzuführen ist. Das Einfügen einer weiteren Hierarchieebene (F_{WT}) in die F-Statistik sollte darüber Aufschluss geben, zu welchem Anteil die Wirtspflanzenzugehörigkeit die beobachtete Struktur erklären kann (siehe auch Material & Methode). Das Ergebnis ist in Tabelle 4.5 zusammengefasst: Fünf der untersuchten Loci zeigten einen signifikanten F_{WT} -Wert, das heißt, bei diesen Loci ist ein gewisser Anteil des F_{ST} durch die Wirtspflanzenzugehörigkeit bedingt. Insbesondere bei den besonders stark strukturierten Loci *Hex* und *PepD* war dieser Anteil ausgesprochen hoch (jeweils über 98%). Über alle Loci gemittelt bedeutet dies, dass beinahe 92% der zwischen Populationen gefundenen Differenzierung ausschließlich darauf zurückzuführen ist, dass die Populationen unterschiedlichen Wirtspflanzen entstammten.

Entsprechend war die Populationsstruktur zwischen Populationen der gleichen Wirtspflanze (F_{SW}) im Vergleich dazu ausgesprochen gering. Noch den höchsten Wert wies der Locus *Hbdh* auf. An diesem Locus gab es bei den Allelfrequenzen signifikante Unterschiede zwischen schwedischen und bayerischen Populationen, und zwar sowohl bei Heterophyllum- als auch bei Oleraceum-Fliegen. Der F_{ST} an diesem Locus war entsprechend nicht durch die Wirtspflanzenzugehörigkeit, sondern durch eine geographische Strukturierung geprägt.

Nachdem das Einfügen der Hierarchieebene F_{WT} gezeigt hatte, dass die Wirtsrassen bei einer Reihe von Allozymloci deutlich differenziert waren, sollte überprüft werden, ob das Ausmaß dieser wirtsbedingten Differenzierung abhängig von dem Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen ist. Die dabei zugrunde liegende Frage war, ob sich die Wirtsrassen in Kontaktzonen (Sympatrie/Parapatrie) weniger stark als in Allopatrie unterscheiden, die Differenzierung dort im Gegenteil vielleicht sogar stärker ist, oder die Wirtsrassen unabhängig von der Region überall gleich stark strukturiert sind. Dazu wurde die hierarchische F-Statistik noch einmal für die entsprechenden Regionen getrennt durchgeführt (Tabelle 4.6). Zunächst fällt auf, dass sowohl in allo-, als auch in sym- und parapatrischen Regionen der F_{ST} sehr ähnlich war (0,33 bis 0,34). Allerdings unterschied sich der Anteil der durch die Wirtspflanze bedingten Varianz. Während er in Allopatrie und Sympatrie ungefähr 92% betrug, ergab sich im parapatrischen Fichtelgebirge ein Wert von über 98%. Ein Blick auf die einzelnen Loci zeigt, dass die meisten von ihnen zu diesem Ergebnis beitrugen. Sowohl bei den dominierenden Loci *Hex* und *PepD* (im geringen Maße), als auch bei *Pgd* und *Got* (dort deutlich) waren die parapatrischen Populationen stärker differenziert als jene in Allopatrie und Sympatrie. Die einzige Ausnahme war der Locus *PepA*, der im Fichtelgebirge keinerlei signifikanten F_{WT} -Wert aufwies. Dieser Locus war vor allem zwischen allopatrischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen deutlich strukturiert.

Tabelle 4.6. Hierarchische F-Statistik für allo-, sym- und parapatrische Regionen.
hetero = heterophyllum; olera = oleraceum; allo = allopatrische Region; sym = sym-
patrische Region; para = parapatrische Region. Ansonsten siehe Tabelle 4.5.

	hetero _{allo} vs. olera _{allo}	hetero _{sym} vs. olera _{sym}	hetero _{para} vs. olera _{para}
<i>alle Loci</i>			
F_{ST}	0,341***	0,331***	0,345***
F_{WT}	0,315***	0,306***	0,340***
V_{WT}/V_{ST}	92,35 %	92,42 %	98,44 %
<i>Hex</i>			
F_{ST}	0,641***	0,711***	0,792***
F_{WT}	0,623***	0,703***	0,791***
V_{WT}/V_{ST}	97,27 %	98,74 %	99,88 %
<i>PepD</i>			
F_{ST}	0,776***	0,678***	0,723***
F_{WT}	0,761***	0,660***	0,722***
V_{WT}/V_{ST}	98,07 %	97,38 %	99,90 %
<i>Pgd</i>			
F_{ST}	0,026**	0,128***	0,048**
F_{WT}	0,014*	0,054*	0,057**
V_{WT}/V_{ST}	53,79 %	41,90 %	100,00 %
<i>PepA</i>			
F_{ST}	0,080***	0,060***	0,005
F_{WT}	0,058***	0,028*	0,001
V_{WT}/V_{ST}	71,85 %	46,51 %	-
<i>Got</i>			
F_{ST}	0,025***	0,065***	0,049***
F_{WT}	0,003	0,012	0,032***
V_{WT}/V_{ST}	-	-	65,27 %

4.1.6 Genetische Distanzen & Identitäten

Die genetischen Distanzen (D) (Nei 1972) zwischen den Populationen lagen zwischen 0,02 und 0,22, mit einer mittleren Distanz von $D = 0,10$ (Übersicht aller Populationen siehe Anhang 5). Dabei hing die Größe der Distanzen stark damit zusammen, ob die Populationen der gleichen oder der anderen Wirtspflanze abstammten. Die durchschnittliche genetische Distanz einer Population zu Populationen der gleichen Wirtsrassen betrug lediglich $D = 0,037$, zu Populationen der anderen Wirtspflanze jedoch $D = 0,163$ (Mann-Whitney-U-Test: $Z_{78} = 7,70$, $P < 0,001$). Dies spiegelt die deutliche Strukturierung der Populationen entsprechend der Wirtspflanzenzugehörigkeit, wie sie auch in der hierarchischen F-Statistik

beobachtet werden konnte (siehe oben). Abgesehen davon gab es allerdings auch Unterschiede bei den Wirtsrassen: Innerhalb der Heterophyllum-Populationen gab es im Durchschnitt signifikant größere genetische Distanzen als innerhalb der Oleraceum-Populationen ($D = 0,039$ vs. $D = 0,035$; $Z_{38} = 2,99$, $P = 0,003$).

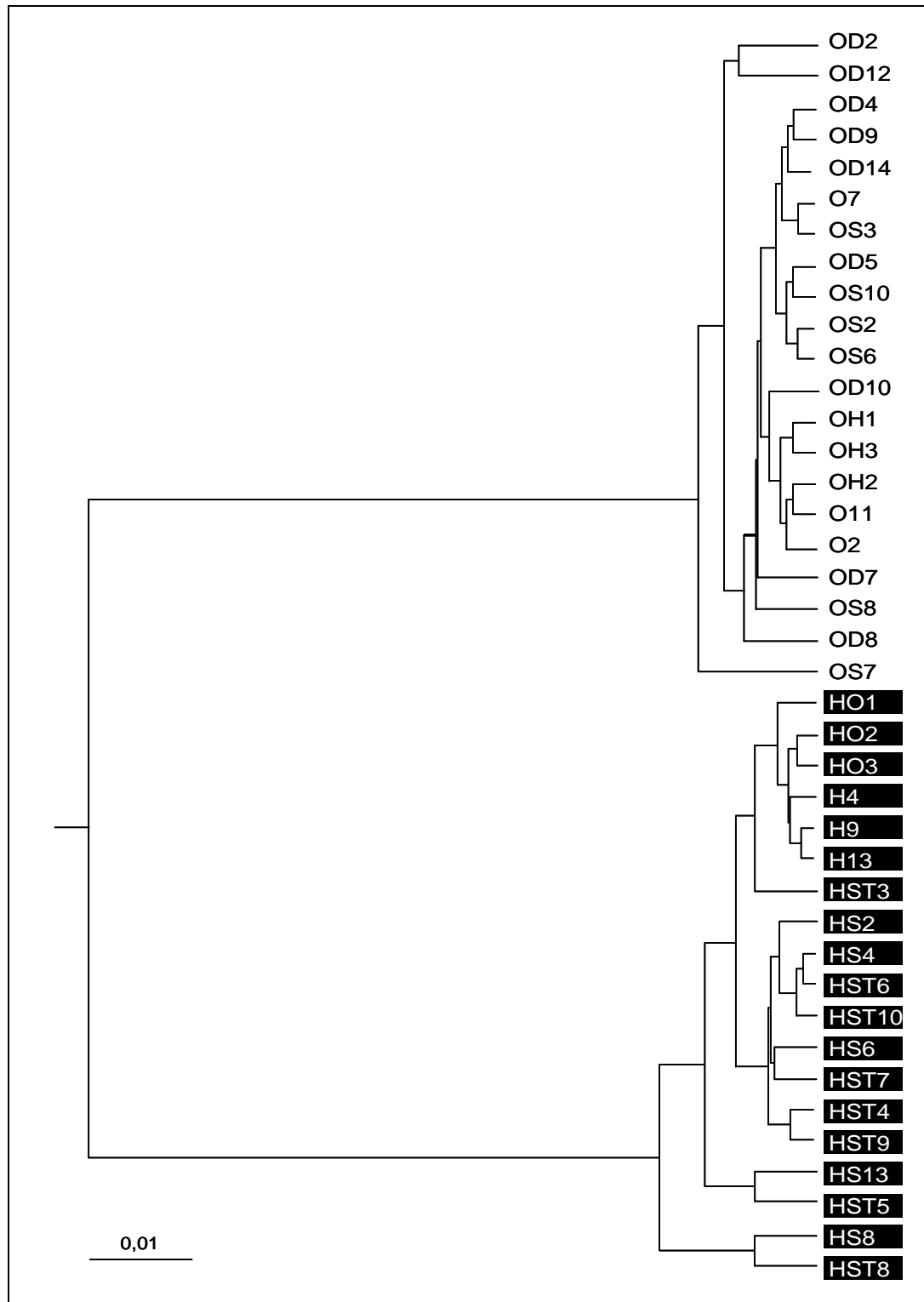


Abbildung 4.2. UPGMA-Phänogramm. Heterophyllum-Populationen sind schwarz unterlegt.

Konstruierte man aus den Nei-Distanzen ein Phänogramm nach der UPGMA-Methode (Fitch & Margoliash 1967), ließen sich die obigen Ergebnisse visualisieren (Abb. 4.2). Auffällig war zunächst die Auftrennung der Populationen ausschließlich nach Wirtspflanze. Das Phänogramm teilt sich sehr früh in zwei Äste auf, die jeweils Oleraceum-beziehungsweise Heterophyllum-Populationen enthalten. Im Verhältnis dazu ist die Strukturierung innerhalb der Wirtsrassen deutlich schwächer ausgeprägt. Lediglich die Populationen aus dem Fichtelgebirge clustern mehr oder weniger zusammen und lassen ein geographisches Muster erkennen. Bei den Heterophyllum-Fliegen stellten diese Populationen eine exklusive Untergruppe dar, bei den Oleraceum-Fliegen wurden zumindest noch fünf der sechs Populationen zusammengruppiert. Ansonsten gab es aber keinen erkennbaren Einfluss der Region auf die Strukturierung des Baums.

Wie schon mit der hierarchischen F-Statistik sollte mit den genetischen Distanzen auch überprüft werden, ob und inwieweit die allo-, sym- oder parapatrische Verbreitung der Wirtspflanzen einen Effekt auf den Differenzierungsgrad der Wirtsrassen hat. Anstelle der genetischen Distanzen (D) wurden dazu jedoch die genetischen Identitäten (I) benutzt, die mit den Distanzen in direktem Zusammenhang stehen ($D = -\ln I$). Dies war notwendig, da bei den Loci *Hex* und *PepD* manche Identitäten zwischen Populationen beinahe oder tatsächlich null waren, was entsprechend hohe (bis unendlich große) genetische Distanzen zur Folge gehabt hätte.

Abbildung 4.3a gibt eine Übersicht über die genetischen Identitäten zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen verschiedener Regionen. Zum Beispiel wiesen die bayerischen Heterophyllum-Populationen ähnliche mittlere genetische Identitäten zu parapatrischen wie zu allopatrischen Oleraceum-Populationen auf ($\bar{I} = 0,847$ bzw. $\bar{I} = 0,845$). Ein U-Test ergab dabei, dass die mittleren Identitäten zwischen sympatrischen/parapatrischen Populationen einer Wirtspflanze und den entsprechenden Populationen der anderen Wirtspflanze ($\bar{I} = 0,851$) nicht signifikant anders waren als die Identitäten zwischen sympatrisch/parapatrischen Populationen und den *allopatrischen* Populationen der anderen Wirtspflanze ($\bar{I} = 0,854$; $Z_{39} = 0,73$, $P = 0,47$). Mit anderen Worten heißt das, dass die Wirtsrassen unabhängig von der Verbreitung der Wirtspflanzen überall gleich stark differenziert waren. Entsprechende Tests wurden auch noch für jene Loci einzeln durchgeführt, die in der F-Statistik signifikante F_{WT} -Werte gezeigt hatten. Dabei gab es weder bei *Pgd*, *PepA*, *Got*, noch bei *PepD* (siehe auch Abb. 4.3c) signifikante Unterschiede (alle $P < 0,09$). Bei *Hex* allerdings, neben *PepD* der Locus mit der stärksten wirtsspezifischen Differenzierung, waren die Unterschiede zwischen den Wirtsrassen in der Kontaktzone größer (= kleinere Identitäten) als jene zu den allopatrischen Populationen ($\bar{I} = 0,242$ vs. $\bar{I} = 0,307$; $Z_{39} = -2,65$, $P = 0,008$). Wie in Abbildung 4.3b ersichtlich, war dieses Muster sowohl in der parapatrischen Region im Fichtelgebirge als auch in der sympatrischen Region in Südschweden zu beobachten.

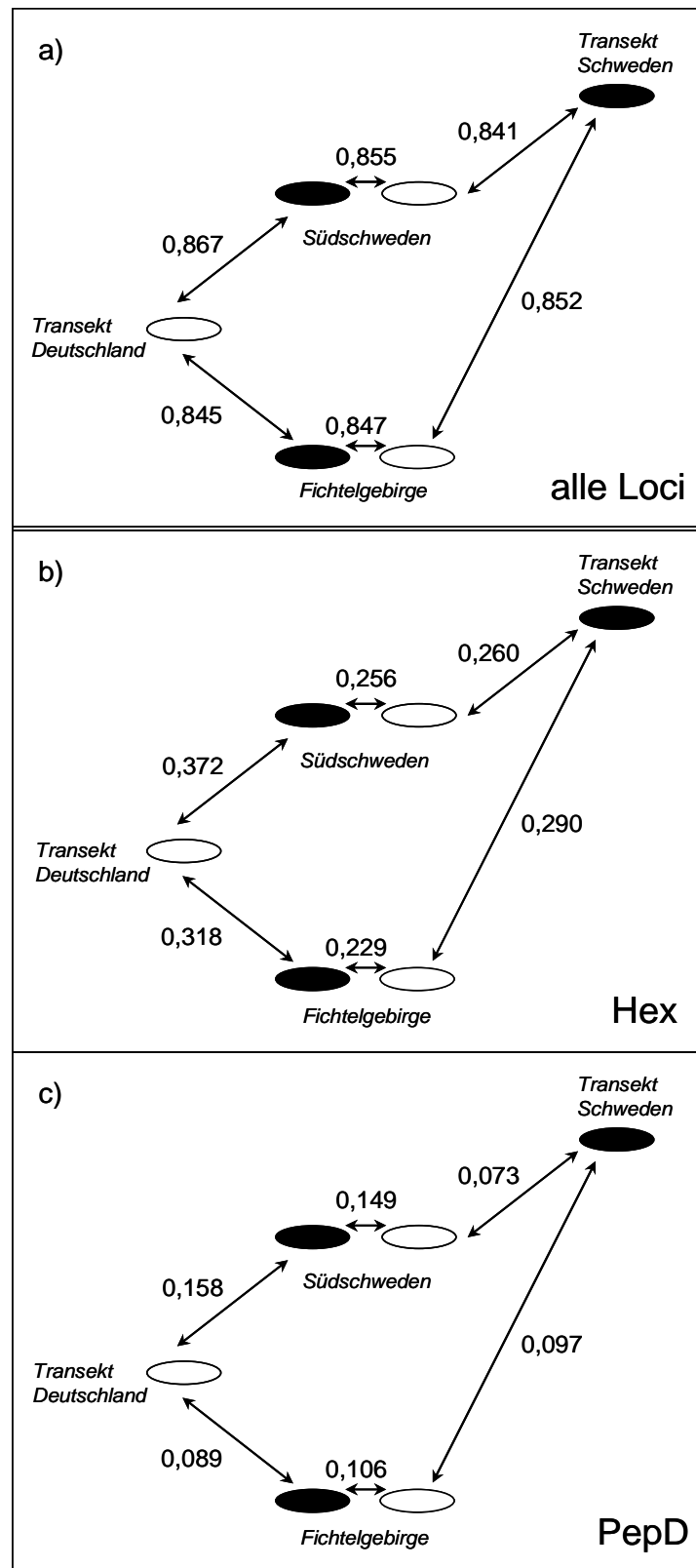


Abbildung 4.3. Vergleich der mittleren genetischen Identitäten zwischen den Wirtsrassen für verschiedene geographische Regionen a) über alle Loci b) nur Hexokinase c) nur Peptidase D. Dabei sind die Wirtspflanzen in Bayern parapatrisch, in Südschweden sympatrisch und in den Transekten allopatrisch verbreitet. Schwarz = Heterophyllum-Populationen; weiß = Oleraceum-Populationen.

4.1.7 Isolation-by-Distance

Unter der Voraussetzung einer geographisch eingeschränkten Verbreitung und eines Drift-Migrations-Gleichgewichts nimmt die genetische Differenzierung zwischen Populationen mit der geographischen Distanz zu (Slatkin 1993). Auf dieses als "Isolation by Distance" (Wright 1943) bezeichnete Muster wurden die beiden Transekte getestet. Weder das schwedische Heterophyllum-Transekt (28 Kontraste, $P = 0,88$), noch das Oleraceum-Transekt in Deutschland (36 Kontraste, $P = 0,21$) zeigten einen signifikanten Zusammenhang zwischen genetischen und geographischen Distanzen. Dies änderte sich auch nicht, wenn ohne die beiden Loci Hexokinase und Peptidase D getestet wurde (Schweden: $P = 0,79$; Deutschland: $P = 0,31$), beziehungsweise ohne die fünf Loci, die signifikante F_{WT} -Werte aufwiesen (Schweden: $P = 0,77$; Deutschland: $P = 0,36$).

4.1.8 Zuordnung der Individuen zu den Wirtsrassen

Mit dem Programm *Structure* (Pritchard *et al.* 2000) wurden die Wahrscheinlichkeiten berechnet, mit denen ein Individuum aufgrund seines Allozymgenotyps der Heterophyllum-beziehungsweise Oleraceum-Wirtsrasse zugeordnet werden kann. Eine graphische Übersicht für alle Individuen findet sich im Anhang.

Von den insgesamt 1063 analysierten Fliegen (505 Heterophyllum / 558 Oleraceum) konnten über 99 Prozent aufgrund ihres Genotyps der richtigen Wirtsrasse zugeordnet werden. Bei lediglich acht Fliegen (zwei Heterophyllum / sechs Oleraceum) hätte der Rückschluss von dem Allozymgenotyp auf die Wirtspflanze, von der die Fliegen stammte, zu einem falschen Ergebnis geführt.

4.2 MITOCHONDRIALE DNA

4.2.1 Sequenzdiversität

Bei den insgesamt 241 untersuchten Individuen (128 Heterophyllum-, 113 Oleraceum-Fliegen) wurden am CO I/II Locus 18 verschiedene Haplotypen gefunden, am 16S/ND1 Locus 14 verschiedene Haplotypen. Die entsprechenden Sequenzen sind bei GenBank unter den Nummern AY754027-AY754043 und AY772559 beziehungsweise AY772545-AY772558 zugänglich. Die Unterschiede zwischen den Sequenzen können aber auch den Anhängen 7 und 8 entnommen werden. Für die Analysen wurden die beiden Loci miteinander kombiniert, da das mitochondriale Genom normalerweise keine Rekombination aufweist (Harrison 1991) und daher als ein einziger Locus betrachtet werden kann. Es resultierten daraus 32 Gesamthaplotypen (Zusammensetzung siehe Anhang 9), die zwischen 1078 und 1084

Basenpaaren lang sind. Der AT-Gehalt der Sequenzen betrug 78,5% und entspricht damit genau den Basenverhältnissen, wie sie in anderen Tephritiden- und Dipteren-Taxa gefunden wurden (Clary & Wolstenholme 1985, Han & McPheron 1997). Die meisten Mutationen waren Transitionen (23), während Transversionen, Insertionen und Deletionen lediglich an je drei Stellen auftraten.

Für die Erstellung des Minimum Spanning Networks (siehe unten) wurden Insertionen und Deletionen, unabhängig von der Anzahl der involvierten Basen, nur als ein Mutationsschritt gewertet. Dies war zum einen der Fall bei den Haplotypen H32 und H24, die eine AT-Insertion beziehungsweise eine Triplettdelation (ATC) innerhalb der tRNA_{Leu} Sequenz des 16S/ND1 Locus aufwiesen, zum anderen bei Haplotyp H31, der eine Tripletinsertion (CAT) gefolgt von einer Triplettdelation (TAA) zwölf Basenpaare weiter zeigte. Diese große räumliche Nähe von Insertion und Deletion innerhalb des CO II codierenden Gens deutet auf einen kausalen Zusammenhang hin. Wahrscheinlich entstanden entweder beide Mutationen zusammen oder die eine Mutation als unmittelbare Folge der anderen, sodass für die Konstruktion der Minimum Spanning Networks nur ein Mutationsschritt angenommen wurde.

4.2.2 Diversität & Verteilung der Haplotypen zwischen den Wirtsrassen

Aus den 32 gefundenen Haplotypen wurde ein Minimum Spanning Network konstruiert, das die Beziehungen der einzelnen Haplotypen zueinander darstellt. Der in *TCS* implementierte Algorithmus (Templeton *et al.* 1992) erstellte dabei ein Netzwerk, welches die Anzahl der die Haplotypen verbindenden Schritte mit mindestens 95%-iger Wahrscheinlichkeit auf das Minimum reduziert (Maximum Parsimony). Es stellte sich allerdings heraus, dass es außer dem so erhaltenen Netzwerk noch ein weiteres gab, das genauso wenig Mutationsschritte annimmt und dem von *TCS* angegebenen Minimum Spanning Network für weitere Analysen vorzuziehen war (siehe unten). *TCS* verband die Haplotypen H3 und H5 miteinander, doch ist die Verbindung von H4 zu H5, was die Zahl der benötigten Mutationen betrifft, gleichwertig (Abb. 4.4).

Bei der Betrachtung des Minimum Spanning Networks fällt sofort Haplotyp H1 auf, der sowohl der mit Abstand am häufigsten gefundene Haplotyp ist, als auch im Zentrum des gesamten Netzwerkes steht. Alle anderen Haplotypen radiieren von diesem Haupt-haplotypen H1 mehr oder weniger direkt. Während H1 sowohl bei Oleraceum- als auch bei Heterophyllum-Fliegen häufig gefunden wurde, waren andere Haplotypen, die in größerer Zahl auftraten, fast ausschließlich auf Heterophyllum-Populationen beschränkt (Abb. 4.4, Tabelle 4.7). Oleraceum-Fliegen wiesen dagegen mit Ausnahme von H1 nur Haplotypen auf, die sehr selten waren. Zudem waren diese seltenen Haplotypen maximal zwei Mutationen von H1 entfernt, während die Heterophyllum-Haplotypen deutlich differenzierter waren. Der

visuelle Eindruck einer geringeren Haplotypendiversität bei Oleraceum-Fliegen bestätigte sich beim Vergleich der molekularen Diversitätsindices (ein Überblick für alle Populationen befindet sich im Anhang 10). Oleraceum-Populationen hatten im Mittel eine geringere Anzahl Haplotypen (1,67 vs. 2,27; $Z_{59} = 2,67$, $P = 0,007$), geringere paarweise Differenzen (0,40 vs. 1,48; $Z_{59} = 4,28$, $P < 0,0001$), sowie eine geringere Nukleotiddiversität (0,037% vs. 0,137%; $Z_{59} = 4,27$, $P < 0,0001$).

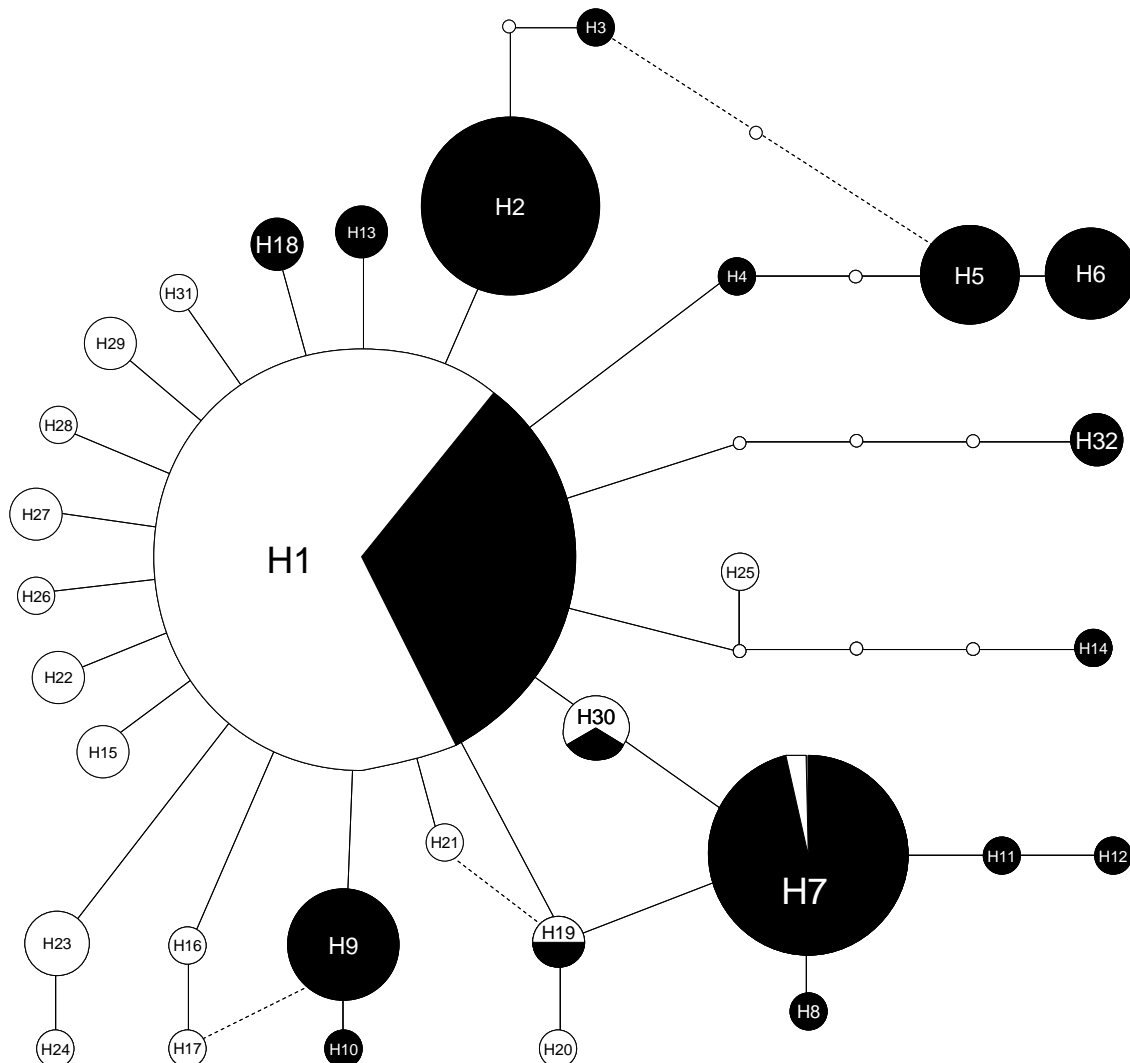


Abbildung 4.4. Minimum Spanning Network aller Haplotypen. Die Größe der Kreise ist proportional zu der Anzahl der Individuen, die diesen Haplotypen aufwiesen. Die kleinen, unbeschrifteten Kreise repräsentieren notwendige, intermediäre Haplotypen, die nicht gefunden wurden. Jede Linie zwischen zwei Kreisen entspricht einem Mutationsschritt. Heterophyllum-Haplotypen sind schwarz gefärbt, Oleraceum-Haplotypen sind weiß dargestellt. Haplotypen, die in beiden Wirtsrassen auftraten, sind anteilig gefärbt. Gepunktete Linien sind gleichwertige Verbindungen, die für die NCA verworfen wurden (siehe Text).

Das Minimum Spanning Network visualisiert jedoch nicht nur die unterschiedliche Haplotypendiversität der Wirtsrassen, sondern lässt auch Rückschlüsse auf die Verteilung der Haplotypen zu. Aus Abbildung 4.4 wird ersichtlich, dass die Haplotypen offenbar nicht gleichmäßig innerhalb und zwischen den Wirtsrassen verteilt sind (siehe auch Tabelle 4.7). Die meisten Haplotypen wurden nur in einer der beiden Wirtsrassen gefunden (sowohl Heterophyllum- als auch Oleraceum-Fliegen hatten vierzehn exklusive Haplotypen), lediglich vier Haplotypen (H1, H7, H19 und H30) werden geteilt. Mittels einer "Nested Categorical Data Analysis" wurde die statistische Signifikanz dieser Ungleichverteilung getestet. Dazu wurden die Haplotypen entsprechend Templeton (2004) Klade zugeteilt, was teilweise eine Auflösung mehrdeutiger Haplotypverbindungen nötig machte. So wurde die Verbindung zwischen H3 und H5 aufgelöst, da die Verbindung zwischen H4 und H5 aufgrund des Frequenz- und des topologischen Kriteriums (siehe Material & Methode) vorzuziehen war.

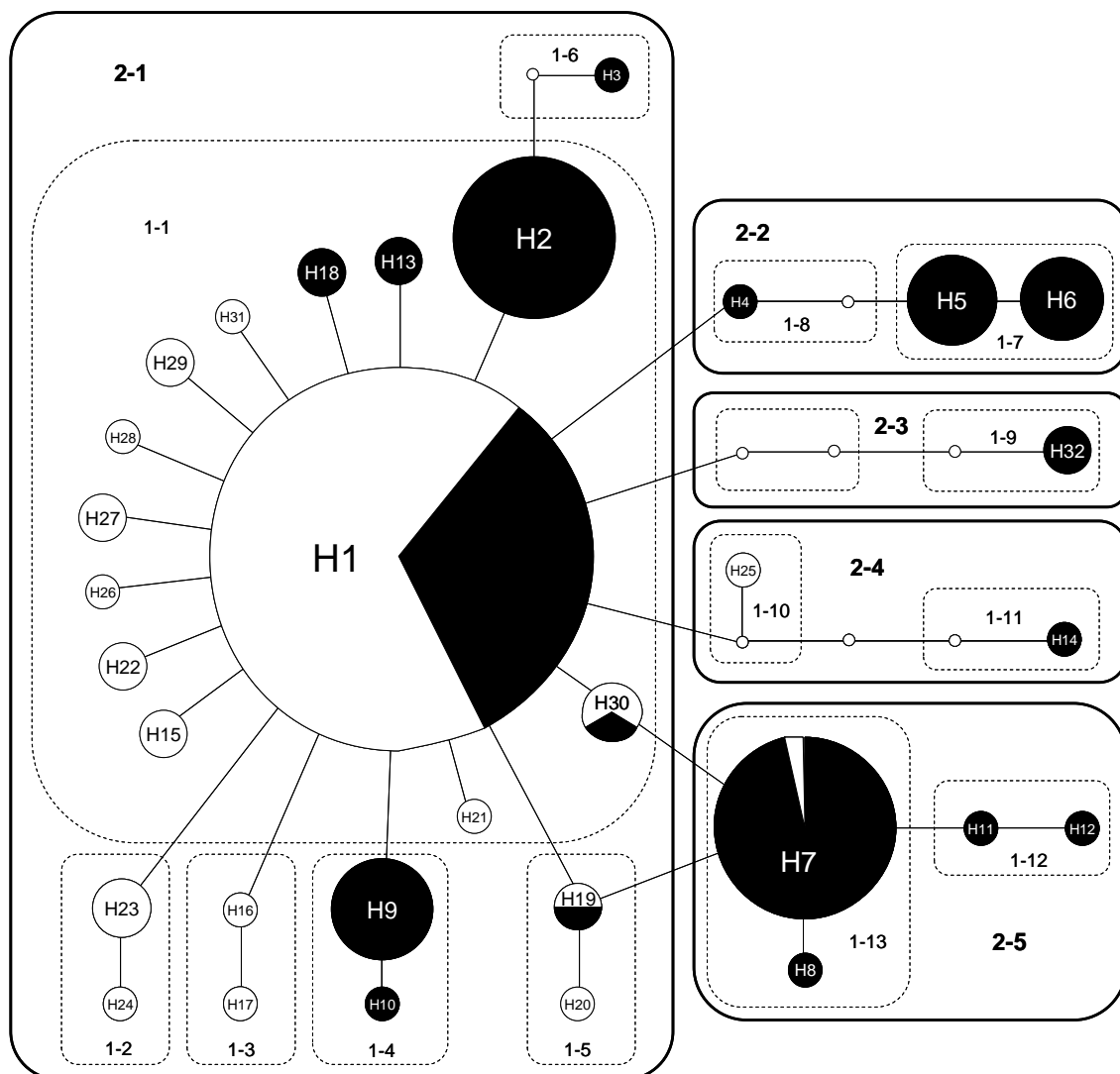


Abbildung 4.5. Kladogramm aller Haplotypen. Die 1-X-Klade sind mit einer gestrichelten, die 2-X-Klade mit einer durchgehenden Linie umrandet. Die Kladebezeichnung findet sich innerhalb der Klade. Ansonsten siehe Abb. 4.4.

Des Weiteren wurde die Verbindung zwischen H9 und H17 aufgrund des Geographie-Kriteriums verworfen. Gegen die Verbindung von H19 und H21 schließlich sprachen alle drei angewandten Kriterien. Eine einzige Mehrdeutigkeit konnte so nicht aufgelöst werden (H1→H19→H7 oder H1→H30→H7), doch resultierten beide Alternativen in der gleichen Kladenzuteilung.

Nach der Zuordnung der Kladen war, wie schon auf dem Haplotypniveau, eine ungleichmäßige Verteilung der Wirtsrassen auf verschiedenen Kladenleveln zu beobachten (Abb. 4.5). Zehn der dreizehn 1-X-Kladen, sowie zwei der fünf 2-X-Kladen enthielten nur Fliegen einer Wirtsrasse. Bei den restlichen Kladen wurde mittels Monte Carlo Simulationen (Roff & Bentzen 1989) getestet, ob es statistisch signifikante Assoziationen zwischen Wirtsrasse und Haplotyp (bzw. Klade) gab. Bei vier Kladen (1-5, 1-13, 2-2, 2-4) gab es keine signifikante Ungleichverteilung zwischen Haplotypen/Kladen und Wirtsrasse. Allerdings hätte in drei dieser Fälle die Nullhypothese aufgrund der niedrigen Haplotypenanzahl ohnehin nicht abgelehnt werden können. Die restlichen Kladen dagegen, die alle den Haupthaplotypen H1 beinhalteten (Klade 1-1, 2-1, sowie das Gesamtkladogramm), zeigten hochsignifikante Assoziationen zwischen Wirtsrassen und Haplotypen/Kladen (alle $P < 0,001$).

Tabelle 4.8. Ergebnisse der Nested Clade Analysis für alle Populationen. Die Schritte und die Schlussfolgerungen beziehen sich auf den Schlüssel von Templeton (2004). Es sind nur jene Kladen angegeben, die signifikante Distanzwerte aufwiesen.

Klade	Schritte	Schlussfolgerung
1-1	2-3-5-6- too few clades	range expansion/ restricted gene flow
1-7	2-3-4-no	restricted gene flow with Isolation-by-distance
2-1	2-3-5-6- too few clades	range expansion/ restricted gene flow
Gesamt	2-3-5-6- too few clades	range expansion/ restricted gene flow

Zusätzlich zu den kategorischen Tests wurde mittels einer "Nested Clade Distance Analysis" (Templeton *et al.* 1995, Templeton 1998) geprüft, ob es signifikante geographische Muster bei der Haplotypenverteilung gibt. Dabei werden verschiedene Distanzparameter ("Clade Distances") zwischen und innerhalb der oben erstellten Kladen berechnet und signifikante Distanzwerte mit Hilfe eines Schlüssels (Templeton 2004) interpretiert, um so Aussagen über die zugrunde liegenden Prozesse treffen zu können.

Tabelle 4.8 fasst die Ergebnisse dieser Analyse zusammen (Details befinden sich in Anhang 11). Nur eine kleine Anzahl an Kladen wies überhaupt signifikante Distanzparameter

auf. Bei diesen wiederum konnte bei den meisten keine eindeutige Schlussfolgerung gezogen werden, was die Ursache der beobachteten geographischen Verteilung der Haplotypen/Kladen betraf. Aufgrund mangelnder Auflösung und zu wenig Variation konnte in diesen Fällen nicht zwischen "Expansion" und "eingeschränkter Genfluss" als mögliche zugrunde liegende Prozesse unterschieden werden. Bei der Klade 1-7 führte der Schlüssel zu dem Ergebnis "eingeschränkter Genfluss mit Isolation-by-Distance". Diese Klade enthält die beiden Haplotypen H5 und H6, die nur bei *Heterophyllum*-Fliegen gefunden wurden. Dabei kommt H5 sowohl im Fichtel- als auch im Erzgebirge vor, während H6 auf das Fichtelgebirge beschränkt ist.

Die gemeinsame Analyse von *Heterophyllum*- und *Oleraceum*-Populationen, wie sie oben durchgeführt wurde, könnte allerdings auch verhindert haben, dass weitere vorhandene Muster entdeckt wurden. Wenn die Wirtsrassen bereits seit einiger Zeit mehr oder weniger unabhängig voneinander evolviert wären (was die Haplotypenverteilung nahe legt), so könnten manche Aspekte ihrer möglicherweise verschiedenen Populationsgeschichten aufgrund des immer noch geteilten Haupthaplotyps H1 nicht zu entdecken sein, wenn man sie zusammen analysiert. Daher wurden noch einmal NCAs für jede Wirtsrasse getrennt durchgeführt.

4.2.3 Haplotypenverteilung innerhalb der Wirtsrassen

Sowohl für die *Heterophyllum*- als auch für die *Oleraceum*-Populationen wurden eigene Minimum Spanning Networks erstellt (Abb. 4.6 und 4.7). Die aufzulösenden Haplotypverbindungen entsprachen im Wesentlichen den bereits erwähnten. Bei dem *Heterophyllum*-Netzwerk gab es noch eine Verbindung zwischen H10 und einem hypothetischen, intermediären Haplotypen, die verworfen wurde (Frequenzkriterium); bei dem *Oleraceum*-Netzwerk wurde die Verbindung H30→H7 gegenüber H19→H7 bevorzugt (geographisches Kriterium).

Beim Vergleich der beiden Kladogramme wird noch einmal besonders deutlich, wie unterschiedlich stark strukturiert die *Heterophyllum*- beziehungsweise *Oleraceum*-Populationen sind. Zwar ist bei beiden Wirtsrassen H1 der sowohl zentrale als auch häufigste Haplotyp, doch gibt es bei den *Heterophyllum*-Fliegen noch eine Reihe weiterer häufiger Haplotypen, während bei dem *Oleraceum*-Netzwerk die Dominanz von H1 deutlich zum Ausdruck kommt. Diese fehlende Strukturierung der *Oleraceum*-Fliegen verhindert dann auch eindeutige Rückschlüsse auf populationshistorische Prozesse mittels der NCA. Die Haplotypen-/Kladenverteilung der beiden Kladen, die signifikante Distanzwerte aufwiesen (siehe Tabelle 4.9), könnte laut Bestimmungsschlüssel sowohl durch eingeschränkten Genfluss als auch durch Expansion erklärt werden. Auch bei den *Heterophyllum*-Populationen ließen sich die Verteilungsmuster mittels NCA teilweise nicht eindeutig

erklären, doch gab es zumindest zwei Kladen, bei denen dies möglich war. Klade 1-6 entspricht dabei genau der Klade 1-7 des Kladogramms, das mit allen Populationen erstellt worden war, sodass dort folglich wieder "eingeschränkter Genfluss mit Isolation-by-Distance" geschlussfolgert wurde (Erläuterung siehe oben). Des Weiteren wies die Klade 1-1 signifikante Distanzwerte auf, was auf allopatrische Fragmentierung zurückgeführt wurde. Dies spiegelt die spezielle Haplotypenverteilung im Fichtel-/Erzgebirge wider. In dieser Region ist Haplotyp H2 der häufigste Haplotyp (und er wurde in keiner anderen Region gefunden), während der ansonsten dominante H1 nur ein einziges Mal auftrat. Die Isolation des Fichtel-/Erzgebirges wird außerdem durch das Auftreten weiterer exklusiver Haplotypen (H3 bis H6) deutlich (Tabelle 4.7).

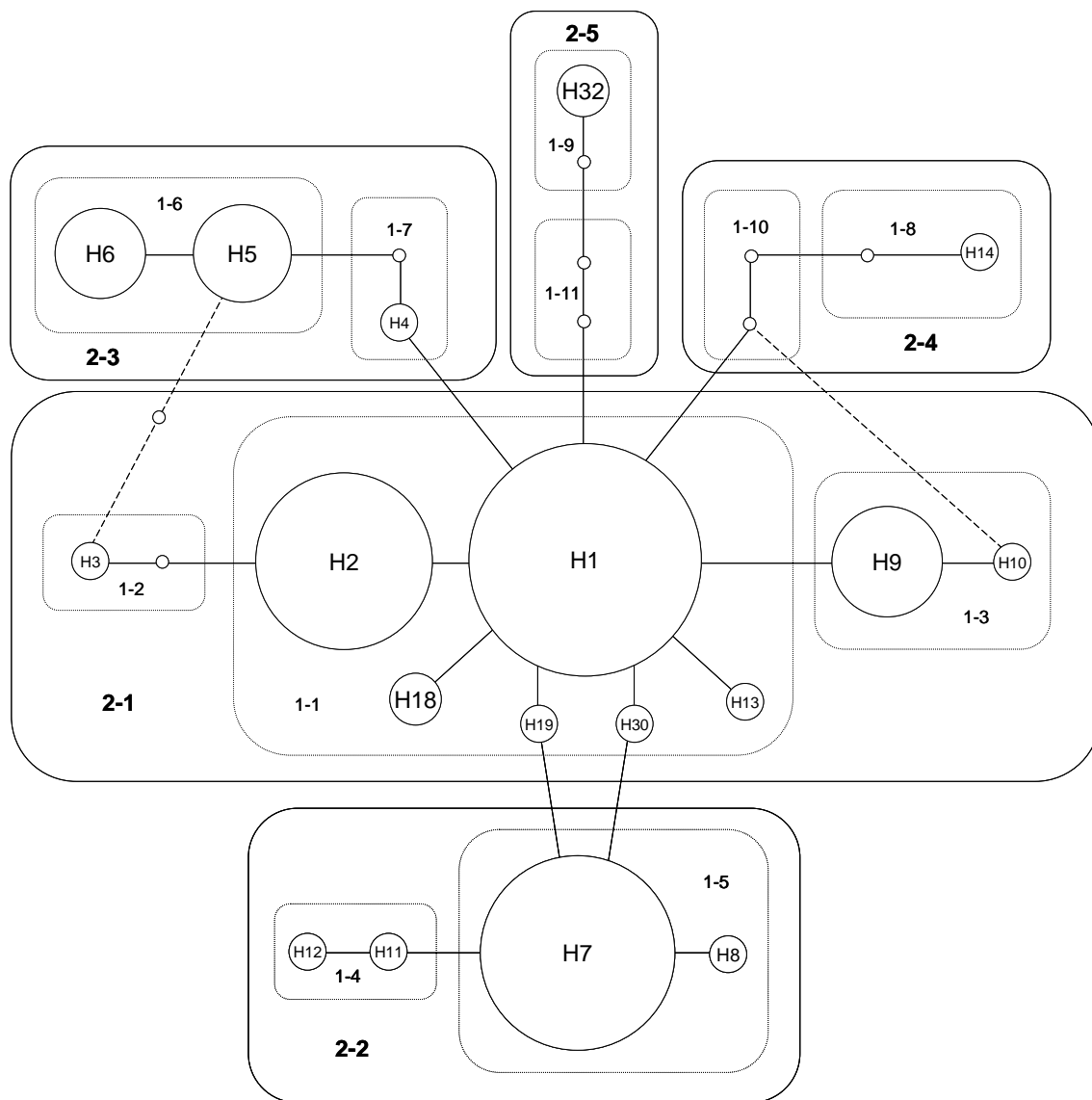


Abbildung 4.6. Kladogramm aller Heterophyllum-Fliegen. Symbole und Beschriftungen wie in Abb. 4.4 bzw. 4.5.

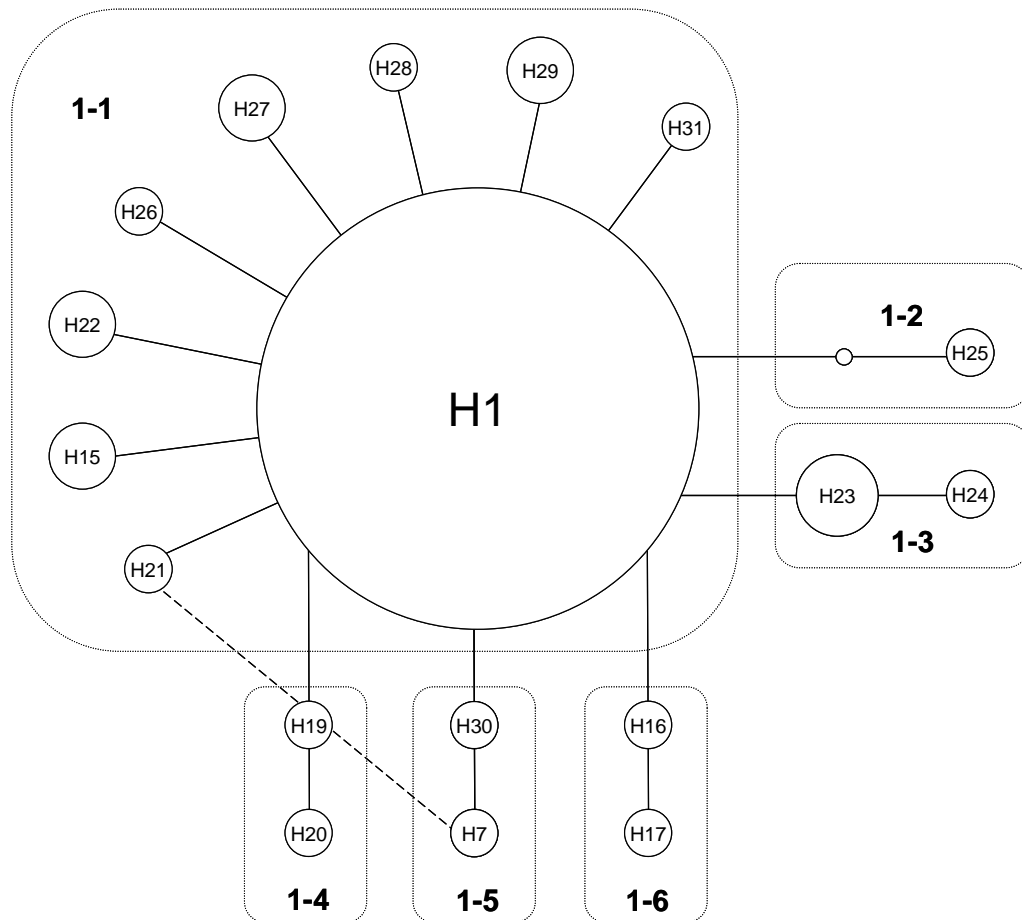


Abbildung 4.7. Kladogramm aller Oleraceum-Fliegen. Symbole und Beschriftungen wie in Abb. 4.4 bzw. 4.5.

In den Kladogrammen sind (unter Zuhilfenahme der Tabelle 4.7) außerdem noch weitere geographische Strukturierungen zu erkennen. Die Klade 2-2 und 1-3 der Heterophyllum-Fliegen sind auf den skandinavisch-russischen Raum beschränkt, wo sie einen beträchtlichen Anteil aller gefundenen Haplotypen ausmachen. Die Klade 2-4 und 2-5, die vom Zentrum des Netzwerkes verhältnismäßig weit entfernt sind und keine intermediären Haplotypen aufweisen, stammen aus der östlichsten Population in Russland.

Bei dem Oleraceum-Kladogramm dagegen ist aufgrund der geringen Häufigkeit fast aller Haplotypen kaum eine geographische Struktur erkennbar. Allerdings haben sowohl die Populationen aus Südschweden als auch jene aus den Alpen jeweils zwei eigene Klade (1-4 und 1-6 bzw. 1-2 und 1-3). Die Alpenpopulationen fallen auch durch ihre verhältnismäßig große Diversität auf: Bei den zwölf analysierten Fliegen wurden acht verschiedene Haplotypen gefunden. Der sonst so deutlich dominierende Haplotyp H1 trat nur bei drei Tieren auf.

Tabelle 4.9. Ergebnisse der Nested Clade Analysis für (a) Heterophyllum-, (b) Oleraceum-Populationen. Die Schritte und die Schlussfolgerungen beziehen sich auf den Schlüssel von Templeton (2004). Es sind nur jene Kladen angegeben, die signifikante Distanzwerte aufwiesen (Details siehe Anhänge 12 und 13).

Klade	Schritte	Schlussfolgerung
<i>(a) heterophyllum</i>		
1-1	2-3-5-15-16-no	Allopatric fragmentation
1-6	2-3-4-no	restricted gene flow with Isolation-by-distance
2-1	2-3-5-6- too few clades	range expansion/ restricted gene flow
Gesamt	2-3-5-6- too few clades	range expansion/ restricted gene flow
<i>(b) oleraceum</i>		
1-1	2-3-5-6- too few clades	range expansion/ restricted gene flow
Gesamt	2-3-5-6- too few clades	range expansion/ restricted gene flow

4.2.4 Neutralitätstests & Mismatch Distribution

Der durchgeführte Neutralitätstest nach McDonald und Kreitman (1991) konnte die Nullhypothese einer neutralen Evolution der vorliegenden Sequenzdaten nicht ablehnen ($P = 0,56$ mit Fishers Exakt-Test; $P = 0,69$ mit G-Test nach Yates-Korrektur). Entsprechend wurden signifikante Abweichungen bei den D- und F_S -Tests im Rahmen demographischer Ereignisse interpretiert (siehe auch Material & Methoden). Bei den Heterophyllum-Populationen gab es keinerlei signifikante Abweichungen von einem Populationsgleichgewicht, wenn die geographischen Regionen einzeln analysiert wurden. Das Zusammenfassen aller Heterophyllum-Populationen resultierte allerdings in einem marginal signifikanten F_S -Wert¹ ($F_S = -6,41$, $P = 0,024$; $D = -0,78$, $P = 0,25$). Wesentlich eindeutiger war das Bild bei den Oleraceum-Populationen. Ein Populationsgleichgewicht wurde von dem F_S -Test für drei Regionen abgelehnt (Deutschland: $F_S = -3,89$, $P < 0,001$; $D = -1,58$, $P = 0,019$; Schweden: $F_S = -3,38$, $P = 0,002$; $D = \text{n.s.}$; Alpen: $F_S = -3,41$, $P = 0,005$; $D = \text{n.s.}$). Über alle Oleraceum-Populationen war die Abweichung sogar noch deutlich stärker ($F_S = -20,84$, $P < 0,001$) und auch der D-Test ergab in diesem Fall ein hochsignifikantes Populationsungleichgewicht ($D = -2,21$, $P < 0,001$). Der hohe negative F_S -Wert deutet auf einen deutlichen Überschuss rezenter Mutationen hin (Fu 1997), was im Sinne einer demographischen Expansion der Oleraceum-Fliegen interpretiert werden kann.

¹ Bei den F_S -Tests ist zu berücksichtigen, dass P-Werte erst als signifikant betrachtet werden sollten, wenn sie kleiner als 0,02 sind (Fu 1997; Schneider *et al.* 2000).

Auch die "Mismatch Distributions" unterstützen ein solches Szenario. Weder Oleraceum- noch Heterophyllum- Populationen zeigten signifikante Abweichungen von dem angewandten Expansionsmodell ($P = 0,79$ bzw. $P = 0,93$), und dies galt auch, wenn die geographischen Regionen einzeln analysiert wurden (alle $P > 0,12$). Allerdings unterscheiden sich die Mismatch Distributions der beiden Wirtsrassen deutlich (Abb. 4.8 und 4.9). Die Heterophyllum-Fliegen weisen eine unimodale Verteilung auf, die links abgeschnitten ist, während bei den Oleraceum-Populationen, aufgrund ihrer sehr niedrigen molekularen Diversität, die paarweisen Unterschiede eine L-Form aufweisen. Diese Verteilungsform deutet, ebenso wie die F_S -Tests, auf eine sehr rezente geographische Radiation der Oleraceum-Wirtsrasse hin.

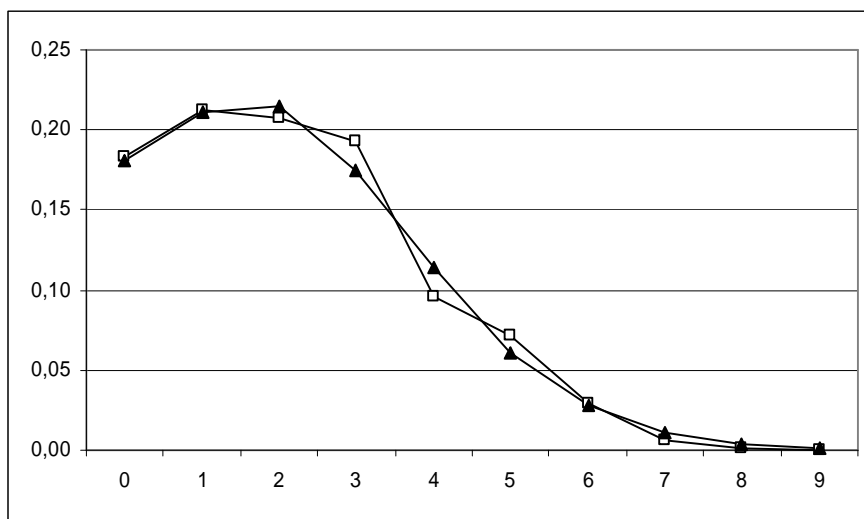


Abbildung 4.8. Mismatch Distribution der Heterophyllum-Populationen. Quadrate = beobachtete Frequenzen; Dreiecke = Frequenzen des "Sudden Expansion Models".

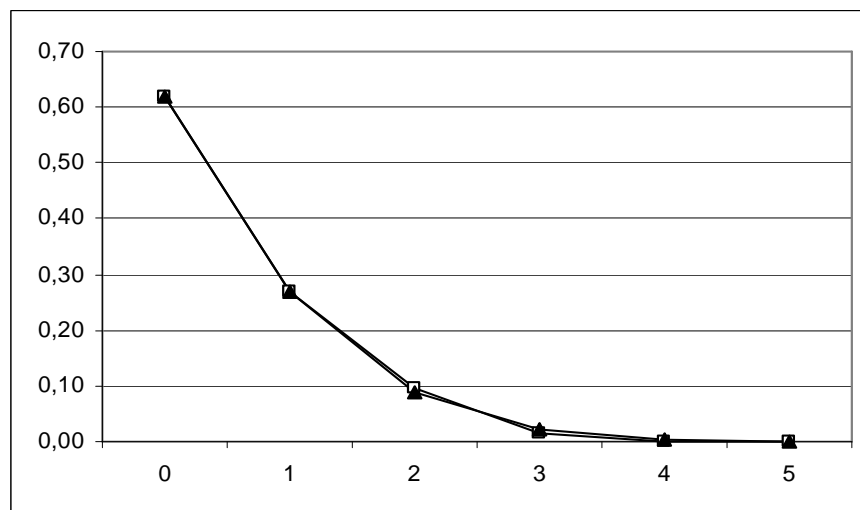


Abbildung 4.9. Mismatch Distribution der Oleraceum-Populationen. Quadrate = beobachtete Frequenzen; Dreiecke = Frequenzen des "Sudden Expansion Models".

4.3 MORPHOMETRIE

4.3.1 Einfluss des Sammeljahres

Die morphometrischen Analysen wurden mit Fliegen durchgeführt, die teilweise in unterschiedlichen Jahren gesammelt worden waren (2002 bzw. 2003). Da morphometrische Merkmale bei Insekten von äußeren Faktoren (z.B. Temperatur) stark beeinflusst werden können (Blanckenhorn 1997), bestand die Möglichkeit, dass ein Zusammenfassen der Morphometriedaten verschiedener Jahre nicht zulässig gewesen wäre. Es wurde daher zunächst überprüft, ob es jahresbedingte Größenunterschiede gab. Dazu wurden von drei Standorten (OD9, O2, HO3) sowohl 2002 als auch 2003 Fliegen vermessen (Tabelle 4.10). An keinem der Standorte gab es zwischen den beiden Jahren signifikante Unterschiede in der Flügellänge (alle $P > 0,38$). Daher wurde für die weiteren Analysen davon ausgegangen, dass es keinen signifikanten Einfluss des Jahres auf die morphometrischen Daten gab.

Tabelle 4.10. Vergleich der Flügellängen dreier Standorte für die Jahre 2002 und 2003.

Standort	Jahr 2002		Jahr 2003	
	\bar{x} (\pm sd)	N	\bar{x} (\pm sd)	N
OD9	3,64 mm (\pm 0,23)	10	3,65 mm (\pm 0,18)	31
O2	3,72 mm (\pm 0,17)	10	3,67 mm (\pm 0,09)	32
HO3	3,76 mm (\pm 0,20)	12	3,76 mm (\pm 0,18)	25

4.3.2 Einfluss des Geschlechts

Die Flügelgröße wurde zunächst bei allen Fliegen vermessen, die auch allozymelektrophoretisch untersucht wurden (Datensatz A; Populationsübersicht der entsprechenden Flügellängen siehe Anhang 14). Dadurch sollte für die weiteren Analysen geklärt werden, ob es signifikante Größenunterschiede zwischen den Geschlechtern gibt, wie sie in anderen *Tephritis*-Arten gefunden worden waren (Diegisser *et al.* 2004). Tatsächlich waren die Flügel der *T. conura*-Männchen im Durchschnitt über 5% kürzer als jene der Weibchen (Männchen: $3,55 \pm 0,14$ mm; Weibchen: $3,74 \pm 0,22$ mm). Dieser Unterschied war sowohl auf Gesamtebene als auch innerhalb einer Wirtspflanzen und/oder Region hochsignifikant (t-Test: alle $P < 0,001$) und unabhängig von anderen Parametern. Es gab keinerlei signifikante Interaktionen mit den Faktoren "Wirtspflanze", "Region" oder "Wirtspflanze x Region" (ANOVA: alle $P > 0,10$). Der beobachtete Geschlechtsdimorphismus scheint daher relativ unabhängig von anderen Einflussgrößen zu sein, weswegen für die weiteren Analysen nur noch Weibchen miteinbezogen wurden.

4.3.3 Einfluss der geographischen Lage

Mit den Weibchen, die auch für die Quantifizierung des Geschlechtsdimorphismus verwendet worden waren, sollte des Weiteren geklärt werden, ob der Standort einer Fliegenpopulation möglicherweise einen Einfluss auf die morphometrischen Merkmale ausübte. Zahlreiche Studien, insbesondere bei *Drosophila*-Arten, konnten bereits einen signifikanten Zusammenhang zwischen Breitengrad und Körpergröße belegen (z.B. Coyne & Beecham 1987, James & Partridge 1995, van't Land 1999). Eine entsprechende Korrelation bei *T. conura* hätte unter anderem Konsequenzen für den Vergleich von allo-, para- und sympatrischen Gebieten, da zum Beispiel ein Breitengradabhängiger Größenunterschied den Unterschied zwischen den geographisch deutlich getrennten allopatrischen Populationen vergrößern würde, und ein solcher Effekt entsprechend berücksichtigt werden müsste.

Wie in Abbildung 4.10 jedoch ersichtlich, existiert ein solcher Zusammenhang nicht. Die durchschnittliche Flügelgröße der Weibchen ändert sich mit zunehmendem Breitengrad praktisch nicht (Regressionsgerade: $y = -0,0001x + 3,74$). Entsprechend gab es auch keinerlei signifikante Korrelation ($r_{38} = 0,017$, $P = 0,92$). Dies änderte sich auch nicht, wenn die Wirtsrassen einzeln getestet und/oder nur die Transekte miteinbezogen wurden (alle $P > 0,62$).

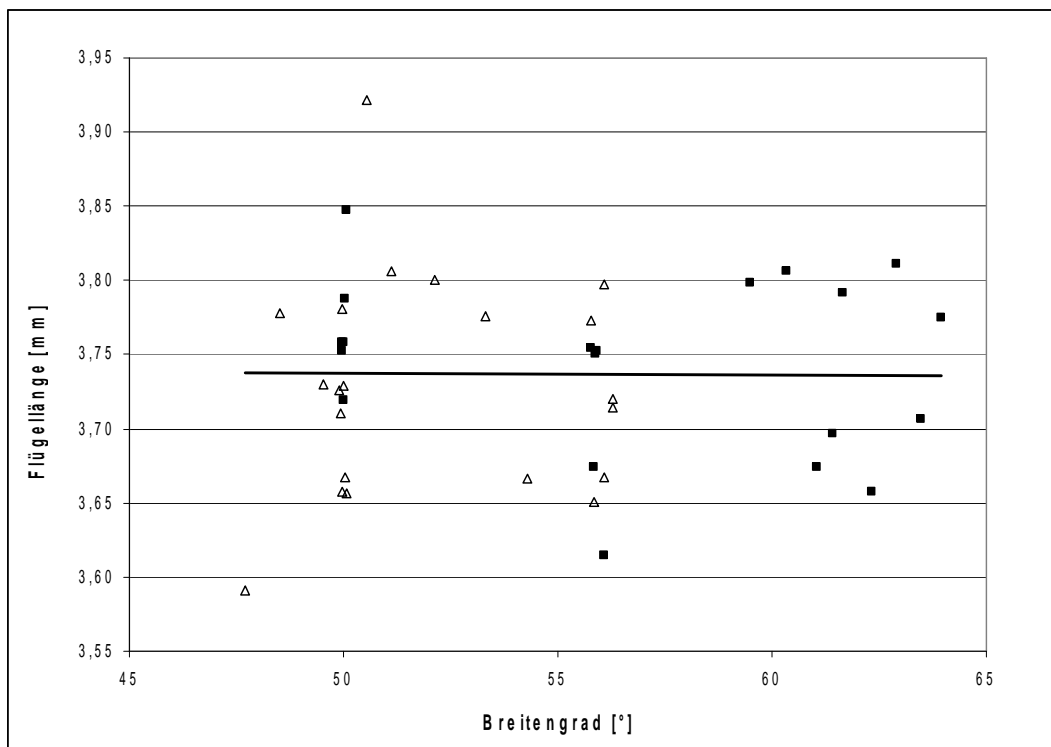


Abbildung 4.10. Korrelation von Flügelänge (Populationsdurchschnitt) mit Breitengrad bei *T. conura*-Weibchen. Dreiecke und Quadrate repräsentieren Oleraceum- bzw. Heterophyllum-Populationen.

4.3.4 Morphometrische Differenzierung zwischen den Wirtsrassen

Zusätzlich zu den obigen Populationen wurden für die Quantifizierung wirtsrassen-spezifischer Unterschiede noch weitere Populationen morphometrisch vermessen (Datensatz B; Tabelle 4.11). Bei diesen wurde zusätzlich zu der Flügellänge auch noch die Ovipositorlänge analysiert.

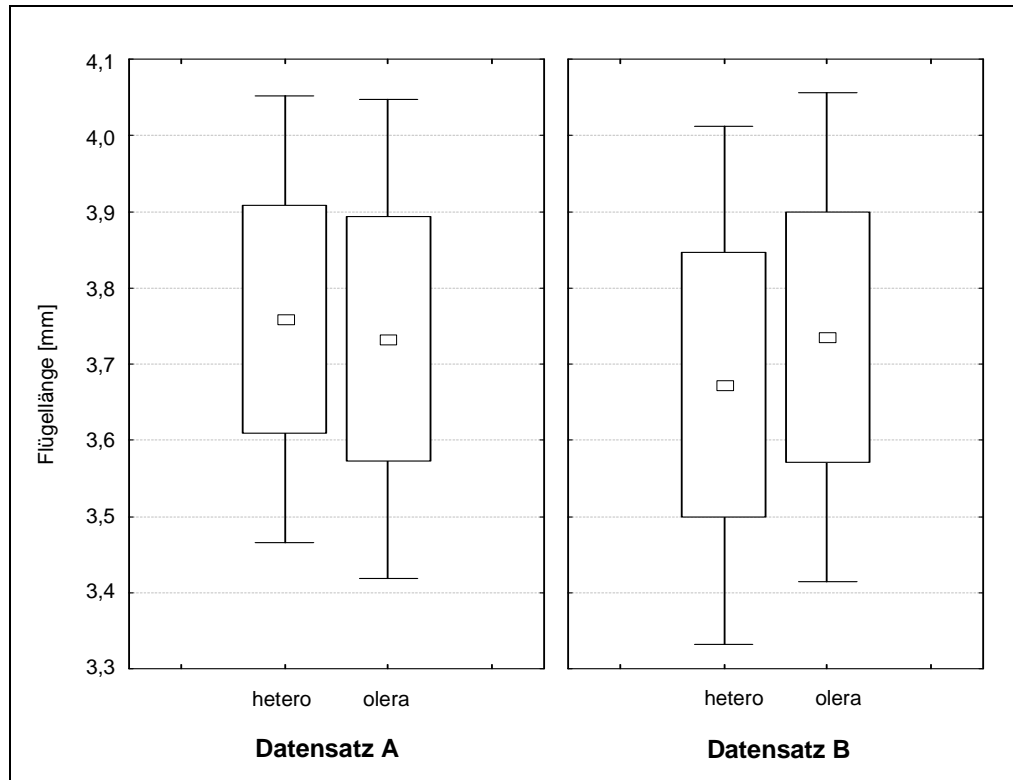


Abbildung 4.11. Mittlere Flügellänge der beiden Wirtsrassen für zwei verschiedene Datensätze (mit Standardabweichung und 1,96x Standardabweichung).

Zunächst wurden die Flügellängen von Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen miteinander verglichen (Abb. 4.11). Dabei fällt auf, dass sich die beiden Datensätze voneinander unterscheiden. Bei Datensatz A sind die Heterophyllum-Weibchen im Schnitt etwas größer als die Oleraceum-Weibchen (3,76 mm vs. 3,73 mm), während bei Datensatz B genau das Gegenteil zu beobachten ist (3,67 mm vs. 3,73 mm). Dabei ist im ersten Fall der Größenunterschied zwischen den Wirtsrassen beinahe signifikant ($t_{498} = 1,88$, $P = 0,06$), im zweiten Fall ist er sogar hochsignifikant ($t_{426} = -3,72$, $P < 0,001$). Ursache dieser unterschiedlichen Ergebnisse sind die Heterophyllum-Populationen. Während die Oleraceum-Populationen in beiden Datensätzen den gleichen Mittelwert aufweisen, variiert die mittlere Flügellänge der Heterophyllum-Fliegen deutlich. Wurden die beiden Datensätze zusammen ausgewertet, ergaben sich Mittelwerte von $3,73 \pm 0,16$ mm für die Oleraceum-Weibchen, beziehungsweise $3,71 \pm 0,17$ mm für die Heterophyllum-Weibchen. Obgleich dieser Unterschied marginal signifikant war ($t_{926} = -1,93$, $P = 0,054$), erscheint er doch

Tabelle 4.11. Morphometrische Daten für alle Populationen, bei denen Flügel und Ovipositor vermessen wurde (Datensatz B).

	Flügelänge [mm]	N	Ovipositorlänge [mm]	N	Ovipositorlänge/ Flügelänge	N
HST10	3,60 ± 0,21	30	1,69 ± 0,16	29	0,467 ± 0,036	27
HST9	3,63 ± 0,23	29	1,75 ± 0,12	32	0,482 ± 0,027	29
HST3	3,68 ± 0,15	26	1,73 ± 0,08	27	0,469 ± 0,023	26
Allopatrie	3,64 ± 0,20	85	1,72 ± 0,13	88	0,473 ± 0,030	82
HS2	3,73 ± 0,14	31	1,68 ± 0,09	32	0,452 ± 0,025	31
HS6	3,71 ± 0,17	32	1,67 ± 0,11	30	0,451 ± 0,026	30
HS13	3,56 ± 0,17	29	1,60 ± 0,10	26	0,449 ± 0,023	25
Sympatrie	3,67 ± 0,18	92	1,65 ± 0,11	88	0,451 ± 0,025	86
HO3	3,76 ± 0,09	32	1,72 ± 0,09	32	0,458 ± 0,025	32
H1	3,70 ± 0,12	24	1,76 ± 0,13	32	0,476 ± 0,036	24
H5	3,67 ± 0,14	31	1,71 ± 0,12	32	0,465 ± 0,029	31
Parapatrie	3,71 ± 0,12	87	1,73 ± 0,11	96	0,466 ± 0,030	87
Σ hetero	3,67 ± 0,17	264	1,70 ± 0,12	272	0,463 ± 00,30	255
OD6	3,78 ± 0,13	29	1,60 ± 0,09	31	0,425 ± 0,023	28
OD9	3,65 ± 0,18	31	1,55 ± 0,11	30	0,428 ± 0,027	28
Allopatrie	3,71 ± 0,17	60	1,58 ± 0,10	61	0,426 ± 0,025	56
OS3	3,77 ± 0,09	15	1,62 ± 0,09	19	0,431 ± 0,019	15
OS9	3,65 ± 0,14	8	1,57 ± 0,06	8	0,430 ± 0,013	8
Sympatrie	3,73 ± 0,12	23	1,61 ± 0,08	27	0,430 ± 0,017	23
O2	3,66 ± 0,19	28	1,47 ± 0,10	33	0,406 ± 0,022	26
O9	3,83 ± 0,14	24	1,60 ± 0,11	24	0,417 ± 0,026	23
O10	3,79 ± 0,12	29	1,59 ± 0,11	31	0,417 ± 0,026	29
Parapatrie	3,76 ± 0,17	81	1,55 ± 0,12	88	0,413 ± 0,025	78
Σ olera	3,74 ± 0,16	164	1,57 ± 0,11	176	0,420 ± 0,025	157
Σ	3,70 ± 0,17	428	1,65 ± 0,13	448	0,447 ± 0,035	412

verhältnismäßig gering. Unter Berücksichtigung der starken Streuung innerhalb und zwischen Populationen, ergibt sich daraus, dass keine deutliche Differenzierung der Wirtsrassen bezüglich der Flügellänge existiert.

Mit dem Datensatz B wurden außerdem die Ovipositorlängen der beiden Wirtsrassen miteinander verglichen (Tabelle 4.11; Abb. 4.12). Im Gegensatz zu der Flügellänge gab es hier deutliche Unterschiede. Heterophyllum-Weibchen wiesen im Schnitt einen 7,7% größeren Ovipositor auf als Oleraceum-Weibchen, und dieser Unterschied war hochsignifikant ($t_{446} = 12,15$, $P < 0,001$).

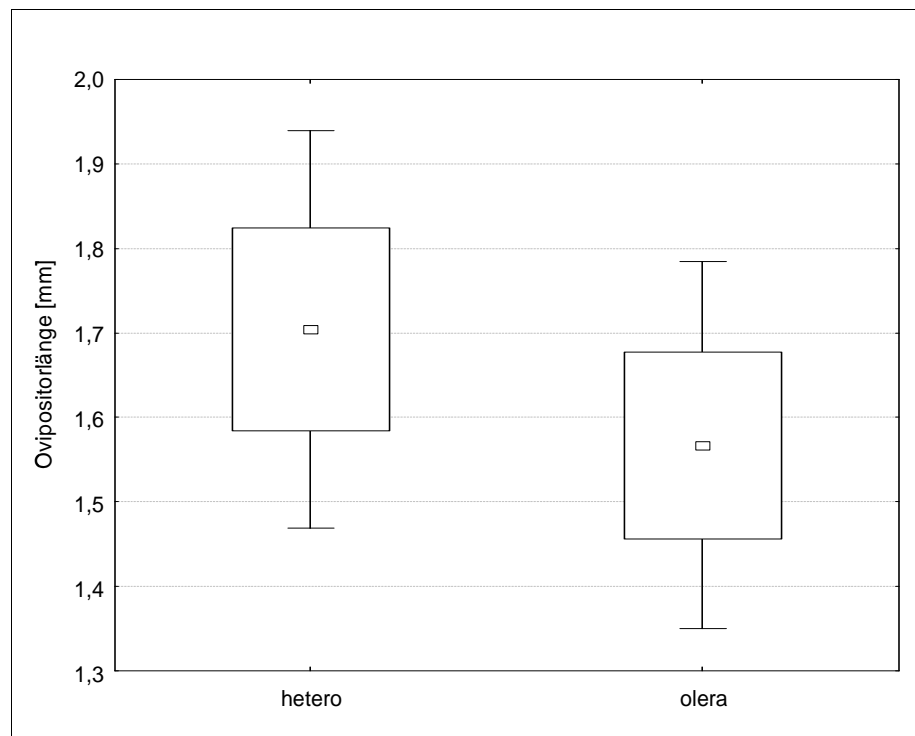


Abbildung 4.12. Mittlere Ovipositorlänge der beiden Wirtsrassen (mit Standardabweichung und 1,96x Standardabweichung).

Ogleich die Analyse der Flügellängen nur geringe Unterschiede zwischen den Wirtsrassen ergeben hatte, war es zumindest möglich, dass die unterschiedlichen Ovipositorlängen zu einem gewissen Teil auf Größenunterschiede zwischen den untersuchten Fliegen zurückzuführen waren. Daher wurden die Ovipositorlängen noch für die Größe normiert, indem der Quotient aus Ovipositorlänge und Flügellänge gebildet wurde.

Der Ovipositor bei Heterophyllum-Fliegen war proportional zur Körpergröße im Durchschnitt 9,3% größer als bei Oleraceum-Fliegen (Abb. 4.13). Wie schon bei der absoluten Ovipositorlänge, war dieser Unterschied hochsignifikant ($t_{410} = 15,07$, $P < 0,001$).

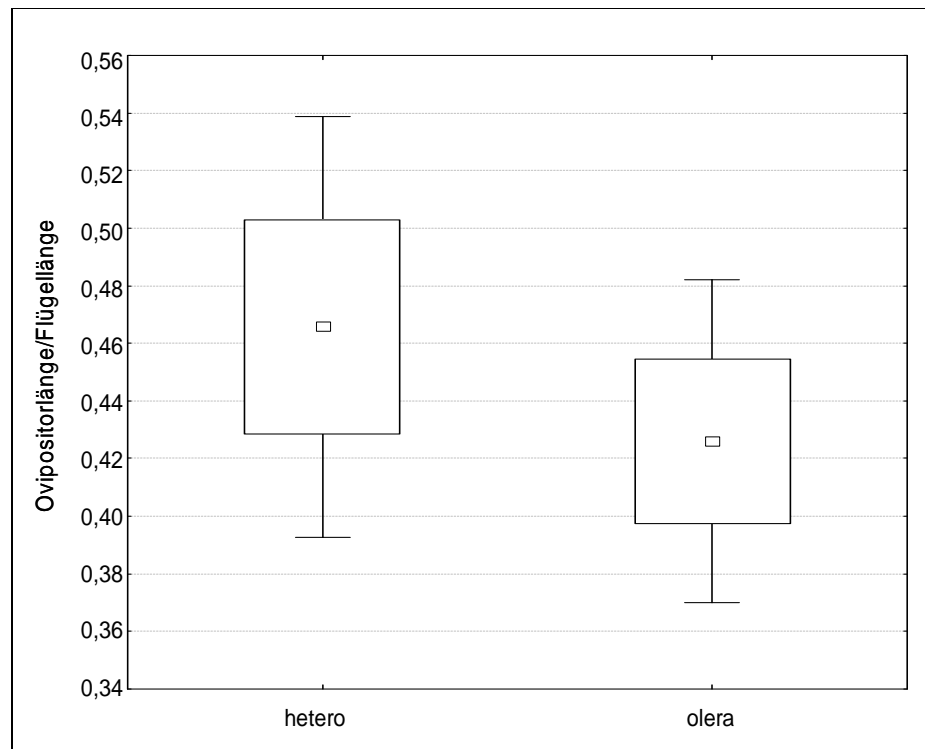


Abbildung 4.13. Mittlere Ratio "Ovipositorlänge/Flügelänge" der beiden Wirtsrassen (mit Standardabweichung und 1,96x Standardabweichung).

4.3.5 Einfluss des Verbreitungsmusters der Wirtspflanzen

Es wurde zusätzlich untersucht, ob die Stärke der morphometrischen Differenzierung zwischen den Wirtsrassen von dem Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen abhängig war. Bei der Flügelänge (Datensatz B) war die Größe des Unterschieds zwischen den Wirtsrassen nicht abhängig davon, ob die Populationen allo-, para- oder sympatrisch waren (ANOVA Interaktionsterm: $F_2 = 0,26$, $P = 0,78$). Es gab aber, neben den bereits oben beschriebenen Unterschieden zwischen den Wirtsrassen, signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Gebieten ($F_2 = 5,09$, $P = 0,007$). Die mittleren Flügelängen waren bei beiden Wirtsrassen am größten in Parapatric und am kleinsten in Allopatric (Abb. 4.14a). Dieses Muster ließ sich allerdings nicht wieder finden, wenn man Datensatz A analysierte. Bei Heterophyllum-Fliegen waren dann zwar immer noch die parapatrischen Populationen im Mittel am größten ($\bar{x} = 3,77$ mm), doch war der Unterschied zu den allopatrischen Fliegen nur marginal ($\bar{x} = 3,75$ mm), und die Flügel der sympatrischen Fliegen waren die mit Abstand kleinsten ($\bar{x} = 3,71$ mm). Bei den Oleraceum-Fliegen wiederum waren die Flügel von allopatrischen Fliegen am größten ($\bar{x} = 3,75$ mm), während sympatrische und parapatrische Fliegen kaum Unterschiede zeigten ($\bar{x} = 3,72$ mm bzw. $\bar{x} = 3,71$ mm). Bedenkt man diese teilweise gegensätzlichen Aussagen der Datensätze A und B, sollten die Ergebnisse entsprechend vorsichtig interpretiert werden. Es gibt zumindest keine Hinweise

darauf, dass die Flügellängen zwischen den Wirtsrassen in bestimmten Gebieten mehr variieren als in anderen.

Im Gegensatz zu den Flügellängen, gab es bei der Ovipositorlänge einen signifikanten Einfluss des Verbreitungsmusters der Wirtspflanzen (ANOVA Interaktionsterm: $F_2 = 10,40$, $P < 0,001$). Die Wirtsrassen unterschieden sich in Sympatrie deutlich weniger als in Parapatric und Allopatric. Dazu trugen zum einen verhältnismäßig große Ovipositorer der Oleraceum-Fliegen bei, aber auch relativ kleine Ovipositorer der Heterophyllum-Populationen. Dieses Muster blieb bestehen, wenn man die Ovipositorlänge durch die Flügellänge dividierte und auf diese Weise größennormierte (Interaktionsterm: $F_2 = 5,02$, $P = 0,007$; siehe auch Abb. 4.14c).

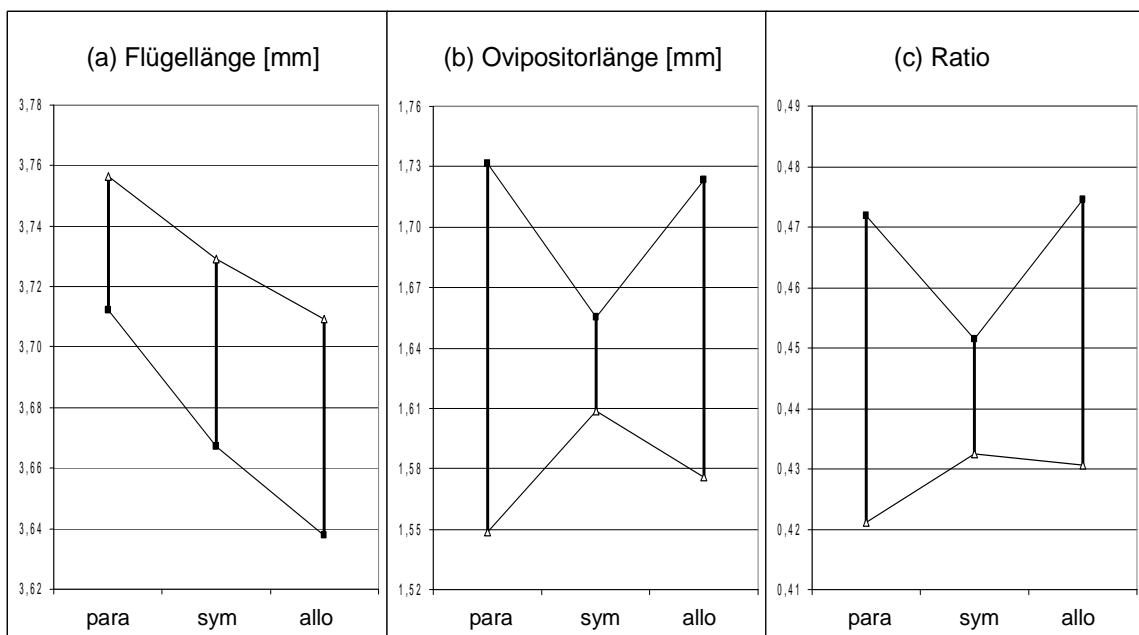


Abbildung 4.14. (a) Flügellängen, (b) Ovipositorlängen, und (c) Ratio "Ovipositorlänge/Flügellänge" der beiden Wirtsrassen für verschiedene Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen (Datensatz B). Dreiecke und Quadrate repräsentieren Oleraceum- bzw. Heterophyllum-Populationen. Die senkrechten Balken entsprechen in ihrer Größe den Unterschieden zwischen den Wirtsrassen. para = parapatrische Fliegen; sym = sympatrische Fliegen; allo = allopatrische Fliegen.

4.3.6 Allometrische Beziehung zwischen Flügelgröße und Ovipositorlänge

Die Beziehung zwischen morphometrischen Merkmalen muss nicht notwendigerweise linear sein. So könnten die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Parameter Flügel- und Ovipositorlänge sich über- oder unterproportional zueinander verändern. Um dies zu überprüfen, wurde der Quotient Ovipositor/Flügellänge gegen die Flügellänge aufgetragen. Wenn Flügellänge und Ovipositorlänge in einer linearen Beziehung zueinander stehen, sollte der Quotient unabhängig von der Flügellänge sein, sodass keine Korrelation zwischen den Variablen existieren dürfte.

Tatsächlich gab es jedoch in beiden Wirtsrassen einen signifikanten Zusammenhang (heterophyllum: $r_{253} = -0,22$, $P < 0,001$; oleraceum: $r_{155} = -0,20$, $P = 0,01$). Mit zunehmender Flügellänge wird der Quotient Ovipositor/Flügellänge kleiner, das heißt die Ovipositorlänge nimmt im Vergleich zur Flügellänge unterproportional zu (Abb. 4.15). Dieses allometrische Verhältnis von Flügel- und Ovipositorlänge gilt für beide Wirtsrassen gleichermaßen. Zwar sind die Regressionsgeraden von Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen aufgrund der wirtsspezifischen Unterschiede in der Ovipositorlänge (siehe oben) auf der Y-Achse verschoben, doch unterscheiden sie sich nicht in der Steigung ($\hat{z}_{408} = 0,009$, $P = 0,99$).

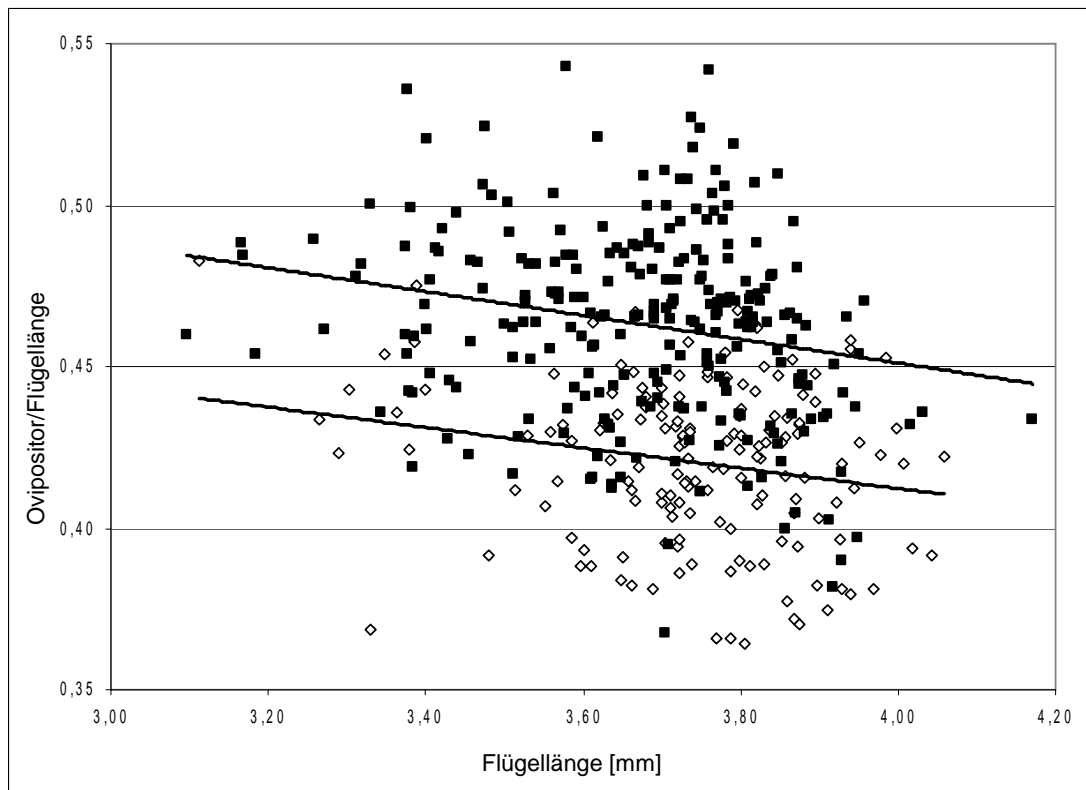


Abbildung 4.15. Korrelation zwischen dem Quotienten Ovipositorlänge/Flügellänge und der Flügellänge. Schwarze Quadrate entsprechen Heterophyllum-Fliegen, weiße Rauten Oleraceum-Fliegen.

4.4 WIRTSPRÄFERENZEN

4.4.1 Versuch mit Blättern

Dieser Versuch wurde sowohl mit Fliegen durchgeführt, die im Frühsommer (Juni 2003) aus dem Freiland gefangen worden waren, als auch mit Fliegen, die im Labor herangezogen worden waren (Februar 2004). In Tabelle 4.12 sind die Versuchsergebnisse für erstere zusammengefasst. Die Anzahl der Aufenthalte auf den beiden angebotenen Wirtspflanzen

war hochsignifikant ungleich verteilt. Die Wirtsrassen bevorzugten jeweils deutlich die Blätter jener Wirtspflanzenart, von der sie im Freiland abgefangen worden waren. Dabei gab es innerhalb der Wirtsrassen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern (heterophyllum: $\chi^2_1 = 0,80$, $P = 0,37$; oleraceum: $\chi^2_1 = 3,11$, $P = 0,08$). Die Ausprägung der Wirtspräferenzen war allerdings zwischen den Wirtsrassen unterschiedlich stark. Heterophyllum-Fliegen zeigten eine deutlichere Blattpräferenz ihrer Wirtspflanze als Oleraceum-Fliegen ($\chi^2_1 = 7,97$, $P = 0,005$).

Tabelle 4.12. Wirtspräferenzen von im Frühsommer gefangenen *T. conura*.

Fliegen	Ansatz	Geschlecht	Aufenthalte auf		P
			<i>C. heterophyllum</i>	<i>C. oleraceum</i>	
Heterophyllum	1	♂	20	6	0,006
	2	♂	11	7	0,346
	3	♂	28	5	< 0,001
	4	♂	12	7	0,251
	5	♂	30	7	< 0,001
	6	♀	26	6	< 0,001
	7	♀	19	13	0,289
	8	♀	18	8	0,050
	9	♀	10	9	0,819
	10	♀	23	3	< 0,001
		Σ Männchen		101	32
	Σ Weibchen		96	39	< 0,001
	Σ total		197	71	< 0,001
Oleraceum	1	♀	10	27	0,005
	2	♀	4	29	< 0,001
	3	♀	7	10	0,467
	4	♀	11	9	0,655
	5	♀	13	22	0,128
	6	♂	8	25	0,003
	7	♂	21	36	0,047
	8	♂	19	40	0,006
	9	♂	18	7	0,028
	10	♂	20	16	0,505
		Σ Männchen		86	124
	Σ Weibchen		45	97	< 0,001
	Σ total		131	221	< 0,001

Im Gegensatz zu den im Frühsommer gefangenen Fliegen zeigten die naiven *T. conura* im Februar 2004 keine klaren Blattpräferenzen (Tabelle 4.13). Bei den Heterophyllum-Fliegen gab es generell kaum Interesse an den Blättern. Die meisten Fliegen blieben während des Versuchs auf der Käfiggaze sitzen. Die wenigen Ereignisse, die beobachtet

werden konnten, ließen auf keinerlei Präferenz schließen. Auch bei den Oleraceum-Fliegen gab es mit einer Ausnahme keine signifikanten Wirtspräferenzen. Generell konnten zwar etwas mehr Aufenthaltseignisse als bei den Heterophyllum-Fliegen beobachtet werden, doch wurde hierbei meist keine Wirtspflanze bevorzugt. Die einzige Ausnahme waren die Weibchen eines Ansatzes, die sich signifikant häufiger auf *C. oleraceum*-Blättern als auf *C. heterophyllum*-Blättern aufhielten. Eine genauere Untersuchung der Wirtspräferenzen konnte in diesem Winter nicht durchgeführt werden, da keine ausreichende Anzahl an Fliegen bis zu diesem Zeitpunkt in den Klimakammern überlebt hatten.

Tabelle 4.13. Wirtspräferenzen von naiven *T. conura* im Februar 2004.

Fliegen	Ansatz	Geschlecht	Aufenthalte auf		P
			<i>C. heterophyllum</i>	<i>C. oleraceum</i>	
Heterophyllum	1	♂	3	3	1,000
	2	♀	10	3	0,052
	3	♀	0	7	0,008
	4	♀	5	6	0,763
	Σ Männchen		3	3	1,000
	Σ Weibchen		15	16	0,857
	Σ total		18	19	0,869
Oleraceum	1	♀	6	7	0,782
	2	♀	8	9	0,808
	3	♀	9	29	0,001
	4	♂	15	11	0,433
	5	♂	22	15	0,250
	Σ Männchen		37	26	0,166
	Σ Weibchen		23	45	0,008
Σ total		60	71	0,337	

4.4.2 Versuch mit Rosetten

Im Januar 2005 wurde ein weiterer Versuch mit naiven Fliegen durchgeführt, bei dem den Fliegen statt einzelner Blätter ganze Rosetten beider Wirtspflanzen angeboten wurden. Im Gegensatz zu obigem Versuch gab es sehr deutliche Wirtspflanzenpräferenzen. Bei jedem der insgesamt zehn verschiedenen Ansätze wählten die Fliegen als Aufenthaltsort signifikant häufiger die Wirtspflanzenart, aus der sie geschlüpft waren, als die Alternativwirtsart (bei einem Ansatz mit verpaarten Heterophyllum-Weibchen war $P = 0,04$, sonst alle $P < 0,001$). Dies galt sowohl für Oleraceum- als auch für Heterophyllum-Fliegen beiderlei Geschlechts. Als weiterer Faktor wurde auch untersucht, ob bereits verpaarte Fliegen andere Präferenzen

als unverpaarte Fliegen aufwiesen. Da verpaarte Oleraceum-Fliegen nicht in ausreichender Menge zur Verfügung standen (siehe auch Paarungspräferenzen), konnte dies nur mit Heterophyllum-Fliegen getestet werden. Sowohl die Anzahl der Beobachtungen als auch die Aufenthaltswahrscheinlichkeiten auf einer Wirtspflanzenart unterschieden sich zwischen verpaarten und unverpaarten Fliegen praktisch nicht (verpaart: 373 Aufenthalte auf *C. heterophyllum* und 96 auf *C. oleraceum*; unverpaart: 367 bzw. 96; $\chi^2_1 = 0,01$, $P = 0,92$).

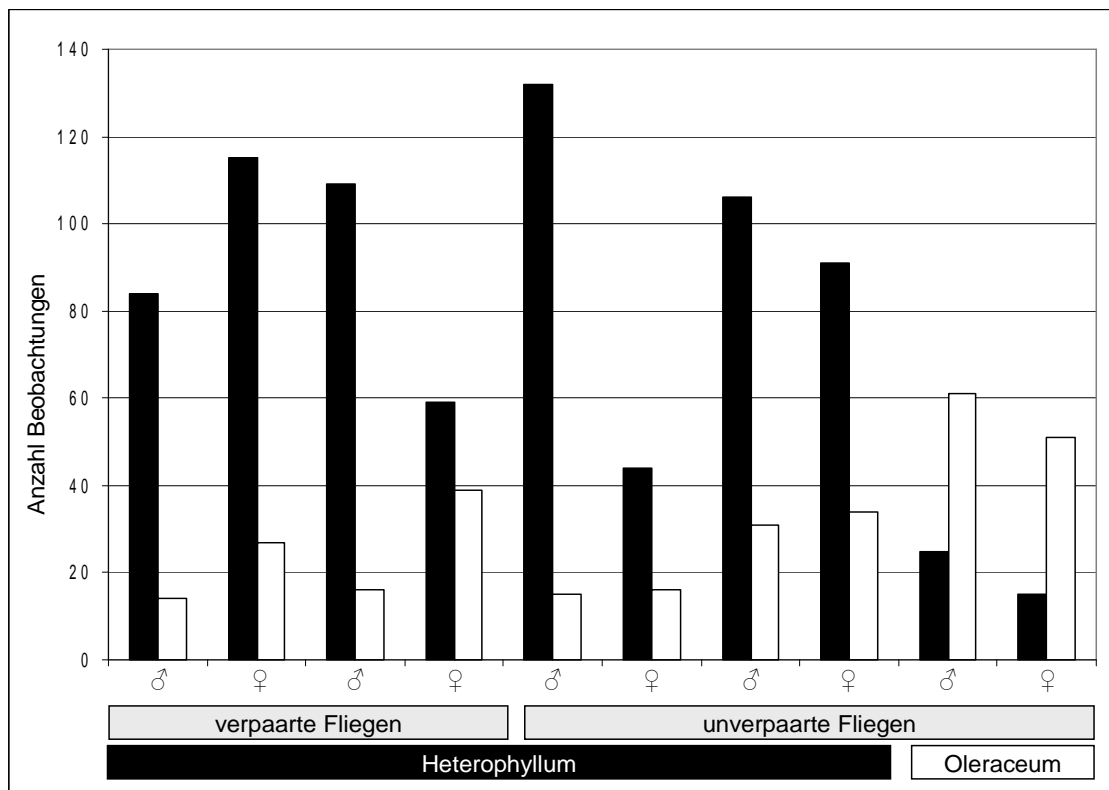


Abbildung 4.16. Rosettenpräferenzversuche (jeder Ansatz mit 30 Fliegen). Schwarze und weiße Balken entsprechen der Anzahl der Beobachtungen auf *C. heterophyllum* bzw. *C. oleraceum*.

In einer weiteren Analyse wurde bei dem Rosettenversuch noch genauer der Aufenthaltsort der Fliegen auf der Rosette mit einbezogen. Hielten sich die Fliegen unmittelbar auf oder an der Stelle auf, wo sich die Blütenknospe entwickeln (was bei den Versuchspflanzen aber noch nicht der Fall war), wurde dies notiert. Berücksichtigte man für die Auswertung nur diese Ereignisse, ergaben sich zumindest bei den Heterophyllum-Fliegen noch deutlich stärkere Unterschiede in den Aufenthaltswahrscheinlichkeiten als unter Einbeziehung aller Daten (Abb. 4.17). Nur in acht von 325 Fällen (~ 2,5%), bei denen Heterophyllum-Fliegen sich nahe der zukünftigen Blütenknospen aufhielten, geschah dies bei *C. oleraceum*-Rosetten. Diese Ungleichverteilung war bei jedem der Versuchsansätze mit Heterophyllum-Fliegen hochsignifikant (alle $\chi^2_1 > 15,38$; $P < 0,001$). Auch bei den Oleraceum-Fliegen waren die Aufenthalte nahe der Knospe teilweise signifikant inhomogen

zwischen *C. oleraceum* und *C. heterophyllum* verteilt (bei den Weibchen: $\chi^2_1 = 5,00$, $P = 0,025$). Doch fanden solche Ereignisse nur äußerst selten statt. Zu über 95% saßen Oleraceum-Fliegen auf den Blättern, während bei den Heterophyllum-Fliegen mehr als ein Drittel aller Rosettenaufenthalte nahe den Blütenknospen stattfand.

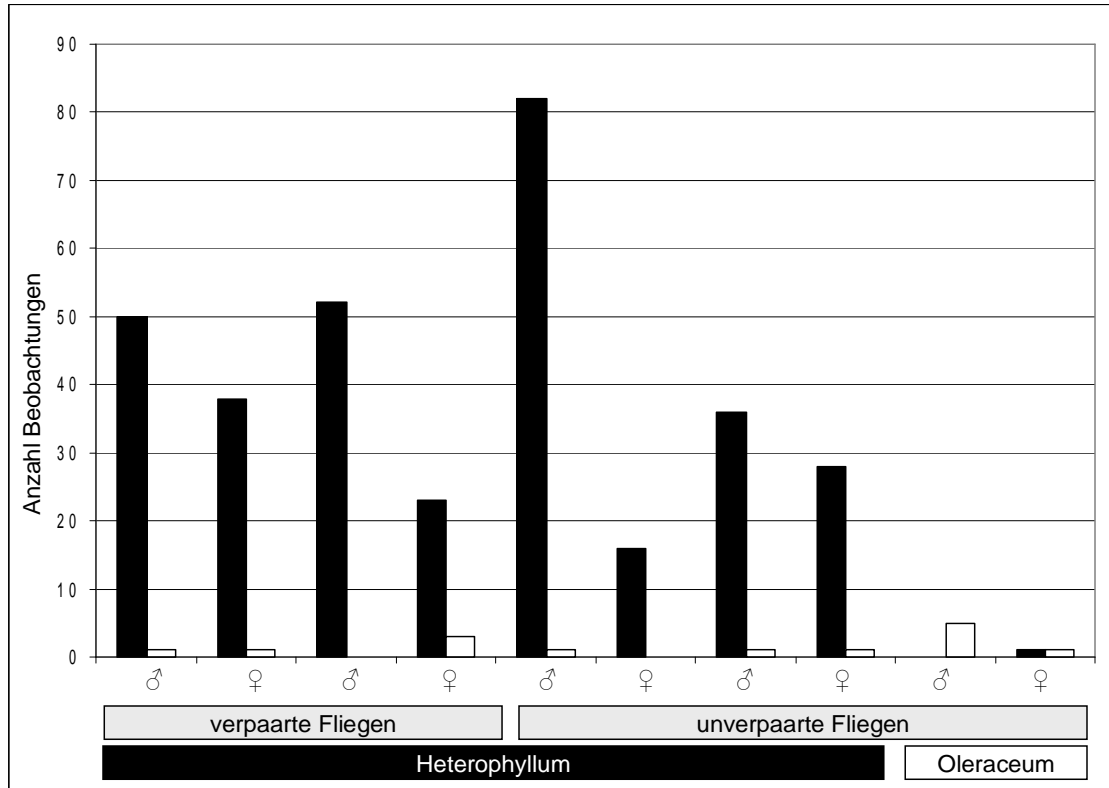


Abbildung 4.17. Aufenthalte an der Blütenknospe beim Rosettenversuch. Symbole siehe Abb. 4.16.

4.5 PAARUNGSPRÄFERENZEN

4.5.1 Einfluss der Wirtspflanzen auf die Paarungsaktivität

Ursprüngliches Ziel der Paarungsversuche war es, zu testen, ob und in welchem Maße Paarungspräferenzen zwischen den Wirtsrassen existieren, und inwieweit die Anbeziehungsweise Abwesenheit der Wirtspflanzen diese beeinflussen. Vorversuche im Winter 2003/04 hatten jedoch ergeben, dass es ohne Wirtspflanzen kaum zu Paarungen unter Laborbedingungen mit naiven Fliegen kam. Daher wurden bei den Paarungsversuchen des Winters 2004/05 verschiedene Versuchsansätze getestet, um zu ermitteln, welche Rolle die Wirtspflanzen für die Paarungsaktivität spielen (Abb. 4.18; siehe Material & Methode).

Die Ergebnisse der Vorversuche konnten nicht bestätigt werden. Zwar wurden in dem Versuchskäfig ohne Wirtspflanzen weniger Paarungen beobachtet als in den Käfigen, die mit

C. oleraceum und/oder *C. heterophyllum* bestückt worden waren, doch hielt sich der Unterschied in Grenzen. In den Vorversuchen hatten in einem leeren Käfig weniger als ein Zehntel der Paarungen stattgefunden, die in einem mit *C. oleraceum*-Rosetten gefüllten Versuchskäfig beobachtet worden waren. Dagegen betrug der Unterschied im jetzigen Versuch im Mittel nur knapp 20% zu den mit *Cirsium*-Rosetten bestückten Käfigen. Für die Ermittlung wirtspflanzenunabhängiger Paarungspräferenzen konnten entsprechend auch leere Versuchskäfige verwendet werden (siehe unten).

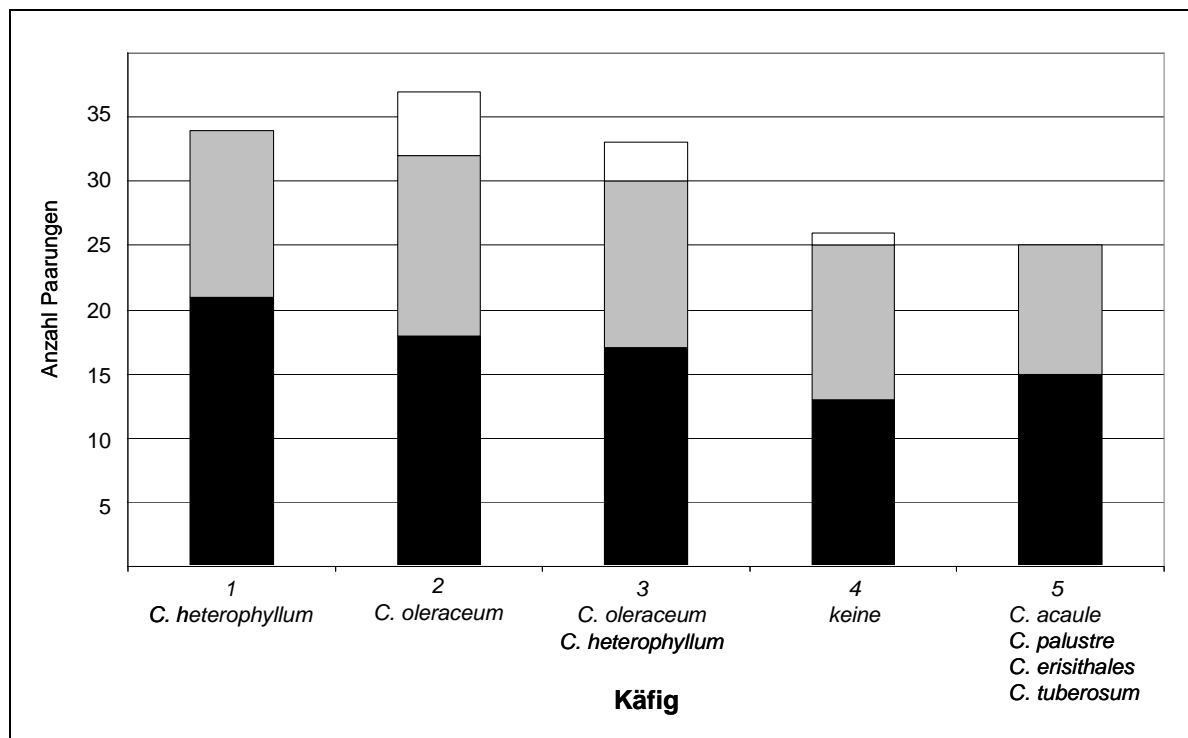


Abbildung 4.18. Paarungen in den Versuchskäfigen 1-5. Die Wirtspflanzen, die sich im jeweiligen Käfig befanden, sind angegeben. Schwarz = Heterophyllum-Paarungen; grau = Hybridpaarungen (Heterophyllum-Weibchen/ Oleraceum-Männchen); weiß = Oleraceum-Paarungen.

Ein gewisser Einfluss der Wirtspflanze auf die Paarungsaktivität ließ sich aber durchaus feststellen. Sowohl bei Heterophyllum- als auch bei Oleraceum-Fliegen fanden die meisten reinrassigen Paarungen in jenem Käfig statt, der ausschließlich die "richtige" Wirtspflanze enthielt. In Käfigen mit *C. oleraceum*-Rosetten kam es zu signifikant mehr Oleraceum-Paarungen als in den anderen Käfigen ($\chi^2_1 = 8,96$, $P = 0,003$), wogegen bei den Heterophyllum-Fliegen der Unterschied nicht signifikant war ($\chi^2_1 = 0,96$, $P = 0,33$).

Dies spiegelt sich auch im Ort der Paarung innerhalb des Käfigs wider (Tabelle 4.14). Reinrassige Oleraceum-Paarungen fanden meistens auf einer *C. oleraceum*-Rosette statt,

während *Heterophyllum*-Fliegen keine ausgeprägte Präferenz aufwiesen und sowohl die Rosetten beider Wirtspflanzen als auch die Käfiggaze regelmäßig als Paarungsort wählten.

Tabelle 4.14. Aufenthaltsort bei den Paarungen. Ch = *C. heterophyllum*; Co = *C. oleraceum*.

Paarungstyp	Käfig 1		Käfig 2		Käfig 3		
	Ch	Gaze	Co	Gaze	Ch	Co	Gaze
Olera ♀ x Olera ♂	-	-	4	2	-	3	1
Hetero ♀ x Olera ♂	1	12	5	9	-	4	9
Hetero ♀ x Hetero ♂	9	12	4	14	2	6	9

4.5.2 Zeitliche Differenzierung der Paarungsaktivität

Es stellte sich schnell heraus, dass der gewählte Versuchsaufbau zur Bestimmung der Paarungspräferenzen nicht geeignet war. *Heterophyllum*- und *Oleraceum*-Fliegen zeigten unterschiedliche zeitliche Muster in ihrer Paarungsaktivität. Bereits am ersten Tag des Versuchs kam es in den fünf Versuchskäfigen zu zahlreichen Paarungen zwischen *Heterophyllum*-Fliegen, jedoch zu keinerlei Paarungen, bei denen *Oleraceum*-Fliegen beteiligt waren (Abb. 4.19). Das ursprüngliche Design, bei dem sich paarende Fliegen aus dem Käfig genommen und durch neue Fliegen ersetzt werden sollten, wurde daraufhin abgeändert. Zwar wurden sich paarende Fliegen entnommen, doch wurden sie zunächst nicht durch neue ersetzt, da die Anzahl der zur Verfügung stehenden Tiere begrenzt war und ansonsten die Möglichkeit bestanden hätte, dass sich alle *Heterophyllum*-Fliegen verpaart hätten, bevor die *Oleraceum*-Fliegen Paarungsaktivitäten zeigen würden.

In den folgenden Tagen änderte sich an diesem Muster nichts. Weiterhin wurden regelmäßig Paarungen zwischen *Heterophyllum*-Tieren beobachtet, nicht jedoch bei *Oleraceum*-Fliegen. Erst an den Versuchstagen 7 und 8 kam es erstmals zu der Beteiligung von *Oleraceum*-Fliegen an Paarungen: *Oleraceum*-Männchen paarten sich in einigen Fällen mit *Heterophyllum*-Weibchen. Da aufgrund der vielen Paarungen inzwischen die Zahl der in den Käfigen verbliebenen *Heterophyllum*-Fliegen stark gesunken war, wurden am zehnten Versuchstag neue *Heterophyllum*-Weibchen zugesetzt (siehe Abb. 4.19). Tatsächlich kam es darauf hin zu einem sprunghaften Anstieg von Hybridpaarungen. Offenbar waren die *Oleraceum*-Männchen jetzt zum größten Teil paarungsbereit, während die *Oleraceum*-Weibchen weiterhin keinerlei Paarungsaktivitäten zeigten. Nachdem sich nach zwanzig Tagen immer noch kaum *Oleraceum*-Weibchen gepaart hatten, wurden noch einmal *Heterophyllum*-Männchen nachgesetzt, um den Weibchen eine größere Auswahl an

Paarungspartnern anzubieten (Oleraceum-Männchen standen für die Versuche nur noch in kleiner Menge zur Verfügung). Die wenigen Paarungen von Oleraceum-Weibchen, die in den folgenden Tagen dann noch beobachtet werden konnten, fanden allerdings nicht mit den Heterophyllum-Männchen, sondern ausschließlich mit Oleraceum-Männchen statt.

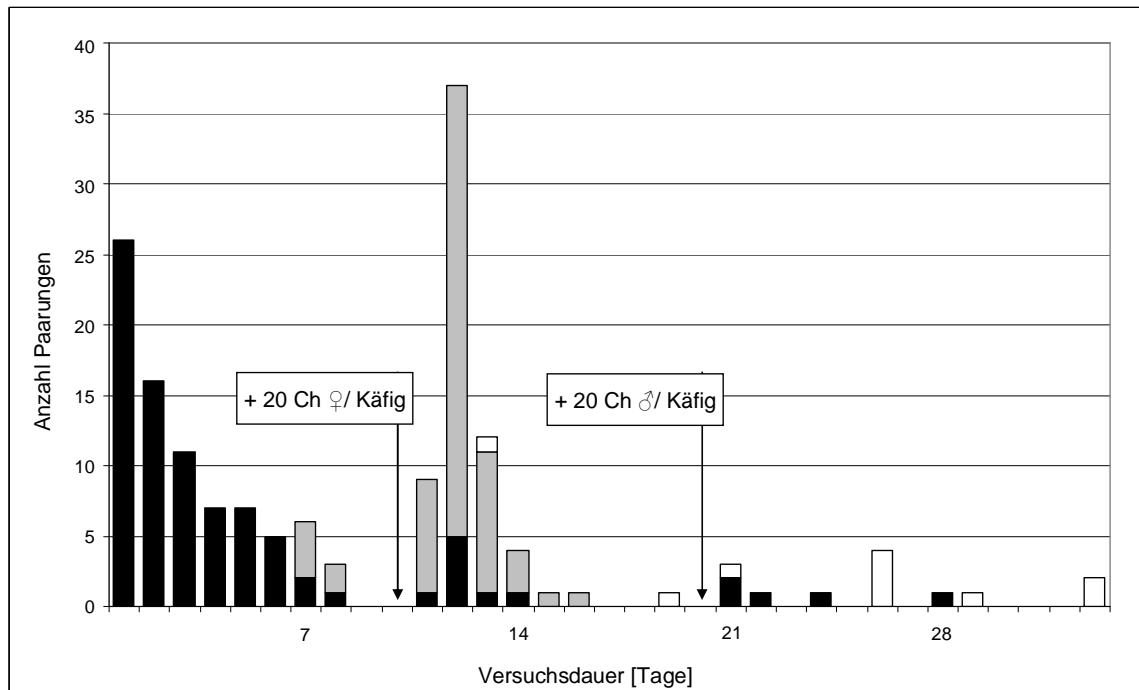


Abbildung 4.19. Anzahl der Paarungen in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (für die Versuchskäfige 1-5 gepoolt). In jedem der fünf Käfige befanden sich ursprünglich je 20 Fliegen beider Wirtsrassen und beiderlei Geschlechts. Sich paarende Fliegen wurden aus den Käfigen entnommen und nicht ersetzt (Ausnahmen siehe Abbildung). Schwarz = Heterophyllum-Paarungen; grau = Hybridpaarungen (Heterophyllum-Weibchen/ Oleraceum-Männchen); weiß = Oleraceum-Paarungen.

Die spätere Aktivität der Oleraceum-Fliegen hätte unter anderem damit erklärt werden können, dass diese Fliegen zwei bis drei Wochen später als die Heterophyllum-Fliegen geschlüpft, sowie in die Klimakammern gebracht worden waren. Daher wurde drei Wochen nach obigem Versuch noch einmal getestet, ob immer noch zeitliche Unterschiede in der Paarungsaktivität zwischen den Wirtsrassen bestanden. Dazu wurden in drei Ansätzen je 30 Männchen und Weibchen aus den Klimakammern geholt und in leere Versuchskäfige überführt. Bei Ansatz 1 wurden nur Heterophyllum-Fliegen, bei Ansatz 2 nur Oleraceum-Fliegen, und bei Ansatz 3 Heterophyllum-Weibchen und Oleraceum-Männchen verwendet (Abb. 4.20). Wurden Paarungen beobachtet, wurden die entsprechenden Fliegen aus den Käfigen entnommen.

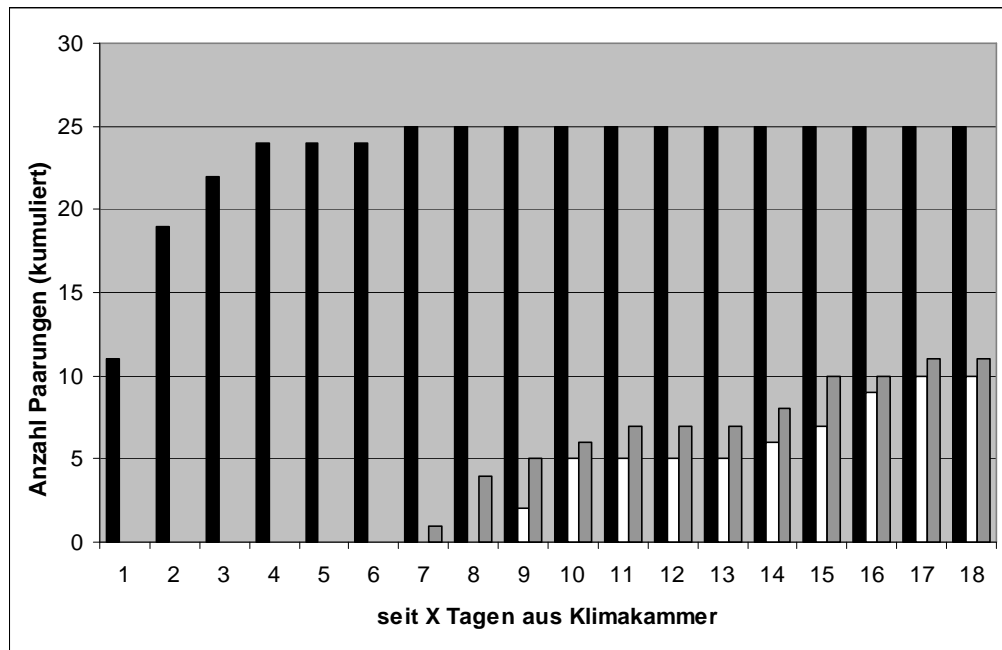


Abbildung 4.20. Anzahl der Paarungen (kumuliert) in Abhängigkeit von der Versuchsdauer. Schwarz = Ansatz 1 (Heterophyllum-Fliegen); weiß = Ansatz 2 (Oleraceum-Fliegen); grau = Ansatz 3 (Heterophyllum-Weibchen/ Oleraceum-Männchen).

Wie schon im ersten Versuch kam es bereits am ersten Tag zu zahlreichen Paarungen zwischen Heterophyllum-Fliegen. Innerhalb weniger Tage hatten sich die meisten Fliegen in diesem Käfig verpaart. Hybridpaarungen wurden frühestens nach einer Woche, reinrassige Oleraceum-Paarungen nach neun Tagen beobachtet. Generell kam es in diesen beiden Käfigen zu deutlich weniger Paarungen als bei den Heterophyllum-Fliegen.

4.5.3 Wirtspflanzenunabhängige Paarungspräferenzen

Nachdem der Versuch erneut gezeigt hatte, dass sich Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen unter den gegebenen Laborbedingungen offenbar im Zeitpunkt ihrer sexuellen Aktivität unterschieden, wurde versucht, dies bei einem weiteren Versuch zur Quantifizierung eventuell vorhandener Partnerpräferenzen zu berücksichtigen. Bei Versuchsbeginn (Mitte Januar 2005) kamen die Heterophyllum-Fliegen direkt aus der Klimakammer, während die Oleraceum-Fliegen bereits vier Wochen unter Langtagsbedingungen und Raumtemperatur gehalten worden waren.

In Tabelle 4.15 sind die Ergebnisse des Versuchs zusammengefasst. Bei den insgesamt 61 Paarungen, die innerhalb von vier Tagen beobachtet werden konnten, waren in 89% aller Fälle Heterophyllum-Weibchen und in über 75% Oleraceum-Männchen beteiligt. Auffällig ist zum einen die verhältnismäßig geringe Anzahl an Paarungen von Heterophyllum-Männchen. In allen anderen Versuchen (unter anderem auch bei Untersuchungen zum Einfluss der Laborbedingungen, deren Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit nicht präsentiert werden)

paarte sich stets ein großer Teil der Heterophyllum-Männchen unmittelbar nach Versuchsbeginn. Zum anderen fallen aber auch die Oleraceum-Weibchen durch ihren geringen Anteil an Paarungen auf. Möglicherweise hätten sie noch mehr Zeit und/oder andere Bedingungen benötigt, um sexuell aktiver zu werden. Dass im Gegensatz zu den Weibchen die Oleraceum-Männchen sehr aktiv waren, deckt sich mit den Ergebnissen des ersten Paarungsversuchs (siehe Abb. 4.19).

Tabelle 4.15. Anzahl der Paarungen zwischen und innerhalb der Wirtsrassen. Werte in Klammern sind Erwartungswerte bei Zufallspaarungen. Hetero = Heterophyllum-Fliegen; Olera = Oleraceum-Fliegen.

♀ \ ♂	Hetero	Olera	Σ
Hetero	15 (13,28)	39 (40,72)	54
Olera	0 (1,72)	7 (5,28)	7
Σ	15	46	61

Obgleich der relative Anteil, den die Wirtsrassen beziehungsweise Geschlechter an den beobachteten Paarungen hatten, sich stark unterschied, gab es keine Anzeichen dafür, dass davon unabhängige Partnerpräferenzen existierten. Die Anzahl der beobachteten Paarungen innerhalb der Wirtsrassen und Geschlechter unterschied sich nicht signifikant von der Zahl der Paarungen, die bei absoluten Zufallspaarungen erwartet worden wäre ($\chi^2_{1} = 2,58$; $P = 0,11$).

4.6 PAARUNGSDAUER

Die Paarungsdauer konnte nur für reinrassige Heterophyllum-Paarungen sowie Hybridpaarungen zwischen Heterophyllum-Weibchen und Oleraceum-Männchen bestimmt werden. Die anderen Paarungskombinationen konnten im Rahmen des Versuchs nicht beobachtet werden.

Die mittlere Paarungszeit lag bei Heterophyllum-Paarungen bei 515 Minuten, bei Hybridpaarungen bei 506 Minuten. Dabei gab es ausgesprochen starke Streuungen (Standardabweichung: ± 201 min bzw. ± 281 min), die vor allem auf einigen Ausreißern beruhten (siehe auch Abb. 4.21). Einzelne Paarungen dauerten länger als einen Tag. Aussagekräftiger als der Mittelwert war daher der Median: Dieser betrug bei Heterophyllum-Paarungen 480 Minuten, bei Hybridpaarungen 424 Minuten. Dieser Unterschied in der

Paarungsdauer war allerdings nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test: $Z_{55} = 1,33$, $P = 0,19$). Entsprechend liefern die vorliegenden Daten keine deutlichen Hinweise dafür, dass die Paarungsdauer bei *T. conura* vom Paarungstyp (reinrassige bzw. Hybridpaarung) abhängig sein könnte.

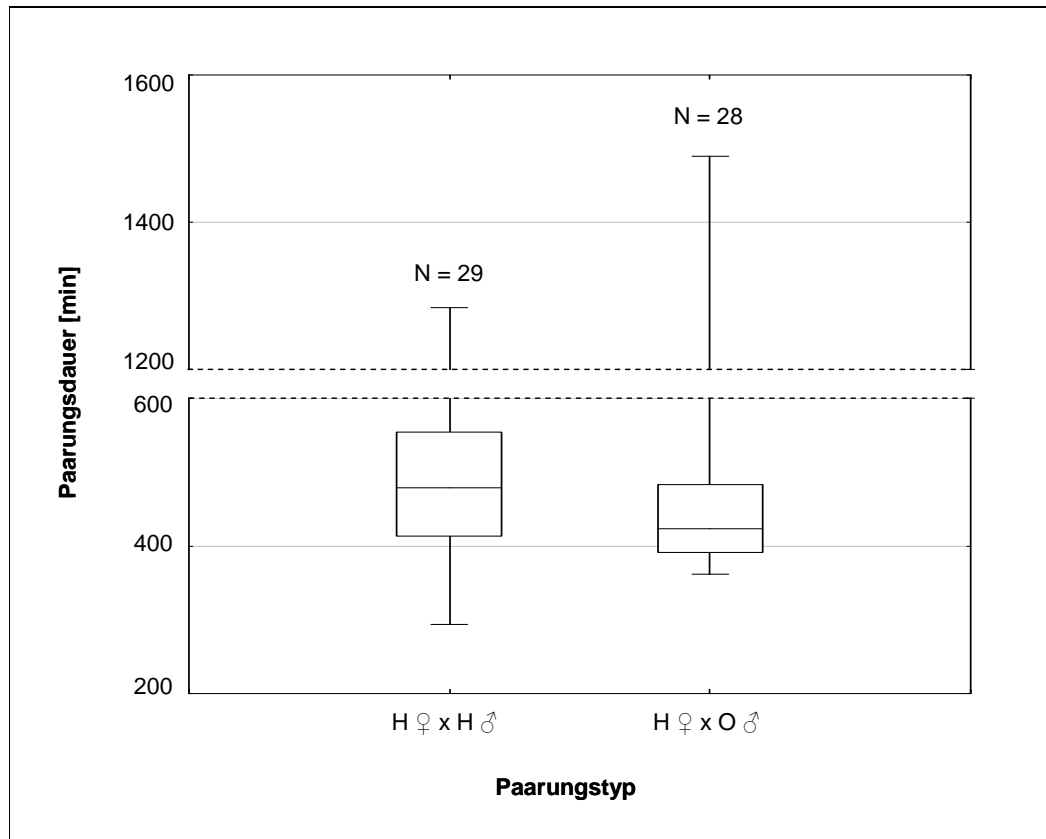


Abbildung 4.21. Box-Whisker-Plot zur Paarungsdauer bei Heterophyllum- und Hybridpaarungen (Median, Quartile, Minimal-/Maximalwerte). H = heterophyllum; O = oleraceum.

4.7 EIABLAGEVERSUCH

Bei dem Eiablageversuch wurden im Freiland abgefangenen Weibchen Blütenköpfe von *C. oleraceum* angeboten, die eine für die Eiablage geeignete Größe aufwiesen. Sowohl Heterophyllum- als auch Oleraceum-Weibchen standen zum Versuchszeitpunkt unter dem Druck, ihre Eier abzulegen und hatten teilweise (in Ermangelung geeigneter Substrate) bereits Eier an die Käfiggaze abgelegt.

Heterophyllum- und Oleraceum-Weibchen unterschieden sich in ihrer Bereitschaft, die *C. oleraceum*-Blütenköpfe als Eiablage substrat in Betracht zu ziehen. Während fast 90% aller Oleraceum-Weibchen die Blütenköpfe mit ihren Ovipositor beprobten, waren bei den Heterophyllum-Weibchen nur in etwa der Hälfte aller Fälle (54,5%) Einstiche in den Hüllblättern der Blütenköpfe zu finden (Abb. 4.22). Die tatsächliche Anzahl an Eigelegten, aus

denen schließlich adulte *T. conura*-Fliegen schlüpften, unterschied sich zwischen den Wirtsrassen allerdings noch wesentlich deutlicher. Bei den Oleraceum-Fliegen schlüpften aus 19 der 25 Blütenköpfe, die Einstichspuren aufgewiesen hatten, *T. conura* (im Mittel $5,95 \pm 4,25$ Fliegen). Dagegen brachte bei den Heterophyllum-Fliegen nur ein einziger der 24 Blütenköpfe eine F1-Generation hervor (8 Fliegen). Dieser Unterschied zwischen den Wirtsrassen bezüglich der erfolgreichen Produktion von Nachkommen in *C. oleraceum*-Blütenköpfen war hochsignifikant ($\chi^2_1 = 11,89$, $P < 0,001$).

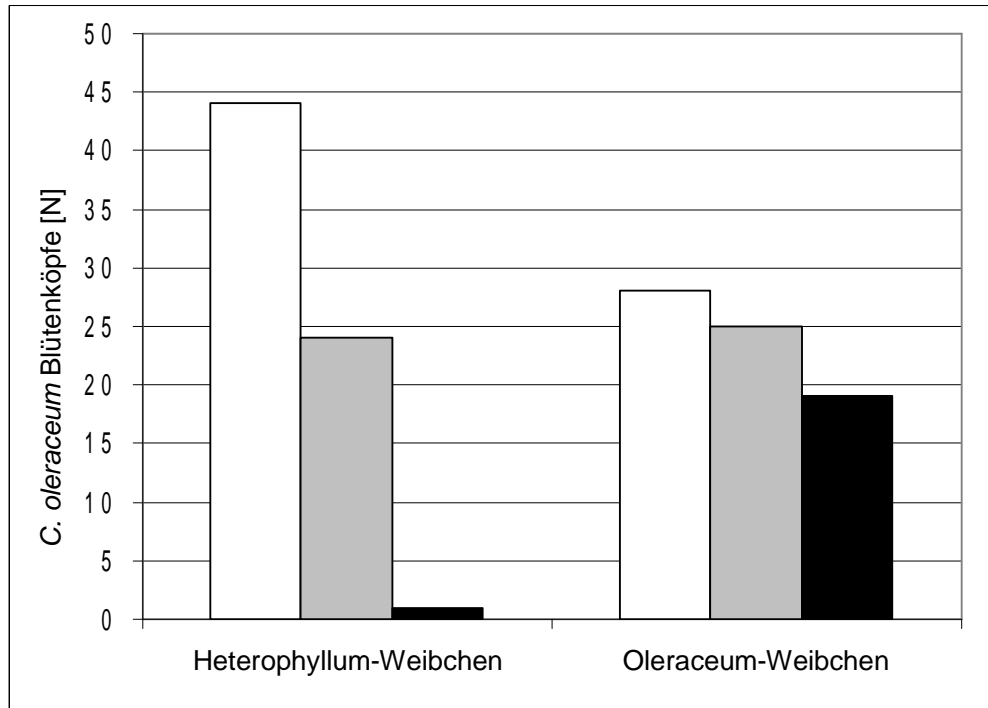


Abbildung 4.22. Eiablageversuch. Weiß = angebotene Blütenköpfe; grau = Blütenköpfe mit Einstichen in den Hüllblättern; schwarz = Blütenköpfe, aus denen F1 geschlüpft sind.

Eine mögliche Erklärung für dieses Muster hätte sein können, dass die Heterophyllum-Weibchen zwar in einer Reihe von Fällen die Blütenköpfe mit ihrem Ovipositor beprobt, dann jedoch von einer Eiablage abgesehen hätten. Um dies zu überprüfen, wurden am Ende des Versuchs alle Blütenköpfe seziiert. Sechzehn der 25 von Heterophyllum-Weibchen getesteten Blütenköpfe wiesen eindeutige Fraßspuren auf, drei waren zweifellos unbefallen und bei fünf Blütenköpfen konnte über einen Befall keine sichere Aussage gemacht werden (Anhang 15). Obgleich in manchen Fällen auch andere Insekten diese Fraßspuren verursacht haben könnten (es schlüpften auch vereinzelt Motten, Rüsselkäfer und andere Insekten, die vermutlich die Pflanzen bereits befallen hatten, bevor sie für den Versuch aus dem Botanischen Garten geholt worden waren), kann davon ausgegangen werden, dass in der Regel *T. conura*-Larven dafür verantwortlich waren. Dementsprechend muss es in vielen

Fällen bei den Heterophyllum-Weibchen zu Eiablagen gekommen sein. Die Tatsache, dass schließlich nur aus einem einzigen Blütenkopf Fliegen schlüpften, lässt sich dann auf eine hohe Mortalität während der Larvalentwicklung zurückführen. Die genauen Mortalitätsraten für die verschiedenen Stadien konnten allerdings nicht bestimmt werden, da zum Zeitpunkt der Sektion die Blütenköpfe bereits völlig vertrocknet und eine Identifizierung eventuell vorhandener, toter Larven nicht mehr möglich war. Nur Puparien konnten eindeutig erkannt werden. Solche wurden in lediglich zwei von Heterophyllum-Weibchen belegten Blütenköpfen gefunden (mit jeweils einer toten Puppe; siehe Anhang 15), das heißt, die meisten Heterophyllum-Gelege entwickelten sich in den *C. oleraceum*-Blütenköpfen offenbar nicht über Larvenstadien hinaus.

Da nur ein einziger Blütenkopf Heterophyllum-Fliegen hervorbrachte, konnte weder untersucht werden, inwieweit die Entwicklung in der falschen Wirtspflanze morphometrische Parameter beeinflusst, noch, ob es eine Selektion für bestimmte Genotypen gibt. Die wenigen Heterophyllum-Fliegen, die aus *C. oleraceum* geschlüpft waren, zeigten auf Allozymebene keine Auffälligkeiten. Bei den beiden Loci *Hex* und *PepD*, die zwischen den Wirtsrassen besonders stark differenziert sind (siehe Kapitel 4.1), wies das ablegende Weibchen den Genotyp *Hex100107/PepD100100* auf. Die Genotypen der F1-Generation (5x *Hex100107/PepD100100*, 3x *Hex100100/PepD100100*) weisen darauf hin, dass der Vater vermutlich den häufigsten Heterophyllum-Genotypen *Hex100100/PepD100100* hatte. Weder die Genotypen der Eltern, noch die der F1-Generation, lieferten folglich Hinweise, warum dieses Gelege, im Gegensatz zu allen anderen Heterophyllum-Gelegen, in *C. oleraceum*-Blütenköpfen überlebte.

4.8 HYBRIDSTANDORT

4.8.1 Die Parentalpopulationen

Um Aussagen darüber treffen zu können, ob die aus den Hybridpflanzen geschlüpften Fliegen Resultat reinrassiger oder Hybridpaarungen waren, wurden die Allelfrequenzen der lokalen Parentalpopulationen ermittelt (siehe Kapitel 3.6.3). Die untersuchten Loci zeigten meist Frequenzen, die nahe den Durchschnittswerten der jeweiligen Wirtsrasse lagen (Anhang 16). Dies galt bei den Heterophyllum-Fliegen des Hybridstandortes (HOE) auch für die beiden Loci Hexokinase und Peptidase D, die aufgrund ihrer starken Differenzierung zwischen den Wirtsrassen als Indikator für die Wirtsrassenzugehörigkeit der F1-Fliegen benutzt werden konnten. Bei den Oleraceum-Fliegen (OHE) dagegen wurden zwar durchschnittliche Frequenzen bei der Peptidase D erhalten, doch kam bei der Hexokinase das Allel *Hex107* seltener als gewöhnlich vor (OHE = 0,66; Durchschnittswert = 0,80).

Tabelle 4.16. Haplotypverteilung für die Parentalpopulationen des Hybridstandortes.

	Haplotyp		
	H1	H2	H3
Heterophyllum-Fliegen	0	3	7
Oleraceum-Fliegen	7	0	0

Eine scheinbare Erklärung dafür wäre, dass es an diesem Standort auch zu Fehlbelegungen durch Heterophyllum- und/oder Hybridfliegen kommt und ein gewisses Maß an Introgression stattfindet. Allerdings sollten dann auch die Frequenzen am Locus *PepD* aufgrund der Introgressionsereignisse beeinflusst werden. Auch spricht die gefundene Haplotypverteilung am Locus 16S/ND1 gegen regelmäßige Introgressionsereignisse (Tabelle 4.16). Die beiden Wirtsrassen teilten sich in keinem einzigen Fall einen Haplotypen, obwohl speziell Fliegen mit einem möglichst "untypischen" Allozym-Genotypen für die Haplotypenanalyse ausgewählt worden waren. Zusammengenommen lassen daher die genetischen Untersuchungen der Parentalpopulationen vermuten, dass das Vorhandensein der Hybridpflanzen keinen Effekt auf die Zusammensetzung der Wirtsrassenpopulationen hat.

4.8.2 Gelegeanzahl & Gelegegröße

Zwischen dem 18. und 29. Juli 2004 schlüpfen insgesamt 314 Fliegen (172 Männchen, 142 Weibchen) aus 54 Hybridblütenköpfen. Dabei gab es einen hochsignifikanten Zusammenhang zwischen dem Blütenkopfdurchmesser und der Anzahl geschlüpfter Fliegen ($r_{47} = 0,53$, $P < 0,001$; Abb. 4.23).

Im Durchschnitt schlüpfen $5,91 \pm 4,78$ Fliegen aus einem Blütenkopf. Die hohe Standardabweichung wird verständlich, wenn man die Häufigkeitsverteilung der Schlüpfzahlen betrachtet (Abb. 4.24). Zum einen variiert die Anzahl geschlüpfter Fliegen pro Blütenkopf über einen weiten Bereich, zum anderen handelt es sich nicht um eine unimodale Verteilung, sondern es existieren zwei lokale Maxima links und rechts des Mittelwertes. In der Tat weicht die Verteilung hochsignifikant von einer Poisson-Verteilung ab ($\chi^2_5 = 26,90$, $P < 0,001$). Die beobachtete Verteilungsform ist vermutlich auf Mehrfachbelegungen einer gewissen Anzahl von Blütenköpfen zurückzuführen. Belege dafür lieferte auch die Analyse der Allozymgenotypen, mittels derer die Wirtsrassenzugehörigkeit der Eltern der geschlüpften Fliegen bestimmt werden konnte (siehe Kapitel 3.6.3). Bei neun Blütenköpfen

konnte auf diese Weise eine Zweifachbelegung nachgewiesen werden, bei jeweils einem Blütenkopf sogar eine Dreifach- beziehungsweise Vierfachbelegung (Anhang 17). Die tatsächliche Anzahl an Mehrfachbelegungen ist vermutlich noch höher, da sich Gelege, deren Eltern die gleiche Wirtsrassenzugehörigkeit aufwiesen, aufgrund der geringen Allozyndifferenzierung innerhalb der Wirtsrassen in der Regel nicht voneinander unterscheiden ließen.

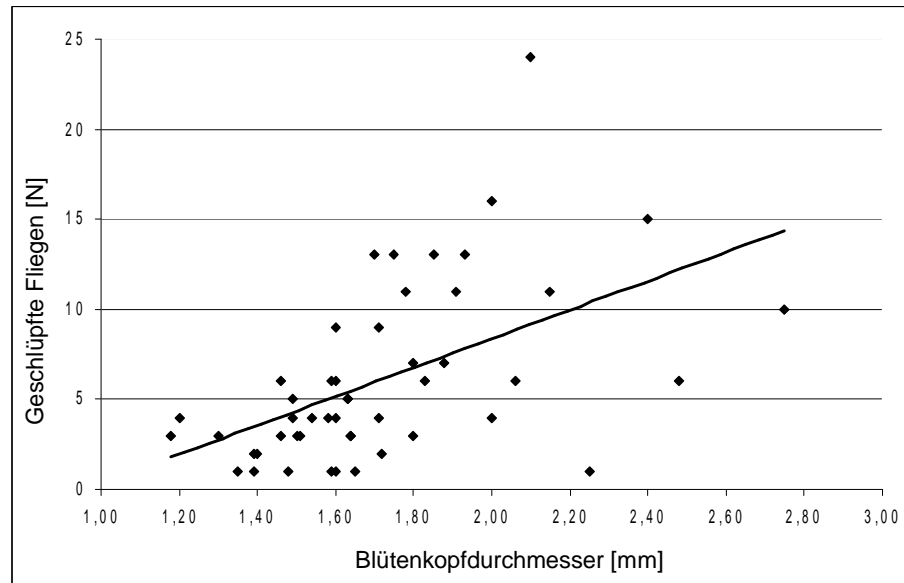


Abbildung 4.23. Korrelation zwischen Blütenkopfdurchmesser und Anzahl geschlüpfter Fliegen.

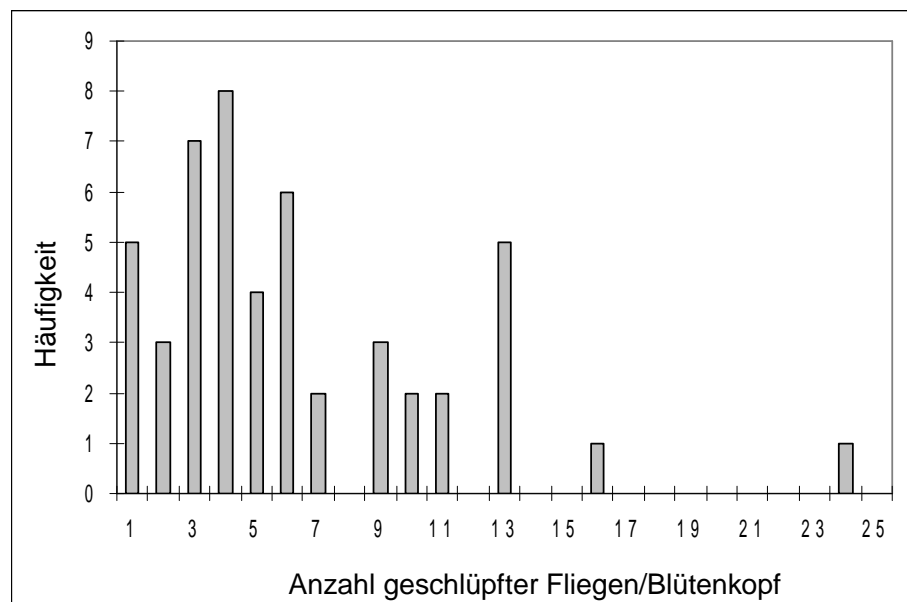


Abbildung 4.24. Häufigkeitsverteilung der Anzahl geschlüpfter Fliegen pro Blütenkopf.

Insgesamt konnten 63 Eigelege identifiziert werden. Davon ließen sich 34 Gelege Heterophyllum-Eltern zuordnen, 22 Gelege waren das Ergebnis von reinrassigen Oleraceum-Paarungen und sieben Eigelege entstammten höchstwahrscheinlich Hybridpaarungen. Dabei kam es zu keiner signifikanten Ungleichverteilung der verschiedenen Gelegetypen zwischen den verschiedenen Hybridpflanzen ($\hat{I}_{16} = 14,67$, $P = 0,55$).

Tabelle 4.17. Beobachtete und erwartete Häufigkeiten von Gelegetypen. O x O = Oleraceum-Paarung, H x H = Heterophyllum-Paarung, O x H = Hybridpaarung.

	O x O	H x H	O x H	Gesamt
Beobachtet	22	34	7	63
Erwartet	10,32	22,32	30,36	63

Auffällig ist die geringe Anzahl an Gelegen, die aufgrund ihrer Genotypen als Hybridgelege klassifiziert wurden. Schätzt man aus allen identifizierten Gelegen den relativen Anteil von Heterophyllum- beziehungsweise Oleraceum-Fliegen an Paarungen (0,595 bzw. 0,405), so sollten, Zufallspaarungen vorausgesetzt, ungefähr 30 der 63 Gelege Resultat einer Hybridpaarung sein (Tabelle 4.17). Die tatsächlich vorgefundene Verteilung unterscheidet sich jedoch hochsignifikant von einer zufälligen Verteilung ($\chi^2_1 = 37,31$, $P < 0,001$). Es wurden deutlich weniger Hybridgelege gefunden als zu erwarten gewesen wäre.

Außerdem wiesen die Hybridgelege auch eine andere Geschlechtszusammensetzung auf als die Gelege, die von reinrassigen Paarungen abstammten. Während bei letzteren ein mehr oder weniger starker Männchenüberschuss zu beobachten war, gab es ein deutliches Männchendefizit bei den Hybridgelegen (Tabelle 4.18). Dieser Unterschied zwischen reinrassigen und Hybridgelegen war signifikant ($\chi^2_1 = 7,00$; $P = 0,008$).

Tabelle 4.18. Anzahl der auf dem 95%-Niveau klassifizierten Fliegen (für Geschlecht und Elternkombination getrennt).

Eltern Geschlecht	Hetero	Olera	Hybridpaarung
Männchen	91	34	5
Weibchen	61	28	15

4.8.3 Analyse der mitochondrialen DNA

Zusätzlich zu den allozymelektrophoretischen Untersuchungen wurden bei manchen Fliegen noch Analysen der mitochondrialen DNA durchgeführt. Dies sollte aufzeigen, wie verlässlich die Zuordnung der elterlichen Wirtsrassen mittels Allozym-Genotypen war. Des Weiteren konnte, aufgrund der maternalen Vererbung der mitochondrialen DNA, bei den Hybridgelegen geschlussfolgert werden, welcher Wirtsrasse die Mutter angehört hatte.

Es wurden insbesondere Fliegen jener Gelege analysiert, die sich in offenbar mehrfachbelegten Blütenköpfen befanden. Die Analyse der Parentalpopulationen (siehe oben) hatte ergeben, dass die Wirtsrassen am Hybridstandort durch spezielle, exklusive Haplotypen charakterisiert sind. Tatsächlich wiesen 37 der 38 untersuchten Gelege genau solche Haplotypen auf, wie sie die Klassifizierung mittels Allozym-Genotypen hatte erwarten lassen. Nur ein (angebliches) Heterophyllum-Gelege zeigte den "falschen" Haplotypen H1, der in der Parentalpopulation nur bei Oleraceum-Fliegen gefunden worden war. Neben der Möglichkeit, dass dieses Gelege tatsächlich ein Oleraceum-Gelege war, könnte allerdings auch der geringe Stichprobenumfang bei der Haplotypenanalyse der Parentalpopulationen für diese Diskrepanz verantwortlich sein. An anderen Standorten im Erzgebirge wurde der Haplotyp H1 nämlich ebenfalls bei Heterophyllum-Fliegen gefunden, doch war seine Frequenz im Erzgebirge insgesamt ausgesprochen gering (~0,07). Dementsprechend könnte es sich im obigen Fall ebenfalls um das Gelege von Heterophyllum-Fliegen handeln, deren Haplotyp H1 aufgrund seiner niedrigen Frequenz bei den Untersuchungen der Parentalpopulation nicht gefunden worden war.

Tabelle 4.19. Haplotypverteilung der Fliegen aus Hybridpflanzen.
Die Zuordnung der elterlichen Wirtsrassen erfolgte über die Allozym-Genotypen. Es wurde pro Blütenkopf und Wirtsrasse unabhängig von der tatsächlich sequenzierten Anzahl nur ein Individuum gewertet. H = Heterophyllum-Fliege; O = Oleraceum-Fliege.

Eltern	Haplotyp		
	H1	H2	H3
H x H	1	17	12
O x O	8	0	0
O x H	3	4	0

Unabhängig davon wurde aber bei der Analyse der Hybridgelege angenommen, dass der Haplotyp H1 die Paarungskombination Oleraceum-Weibchen/Heterophyllum-Männchen anzeigte, während bei den Haplotypen H2 und H3 geschlossen wurde, dass das Gelege aus einer Paarung zwischen einem Heterophyllum-Weibchen und einem Oleraceum-Männchen stammte. Demzufolge stammten von den sieben Hybridgelegen drei von Oleraceum-Weibchen und vier von Heterophyllum-Weibchen ab. Diese Häufigkeitsverteilung deutet darauf hin, dass keine der beiden bei Hybridpaarungen möglichen Kombinationen signifikant häufiger stattfindet als die andere.

4.8.4 Morphometrische Analysen

Bei den aus Hybridpflanzen geschlüpften Fliegen wurden außerdem die Flügel und bei den Weibchen der Ovipositor vermessen (Tabelle 4.20). Für den statistischen Vergleich der F1-Fliegen von Heterophyllum-, Oleraceum- beziehungsweise Hybridpaarungen wurden für jedes Gelege die Mittelwerte der morphometrischen Parameter gebildet, da Fliegen eines Geleges als Vollgeschwister voneinander nicht unabhängig sind.

Tabelle 4.20. Morphometrische Parameter der Fliegen aus Hybridpflanzen. Die Zuordnung der elterlichen Wirtsrassen erfolgte über die Allozym-Genotypen. Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardabweichung, sowie (in Klammern) die Anzahl. H = Heterophyllum-Fliege; O = Oleraceum-Fliege.

	Eltern		
	H x H	O x H	O x O
Flügel ♂ [mm]	3,53 \pm 0,11 (88)	3,56 \pm 0,12 (5)	3,49 \pm 0,19 (31)
Flügel ♀ [mm]	3,75 \pm 0,15 (59)	3,75 \pm 0,15 (14)	3,67 \pm 0,18 (27)
Ovipositor [mm]	1,75 \pm 0,09 (61)	1,71 \pm 0,09 (14)	1,63 \pm 0,09 (28)
Ovipositor/Flügel	0,467 \pm 0,025 (59)	0,459 \pm 0,025 (13)	0,445 \pm 0,018 (27)

Bei der Flügellänge gab es zwischen Heterophyllum-, Oleraceum- und Hybridfliegen keine signifikanten Unterschiede (ANOVA: Männchen: $F_2 = 0,94$, $P = 0,32$; Weibchen: $F_2 = 1,17$, $P = 0,32$). Dies bestätigt die Ergebnisse, die in Kapitel 4.3.4 gefunden wurden. Dagegen unterschieden sich die Gruppen hochsignifikant in der Ovipositorlänge sowie der Ratio "Ovipositorlänge/Flügellänge" (Ovipositor: $F_2 = 11,60$, $P < 0,001$; Ratio: $F_2 = 8,85$, $P < 0,001$). Dies ist vor allem auf die Unterschiede zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Gelegen zurückzuführen (t-Test: Ovipositor: $t_{37} = 4,71$, $P < 0,001$; Ratio: $t_{37} = 4,24$, $P < 0,001$), während die Hybridgelege intermediäre Werte aufwiesen (Abb. 4.25).

Allerdings sind die Unterschiede zwischen den Wirtsrassen weniger deutlich ausgeprägt als bei den vorangegangenen morphometrischen Untersuchungen (Kapitel 4.3.4). Während im Datensatz B die Heterophyllum-Weibchen durchschnittlich 7,7% längere Ovipositoren als Oleraceum-Weibchen aufwiesen, unterschieden sich die aus Hybridpflanzen geschlüpften Wirtsrassen nur um 6,4%. Noch wesentlich deutlicher tritt der Unterschied im Differenzierungsgrad der Wirtsrassen zu Tage, wenn für die Größe korrigiert wird. Im Verhältnis zur Flügellänge waren die Ovipositoren der Heterophyllum-Weibchen nur noch 5,5% länger als jene der Oleraceum-Fliegen, während im Datensatz B der Unterschied immerhin 9,3% betrug.

Verantwortlich für dieses Muster sind die Oleraceum-Fliegen des Hybridstandortes. Während die Heterophyllum-Fliegen sich nicht signifikant zwischen Hybridstandort und Datensatz B unterschieden (Ovipositor: $t_{294} = 1,44$, $P = 0,15$; Ratio: $t_{277} = 1,12$, $P = 0,26$), wiesen die Oleraceum-Fliegen untypisch lange Ovipositoren auf ($t_{189} = 2,13$, $P = 0,03$), insbesondere proportional zur Körpergröße ($t_{170} = 3,61$, $P < 0,001$).

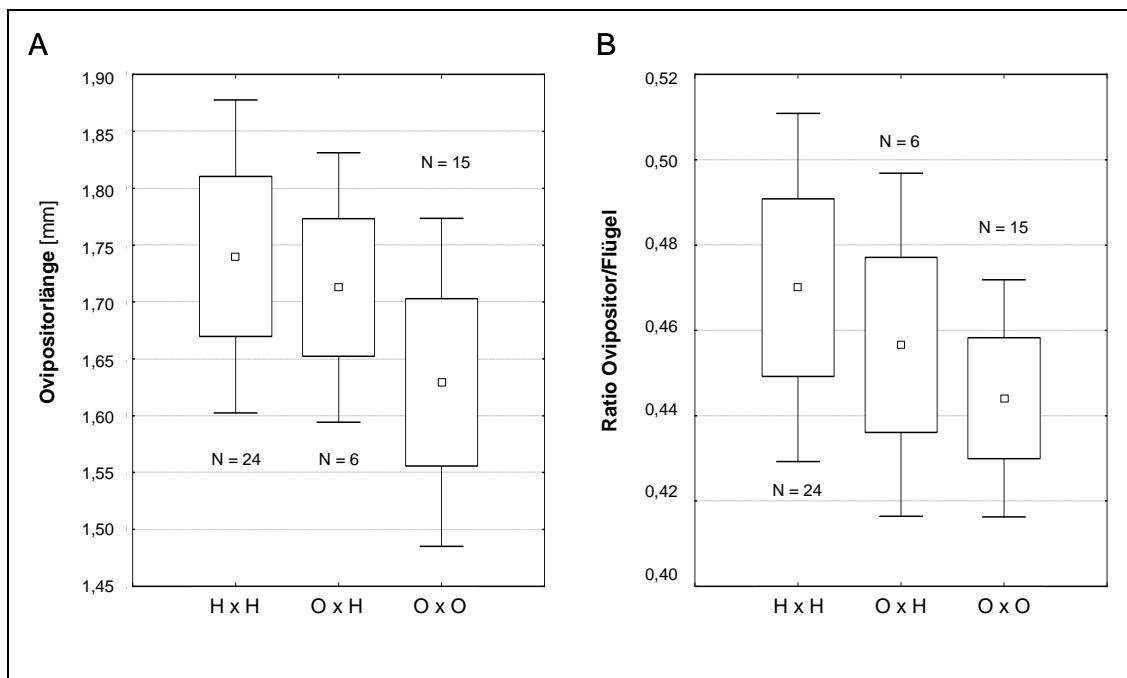


Abbildung 4.25. Box-Whisker-Plots der (A) Ovipositorlänge und (B) Ratio "Ovipositor/Flügel" für Heterophyllum- (= H x H), Oleraceum- (= O x O) und Hybridgelege (= O x H). Angegeben sind Mittelwerte, Standardabweichung und 1,96x Standardabweichung.

5 DISKUSSION

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden in zwei Teilen diskutiert. Zunächst soll aufgezeigt werden, wie stark die beiden Wirtsrassen heutzutage differenziert sind, in welchen Merkmalen sie sich unterscheiden, welche Barrieren den Genfluss zwischen den Wirtsrassen einschränken und welche Rückschlüsse auf das Maß der reproduktiven Isolation daraus gezogen werden können. Dabei wird auch die Möglichkeit diskutiert, dass es sich bei Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen inzwischen nicht mehr um Wirtsrassen, sondern um eigene Arten handelt.

Im zweiten Teil der Diskussion soll der Frage nachgegangen werden, wie sich das Wirtsrassensystem in seiner heutigen Form entwickeln konnte. Es werden Aussagen darüber getroffen, in welche Richtung der ursprüngliche Wirtswechsel stattgefunden hat und wann dies geschehen ist. Mit Hilfe der vorliegenden Daten wird versucht, die der Differenzierung zugrunde liegenden Prozesse zu bestimmen und abzuleiten, ob eine sympatrische Artbildung bei *T. conura* plausibel erscheint. Abschließend wird diskutiert, welche Bedingungen den Wirtswechsel ermöglicht haben könnten.

5.1 DAS HEUTIGE WIRTSRASSEN-SYSTEM

5.1.1 Genetische Differenzierung

Die Allozymdaten zeigen eine sehr starke Differenzierung zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen. In dem UPGMA-Phänogramm clusterten die Populationen ausschließlich entsprechend ihrer Wirtspflanze zusammen, und der genetische Abstand zu einer beliebigen Population der anderen Wirtsrasse war immer ein Vielfaches größer als jener zu einer Population der gleichen Wirtsrasse. Dies spiegelte sich auch in der hierarchischen F-Statistik wider: Fast 92 Prozent der beobachteten Varianz zwischen den Populationen konnte auf die Wirtspflanzenzugehörigkeit zurückgeführt werden.

Entsprechend gering war die Differenzierung zwischen den geographischen Regionen. Mit Ausnahme des Locus *Hbdh* gab es keinerlei signifikanten Allelfrequenzunterschiede. Insbesondere jene Loci, bei denen eine sehr starke wirtsspezifische Differenzierung gefunden wurde, wiesen kaum Unterschiede in den verschiedenen geographischen Regionen auf. Sowohl in allopatrischen als auch in sympatrischen und parapatrischen Gebieten war die Allozymdifferenzierung zwischen den Wirtsrassen sehr ausgeprägt. Die Wirtsrassen sind folglich im gesamten Untersuchungsgebiet stabil.

Es stellt sich nun die Frage, inwieweit von den ausgeprägten wirtsspezifischen Allelfrequenzen auf das Maß der reproduktiven Isolation zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen geschlossen werden kann. Eine traditionelle Möglichkeit mittels der F-Statistik Aussagen über den Genfluss zu treffen, stellt Wrights (1931) Formel über den Zusammenhang zwischen genetischer Differenzierung (F_{ST}), Populationsgröße (N) und Migrationsrate (m) dar. In einem sogenannten Insel-Modell (aber auch unter anderen Modellen, siehe Roderick [1996]) gilt unter einem Drift-Migrations-Gleichgewicht nämlich die Beziehung $Nm \approx (F_{ST}^{-1}-1)/4$. Aus einer Reihe von Gründen ist die Berechnung von Nm als Genflussschätzer für Artbildungsstudien allerdings oft ungeeignet (Mallet 2001, Dres & Mallet 2002). Insbesondere wenn Selektion und nicht genetische Drift die Ursache der genetischen Differenzierung ist, wird die Annahme eines Drift-Migrations-Gleichgewichts massiv verletzt. Ein hoher F_{ST} (niedriger Nm) resultiert dann nämlich möglicherweise von starker Selektion und spiegelt damit nicht notwendigerweise niedrigen Genfluss wider (Dres & Mallet 2002).

Lassen sich aus dem Differenzierungsmuster bei *T. conura* Rückschlüsse ziehen, ob dies der Fall ist? Wenn genetische Drift die Hauptursache der Differenzierung wäre, sollten alle untersuchten Loci in einem ähnlichen Maße betroffen sein (McPheron *et al.* 1988). Daher würden gleichmäßige Unterschiede zwischen den Wirtsrassen an allen Allozymloci darauf hinweisen, dass Drift der entscheidende Faktor für die Differenzierung gewesen ist (Itami *et al.* 1998). Im Gegensatz dazu könnten sehr große Unterschiede zwischen den Loci dahingehend interpretiert werden, dass natürliche Selektion auf jene Loci wirkt, die sich zwischen den Wirtsrassen besonders deutlich unterscheiden (Slatkin 1987).

Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen wiesen an fünf der dreizehn untersuchten Loci signifikante F_{WT} -Werte auf. Berücksichtigt man, dass von den acht Loci, die keine signifikante wirtsspezifische Differenzierung zeigten, vier nicht polymorph waren, scheint dies zunächst auf ein einigermaßen homogenes Differenzierungsmuster hinzudeuten. Tatsächlich unterscheiden sich die fünf Loci, bei denen signifikante F_{WT} -Werte festgestellt wurden, jedoch massiv im Grad der Differenzierung. Bei den Loci *Got*, *Pgd* und *PepA* konnte zwar ein Teil der Varianz zwischen den Populationen auf die Wirtspflanzenzugehörigkeit zurückgeführt werden, doch waren die entsprechenden F-Werte relativ niedrig ($< 0,036$) und zudem nicht in allen geographischen Regionen hochsignifikant. Im Gegensatz dazu wiesen die beiden Loci Hexokinase und Peptidase D hochsignifikante F_{HT} -Werte sowohl in Allopatrie als auch in Sympatrie und Parapatrie auf. Vor allem aber war die wirtsspezifische Differenzierung an diesen beiden Loci ungefähr zwanzigmal höher als an jedem anderen Locus. Dieses Muster lässt sich nur damit erklären, dass in irgendeiner Form natürliche Selektion auf Hexokinase und Peptidase D wirkt, oder dass die Allozymloci an sich zwar selektionsneutral sind, aber eine Kopplung zu Loci besteht, die unter Selektion stehen.

Unter der Annahme, dass in der Tat Selektion die treibende Kraft beim Differenzierungsprozess der Allozyme gewesen ist, wird eine genaue Schätzung des Genflusses

durch die F-Statistik schwierig. Es ist durchaus möglich, dass keinerlei Genfluss mehr zwischen den Wirtsrassen stattfindet. Die geringe beziehungsweise fehlende wirtsspezifische Strukturierung an den Loci, die nicht unter Selektion stehen, wäre dann ein Hinweis darauf, dass die reproduktive Isolation noch nicht lange genug besteht, um das Wirken genetischer Drift an den entsprechenden Allelfrequenzen beobachten zu können (Via 1999, Dres & Mallet 2002). Ein solches Muster wurde zum Beispiel bei dem Schmetterling *Euphydryas editha* gefunden. Heutiger Genfluss zwischen den untersuchten Populationen dieser Art kann mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden (Ehrlich *et al.* 1975), doch waren die untersuchten Allozymloci mit Ausnahme eines Locus, der vermutlich unter Selektion steht, nicht differenziert (McKechnie *et al.* 1975).

Alternativ könnte es aber durchaus auch noch Genfluss zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen geben. Bei *Rhagoletis pomonella*, zum Beispiel, wird der Austausch zwischen den beiden Wirtsrassen, die Apfelbäume beziehungsweise Weißdorn befallen, auf ungefähr sechs Prozent pro Generation geschätzt (Feder *et al.* 1994), und trotzdem bleiben die beobachteten Allelfrequenzunterschiede aufgrund von Selektion gegen bestimmte Genotypen erhalten (Feder *et al.* 1997). Allerdings sind die Allelfrequenzunterschiede zwischen den Wirtsrassen von *R. pomonella* deutlich geringer als bei *T. conura*. Hybridpaarungen und/oder Eiablagen in die "falsche" Wirtspflanze resultieren bei *R. pomonella* daher zwar regelmäßig in schlecht adaptierten Genotypen (gegen die selektiert wird), doch ein großer Teil besitzt einen "richtigen" Genotyp, der auch auf dem Alternativwirt überleben kann, sodass tatsächlich Genfluss zwischen den Wirtsrassen stattfindet.

Dagegen sind die Allelfrequenzunterschiede bei *T. conura* so stark, dass in den allermeisten Fällen vom Allozymgenotyp auf die Wirtsort, aus dem die Fliege geschlüpft ist, geschlossen werden kann. Mit dem Programm *Structure* gelang dies in über 99 Prozent aller Fälle. Entsprechend unwahrscheinlich ist es, dass aus einer Wirtspflanze Fliegen schlüpfen, die von der Alternativwirtsrasse abstammen. Natürlich besteht die Möglichkeit, dass deutlich mehr "falsche" Eiablagen oder Hybridpaarungen stattgefunden haben könnten und die entsprechenden Larven aufgrund ihres ungeeigneten Genotyps im Laufe ihrer Entwicklung gestorben sind. Doch würden solche Ereignisse keinen tatsächlichen Genfluss zwischen den Wirtsrassen darstellen, sondern wären Ausdruck einer postzygotischen Isolation, wie sie weiter unten diskutiert wird.

Hinweise auf das Maß der reproduktiven Isolation liefern aber nicht nur die Allozymdaten, sondern auch die Analyse der mitochondrialen DNA. Die beobachteten Haplotypen waren hochgradig ungleichmäßig zwischen den Wirtsrassen verteilt. Die meisten Haplotypen sowie Nested Clades waren auf eine der beiden Wirtsrassen beschränkt und bei denen, die in beiden Wirtsrassen gefunden wurden, gab es auf allen Kladen-Ebenen signifikante Zusammenhänge zwischen der Wirtsrassenzugehörigkeit und der Häufigkeit des

gefundenen Haplotyps (bzw. Kladen). Dies deutet daraufhin hin, dass es sich um zwei eigene evolutionäre Linien handelt (Templeton 1994, 2001) und der Genfluss zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen zumindest stark eingeschränkt ist.

Allerdings ist die Haplotypentrennung zwischen den Wirtsrassen nicht komplett. Es gibt einige Haplotypen, die sowohl bei Heterophyllum- als auch bei Oleraceum-Fliegen gefunden wurden, darunter auch der mit Abstand häufigste Haplotyp H1. Die Tatsache, dass die Wirtsrassen jeweils keine eigene monophyletische Gruppe bilden ("reziproke Monophylie"), lässt sich auf zweierlei Weise interpretieren. Zum einen könnte anhaltender Genfluss zwischen den Wirtsrassen verhindern, dass sich die Haplotypengenealogie ausschließlich entsprechend der Wirtspflanze differenziert. Zum anderen könnten die Haplotypen, die von beiden Wirtsrassen geteilt werden, Ausdruck eines unvollständigen "lineage sorting" sein, das heißt, die Zeit, die seit der reproduktiven Trennung der Wirtsrassen vergangen ist, reichte bislang nicht aus, damit durch genetische Drift eine reziproke Monophylie der Wirtsrassen entstand. Zwischen diesen beiden Alternativen zu unterscheiden, ist oft schwierig (Funk & Omland 2003) und zudem schließen sie sich auch nicht gegenseitig aus.

Allerdings spricht bei den vorliegenden Daten einiges dafür, dass zumindest gegenwärtige Introgression für die beobachtete Haplotypverteilung keine wichtige Rolle spielt. Wenn dies nämlich der Fall wäre, sollten die geteilten Haplotypen häufiger in Kontaktzonen (Sympatrie/Parapatric) zu finden sein als in allopatrischen Gebieten (Masta *et al.* 2002). Dies ist aber bei *T. conura* nicht der Fall. Von den vier Haplotypen, die sowohl bei Heterophyllum- als auch bei Oleraceum-Fliegen gefunden wurden, kamen zwei gar nicht in Kontaktzonen vor, nämlich H19 und H30. Ersterer wurde bei einer Heterophyllum-Fliege aus den Alpen sowie einer Oleraceum-Fliege aus Schweden gefunden, letzterer bei einer schottischen Heterophyllum-Fliege, sowie je einer Oleraceum-Fliege aus Russland und den Alpen. Dementsprechend kann das Vorkommen dieser Haplotypen in beiden Wirtsrassen nicht durch rezente Genfluss erklärt werden. Am wahrscheinlichsten handelt es sich um unabhängige Mutationen, die in Populationen beider Wirtsrassen auftraten.

Die beiden anderen Haplotypen, die zwischen den Wirtsrassen geteilt werden, nämlich H1 und H7, waren dagegen nicht auf allopatrische Regionen beschränkt, sondern wurden auch in Kontaktzonen gefunden. Betrachtet man aber die Frequenz des häufigsten Haplotyps H1, fällt auf, dass sie in Sympatrie und Parapatric niedriger ist als in allopatrischen Regionen (Tabelle 4.7). Dieses Muster ist genau das Gegenteil dessen, was unter einer Introgressionshypothese zu erwarten wäre (Hare & Avise 1998). Aber nicht nur die Frequenzen der geteilten Haplotypen, auch jene der *nicht* geteilten Haplotypen deuten darauf hin, dass kein signifikanter Genfluss zwischen den Wirtsrassen stattfindet. Unter der Annahme, dass die Wahrscheinlichkeit eines Introgressionsereignisses unabhängig von dem Haplotyp der Fliege ist, sollten alle Haplotypen in einem ähnlichen Maße zwischen den Wirtsrassen geteilt werden. Bei Oleraceum-Fliegen ist dies schwierig zu beurteilen, da bis

auf H1 alle Haplotypen maximal zweimal gefunden wurden. Im Gegensatz dazu hatten aber 83 Prozent aller sympatrischen/parapatrischen *Heterophyllum*-Fliegen einen anderen Haplotypen als H1. Wenn es daher zu Introgressionsereignissen von *Heterophyllum*-Weibchen in eine *Oleraceum*-Population käme, sollte dies entsprechend in 83 Prozent aller Fälle in der Introgression eines "Nicht H1"-Haplotypen resultieren. Tatsächlich jedoch wies von über siebenzig untersuchten *Oleraceum*-Fliegen aus Kontaktzonen nur eine einzige Fliege einen solchen Haplotypen auf (H7 in einer russischen *Oleraceum*-Population). Unter der Annahme, dass 17 Prozent der Introgressionsereignisse nicht entdeckt werden können, da der Haplotyp H1 in beiden Wirtsrassen vorkommt, ergibt sich daraus, dass zu maximal 1,72% Introgression durch *Heterophyllum*-Weibchen in *Oleraceum*-Populationen stattfindet. Es ist aber auch durchaus möglich, dass der einzige gefundene Haplotyp, der mögliche Introgression anzeigt, auf unvollständiges "Lineage Sorting" zurückzuführen ist und noch ein Relikt aus der Zeit vor oder während des Beginns der Wirtsrassenbildung darstellt. Auf der anderen Seite gilt es zu bedenken, dass mit den DNA-Daten keine definitiven Aussagen darüber getroffen werden können, ob der Genfluss von *Oleraceum*-Fliegen in *Heterophyllum*-Populationen genauso stark eingeschränkt ist. Gleiches gilt generell für die Männchen, da aufgrund der maternalen Vererbung der mitochondrialen DNA nur Introgressionsereignisse der Weibchen erkannt werden können. Davon abgesehen lässt sich aber aus der Haplotypverteilung schlussfolgern, dass Introgression zwischen den Wirtsrassen, wenn überhaupt, offenbar nur sehr selten auftritt, und der Genfluss daher zumindest stark, wenn nicht sogar komplett, eingeschränkt ist.

5.1.2 Morphologische Differenzierung

Aus vorhergehenden Untersuchungen war bereits bekannt, dass zwischen den Wirtsrassen morphologische Unterschiede zu bestehen scheinen. So wiesen *Heterophyllum*-Fliegen größere Flügel als *Oleraceum*-Fliegen auf (Komma 1990), und auch der Ovipositor war bei ersteren signifikant länger (Komma 1990, Romstöck-Völkl & Zwölfer 1991). Es war aber bislang unklar, inwieweit diese gefundenen Unterschiede eventuell durch Umwelteinflüsse bedingt sein könnten und ob sie eine genetische Grundlage haben.

Speziell die Körpergröße, für die die Flügellänge als Indikator angesehen werden kann (Robertson 1963, Bithner-Mathé & Klaczko 1999), korreliert bei vielen Insekten mit dem geographischen Breitengrad: In höheren Breiten werden sie größer (z.B. Bryant 1977, Pfriem 1983, Coyne & Beecham 1987, Imasheva *et al.* 1994). Auch wurde ein Zusammenhang zwischen Körpergröße und Höhenlage nachgewiesen (Stalker & Carson 1948). Entscheidender Faktor scheint dabei oftmals die Temperatur zu sein (Roff 1980, Atkinson 1994). Dies gilt es zu berücksichtigen, vergleicht man *Heterophyllum*- und *Oleraceum*-Fliegen bezüglich ihrer Flügellängen. Da erstere nämlich in nördlicheren Breiten

beziehungsweise höheren Lagen vorkommen als letztere (und dies unterschiedliche Umgebungstemperaturen bedingt), könnten eventuelle morphologische Unterschiede weniger Ausdruck differenzierter Wirtsrassen sein, als vielmehr Nebenprodukte verschiedener Umwelten darstellen. In der vorliegenden Arbeit wurde daher zunächst überprüft, ob die Flügellänge bei *T. conura* vom geographischen Standort beeinflusst wird. Mittels einer Korrelationsanalyse konnte jedoch keinerlei Zusammenhang zwischen diesen beiden Faktoren nachgewiesen werden. Sowohl bei den Heterophyllum- als auch den Oleraceum-Fliegen war die Steigung der Regressionsgeraden praktisch null und entsprechend nichtsignifikant. Folglich würde eine Differenzierung zwischen den Wirtsrassen nicht durch Standortunterschiede erklärt werden können.

Der Vergleich der Flügellängen von Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen ergab allerdings, dass eine solche Differenzierung offenbar überhaupt nicht besteht. Zwei große Datensätze, bestehend aus insgesamt fast 1400 Fliegen, konnten keine eindeutigen Größenunterschiede zwischen den Wirtsrassen aufzeigen. In dem einen Datensatz waren die Heterophyllum-Fliegen geringfügig größer, in dem anderen die Oleraceum-Fliegen. Zusammengefasst waren die Flügel der Oleraceum-Populationen etwas länger als jene der Heterophyllum-Populationen, doch war dieser Unterschied marginal ($< 0,8\%$). Diese Ergebnisse stehen im starken Gegensatz zu denen von Komma (1990), der hochsignifikante Flügellängenunterschiede bei bayerischen *T. conura*-Populationen fand. An einem Kontaktstandort im Fichtelgebirge hatten Heterophyllum-Fliegen über fünf Prozent größere Flügel als die Oleraceum-Fliegen. Auch in einer anderen Untersuchung (Grastat 2004) wiesen Heterophyllum-Fliegen deutlich längere Flügel als Oleraceum-Fliegen auf. Wie lassen sich diese widersprüchlichen Ergebnisse erklären?

Kommas Ergebnisse basieren auf den Daten eines einzigen Standortes, von dem jeweils vierzig Fliegen beider Wirtsrassen vermessen wurden. Es ist durchaus wahrscheinlich, dass dieser Standort keine repräsentative Stichprobe darstellt. Immerhin war in der vorliegenden Arbeit die Variation innerhalb der Wirtsrassen deutlich größer als jene, die Komma zwischen den Wirtsrassen gemessen hat. Zum Beispiel hatten die Heterophyllum-Fliegen des schwedischen Standortes HS4 fast zwölf Prozent längere Flügel als jene des nur wenige Kilometer entfernten Standortes HS2. Entsprechend leicht lassen sich signifikante Unterschiede zwischen Standorten finden. Dass dies nicht ausschließlich auf mikroklimatische Unterschiede zurückgeführt werden kann, zeigt zum Beispiel der Kontaktstandort HO1 (bzw. OH1), an dem die Heterophyllum-Weibchen signifikant größer als die Oleraceum-Weibchen waren.

Dagegen lassen sich die von Grastat (2004) gefundenen Unterschiede nicht auf unzureichende Stichprobenzahlen zurückführen. Grastat legte ein Höhen transekt durch ein Alpental und verglich Oleraceum- und Heterophyllum-Populationen verschiedener Höhenlagen. Dabei stellte sich heraus, dass, wie bei Komma (1990), Heterophyllum-Fliegen

hochsignifikant längere Flügel hatten als die Oleraceum-Fliegen. Da keinerlei signifikante Korrelation zwischen Flügellänge und Höhenlage festgestellt werden konnte, wurde dieser Unterschied nicht auf Umweltbedingungen, sondern auf die Wirtspflanzenzugehörigkeit zurückgeführt.

Unter Berücksichtigung der hier präsentierten Daten stellt sich jedoch die Frage, ob die Ursache der Flügellängenunterschiede nicht doch Umweltfaktoren sein könnten. Die gefundenen Größenunterschiede in den Alpen beruhen vor allem auf den ungewöhnlich großen Heterophyllum-Fliegen. Die Weibchen wiesen dort im Mittel Flügellängen von 3,88 mm auf und waren somit deutlich größer als die Heterophyllum-Populationen der vorliegenden Arbeit. Die niedrigeren Temperaturen der montanen bis supalpinen Höhenstufe, in der das Transekt lag (die Heterophyllum-Populationen wurden zwischen 1250m und 1900m üNN gesammelt), könnten dies begründen. Wie bereits oben erwähnt, scheint die Umgebungstemperatur die Größe von Insekten oft maßgeblich zu beeinflussen. Wenn dies der Fall wäre, stellen sich allerdings folgende Fragen: Warum wurde solch ein Effekt dann nicht bei den Breitengrad-Transekten entdeckt, und warum gibt es innerhalb des Höhentransekts keine Korrelation zwischen Flügellänge und Höhe?

Die Antwort zur ersten Frage lässt sich aus den Klimadaten der Standorte ableiten. Die Umgebungstemperatur beeinflusst die Körpergröße während der Larvalentwicklung (z.B. Ray 1960, French *et al.* 1998, Azevedo *et al.* 2002) und diese findet bei *T. conura* vor allem im Juli statt. Die mittlere Juli-Temperatur unterscheidet sich aber zwischen der südlichsten und nördlichsten Schwedenpopulation nur um circa anderthalb Grad Celsius (Durchschnittstemperatur Juli: Malmö 17,0°C, Haparanda 15,4°C [wetter.com AG 2005a,b]). Dies scheint zu wenig zu sein, um einen Zusammenhang zwischen Flügellänge und Standort nachweisen zu können. Dagegen beträgt die mittlere Juli-Temperatur in Galtür, das auf knapp 1600m Höhe mitten im untersuchten Transekt liegt, nur 11,7°C (Gemeinde Galtür 2005). Dies sind immerhin 3,7°C weniger als in der nördlichsten schwedischen Population und könnte erklären, warum Heterophyllum-Fliegen aus den Alpen signifikant größer sind.

Dass sich innerhalb des Höhentransekts keine Korrelation zwischen Größe und Höhenlage findet, könnte daran liegen, dass die entsprechenden Temperaturunterschiede zwischen den Standorten wiederum nicht groß genug sind. Alternativ könnte Genfluss verhindern, dass die Heterophyllum-Populationen innerhalb des Höhentransekts morphometrisch differenziert sind. Zwar kann Temperatur auch als reiner Umweltfaktor auf die Größe vieler ektothermer Tiere einwirken (Atkinson 1994), doch weisen zahlreiche Studien daraufhin, dass klinale Größenunterschiede genetisch determiniert sind (z.B. Anderson 1973, Cavicchi *et al.* 1989, Partridge *et al.* 1994). Existieren solche genetischen Anpassungen bei *T. conura*, ist vermutlich der Selektionsdruck nicht stark genug, um den Genfluss zwischen den Fliegen verschiedener Höhenstufen auszugleichen, insbesondere da

der Genfluss zwischen den Standorten aufgrund der geringen Entfernungen vermutlich sehr stark sein dürfte.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass Umweltfaktoren durchaus einen Einfluss auf morphometrische Parameter bei *T. conura* haben könnten, jedoch die in der vorliegenden Arbeit beprobten Standorte bezüglich klimatischer Parameter nicht heterogen genug sind, um entsprechende Effekte bei der Flügellänge feststellen zu können. Auf Grundlage der großen verwendeten Datensätze kann des Weiteren festgestellt werden, dass es keinen unmittelbaren Einfluss der Wirtspflanze auf die Flügellänge bei *T. conura* gibt.

Dagegen gibt es hochsignifikante Unterschiede zwischen den Wirtsrassen in der Länge des Ovipositors. Das Oviskapt war bei Heterophyllum-Fliegen um durchschnittlich 7,7% länger als bei Oleraceum-Fliegen. Bereits Komma (1990), sowie Romstöck-Völkl und Zwölfer (1991) hatten gezeigt, dass Heterophyllum-Fliegen ein größeres Ovipositorendglied beziehungsweise Oviskapt aufweisen. Allerdings wurde in der ersten Arbeit nur beschrieben, dass Heterophyllum-Fliegen hochsignifikant größere Ovipositorendglieder haben, ohne die Unterschiede genau zu quantifizieren. Bei der Arbeit von Romstöck-Völkl und Zwölfer (1991) war die Stichprobengröße wiederum sehr klein, und es wurden Oleraceum-Fliegen aus dem Schweizer Jura mit Heterophyllum-Fliegen aus den Alpen verglichen. Da keinerlei Angaben zu den Flügellängen gemacht wurden, war nicht auszuschließen, dass der gefundene Unterschied in Wirklichkeit nur einen standortbedingten Größenunterschied der Populationen widerspiegelte. Mit dem vorliegenden Datensatz konnte jedoch eindeutig gezeigt werden, dass der Unterschied in der Oviskaptlänge zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen unabhängig von der Größe ist. Proportional zur Körpergröße wiesen erstere durchschnittlich 9,3% längere Oviskapte als letztere auf.

Kann dies als Beweis dafür gelten, dass sich die Wirtsrassen auch morphometrisch differenziert haben und der Genfluss entsprechend eingeschränkt ist? Entscheidend dafür ist der Nachweis, dass die gefundenen Unterschiede genetisch determiniert und nicht auf phänotypische Plastizität zurückzuführen sind. Die Wirtspflanzen bieten für die Fliegenlarven unterschiedliche Umwelten und können sich zum Beispiel in ihrem Nährwert für die Larven (Häggström & Larsson 1995) oder im Gehalt bestimmter Sekundärstoffe unterscheiden (Roitberg & Isman 1992). Dies kann sich auf die Überlebensraten der Larven (z.B. Craig *et al.* 1989, Barker & Maczka 1996), die potentielle und realisierte Fruchtbarkeit (Awmack & Leather 2002), aber auch auf die Größe morphometrischer Merkmale auswirken. Die Nahrung, die Larven zur Verfügung steht, kann dabei nicht nur die absolute Körpergröße von Insekten beeinflussen (Wheeler & Halpern 1999), sondern auch die Proportionen einzelner morphologischer Merkmale (Bernays 1986, Thompson 1999). Bei solchen, durch die Nahrung induzierten Änderungen in den Körperproportionen, handelt es sich allerdings meist um Strukturen, die mit der Nahrungsaufnahme zusammenhängen und diesbezüglich auch

adaptiv sind (z.B. Wimberger 1991, Thompson 1992, Smith & Palmer 1994). Dies ist bei *T. conura* nicht der Fall, sodass es fraglich ist, ob die proportional größeren Ovipositoren der Heterophyllum-Fliegen überhaupt durch phänotypische Plastizität erklärt werden könnten. Es ist zumindest bislang keine Studie bekannt, die dies für Ovipositoren nachgewiesen hätte.

Eine eindeutige Beantwortung der Frage, ob die Unterschiede auf genetischer Differenzierung der Wirtsrassen beruhen, konnte aber erst die Analyse des Hybridstandortes erbringen. Durch die Genotypisierung der Fliegen, die von Hybridpflanzen geschlüpft waren, konnte die Wirtsrasse der jeweiligen Eltern bestimmt werden, und damit die morphometrischen Merkmale von Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen verglichen werden, deren Larvalentwicklung in der gleichen Umgebung stattgefunden hatte. Tatsächlich wiesen die Heterophyllum-Fliegen wiederum hochsignifikant längere Ovipositoren (sowohl absolut als auch proportional) als die Oleraceum-Fliegen auf. Die als Hybride klassifizierten Fliegen hatten einen intermediären Phänotyp. Dies belegt eindeutig, dass die morphometrischen Unterschiede zwischen den Wirtsrassen genetische Ursachen haben und dass der Genfluss zumindest so stark eingeschränkt ist, dass diese Unterschiede aufrechterhalten werden.

Ob es eventuell zusätzlich auch einen gewissen Einfluss der Wirtspflanze gibt, kann momentan noch nicht ausgeschlossen werden. Die Differenzierung am Hybridstandort war zwar hochsignifikant, aber deutlich geringer als im Durchschnitt (absolut: 6,4% vs. 7,7%; relativ: 5,5% vs. 9,3%). Die Oleraceum-Fliegen hatten proportional größere (und damit den Heterophyllum-Fliegen ähnlichere) Flügel als jede andere untersuchte Oleraceum-Population. Dies könnte entweder daran liegen, dass sich die Oleraceum-Fliegen in der Hybridpflanze anders entwickeln als in *C. oleraceum* (d.h. phänotypische Plastizität würde zumindest bei Oleraceum-Fliegen das Maß der Differenzierung mit beeinflussen), oder dass die Oleraceum-Fliegen dieses Standortes sich von anderen Oleraceum-Populationen unterscheiden (sei es zufällig oder aufgrund von Introgression, siehe aber unten). Bislang konnten leider noch nicht die Parentalpopulationen des Hybridstandortes vermessen werden, sodass dies vorerst ungeklärt bleibt.

Warum aber unterscheiden sich die beiden Wirtsrassen überhaupt in der Oviskaptlänge? Die Struktur des Ovipositors ist bei Tephritiden, die Blütenköpfe oder Stängel von Korbblütlern befallen, generell gut an ihre Wirtspflanzen angepasst (Diaz-Fleischer *et al.* 2000). So ist zum Beispiel die Spitze des Aculeus (der Teil des Ovipositors, der sich normalerweise innerhalb des Oviskaps befindet und bei der Eiablage teleskopartig ausgefahren wird) so geformt, dass bei der Eiablage das Gewebe der Wirtspflanze möglichst gut durchbohrt werden kann (Jones 1989). Auch die Länge des Ovipositors stellt eine Anpassung an die Wirtspflanze dar (Zwölfer 1987). Sie bedingt, in welcher Tiefe die Eier abgelegt werden. Dementsprechend sollte Selektion dahin gehend wirken, dass der

Ovipositor genau so lang ist, dass er die für die Eiablage geeignete Stelle in der Wirtspflanze erreicht (Straw 1989). Für *T. conura* ist diese Stelle ein Hohlraum, der sich zwischen dem scheibenförmigen Röhrenblütenansatz und den Hüllblättern der Knospe befindet. Dieser Hohlraum existiert nur, solange die Röhrenblütenanlagen noch kürzer als ein Millimeter sind (Eschenbacher 1982), was nur bei sehr jungen Knospen der Fall ist. Der Eiablagezeitpunkt muss daher genau mit diesem Stadium synchronisiert sein. Dabei unterscheiden sich die entsprechenden Knospen von *C. heterophyllum* und *C. oleraceum* in ihrer mittleren Größe: Erstere sind deutlich größer ($\bar{x} \approx 9,0$ mm [Romstöck-Völkl 1997, Fig.2.6]) als letztere ($\bar{x} = 6,7$ mm [Eschenbacher 1982]). Dementsprechend ist die Ovipositorlänge, die für die Eiablage optimal ist, bei beiden Wirtspflanzen unterschiedlich. Unter diesem Gesichtspunkt lassen sich die gefundenen Unterschiede zwischen den Wirtsrassen verstehen. Heterophyllum-Fliegen weisen im Mittel längere Oviskapte auf als Oleraceum-Fliegen, da wirtsspezifische Selektion unterschiedliche Optima bedingt. Die morphologische Differenzierung der Wirtsrassen ist also höchstwahrscheinlich adaptiv und auf ihre unterschiedlichen Umwelten zurückzuführen.

Es stellt sich allerdings die Frage, warum sich die Wirtsrassen in ihren Proportionen unterscheiden und nicht einfach nur in der absoluten Größe. Romstöck und Arnold (1987) sowie Tritsch (2005) fanden zum Beispiel, dass Heterophyllum-Fliegen in Schottland wesentlich kleiner als auf dem Kontinent sind, und führten dies darauf zurück, dass die Fliegen in Schottland als Hauptwirt die Sumpfkatzdistel *C. palustre* befallen, die sehr kleine Blütenköpfe aufweist. In diesem Fall erfolgte die Adaptation an einen neuen Wirt offenbar einfach, indem für kleinere Fliegen selektiert wurde, während sich die Körperproportionen kaum veränderten (Tritsch 2005). Warum ist dies bei den hier untersuchten Wirtsrassen anders? Der Grund dafür liegt vermutlich darin, dass auch auf die Körpergröße in erheblichem Maße Selektion einwirkt. So gibt es eine Reihe von Vorteilen, die mit steigender Körpergröße einhergehen. Größere Individuen haben oft Fitnessvorteile gegenüber kleineren (Wickman & Karlsson 1989). Dies kann zum Beispiel seine Ursache darin haben, dass sie Vorteile bei der Partnerwahl haben (Alcock 2001), eine längere Lebensdauer besitzen (Sokolovska *et al.* 2000) oder, bei Weibchen, eine größere Fruchtbarkeit aufweisen (Roff 1992). Auf der anderen Seite kann zunehmende Größe aber auch nachteilig sein. Zum Beispiel ist der Energiebedarf größer, die Erfolgsaussichten eines Räubers können steigen, der Hitzestress steigt oder vermehrte Parasitierung aufgrund einer längeren Larvalentwicklungsdauer (die mit steigender Körpergröße oft einhergeht [Klingenberg & Spence 1997]) ist die Folge (Blanckenhorn 2000). Zusammengenommen ergibt sich daraus eine optimale intermediäre Größe, die durch stabilisierende Selektion aufrechterhalten wird (Schluter *et al.* 1991). Diese optimale Größe kann für Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen durchaus identisch sein, während gleichzeitig auf unterschiedliche Ovipositorlängen selektiert wird.

Zusammengefasst lässt sich feststellen, dass es zwischen den Wirtsrassen hochsignifikante Unterschiede in der Oviskaptlänge gibt, dass diese nicht durch phänotypische Plastizität erklärt werden können, sondern auf genetische Differenzierung zwischen den Wirtsrassen zurückzuführen sind, und dass diese genetische Differenzierung Resultat verschiedener, durch die Wirtspflanze vorgegebener Selektionsdrücke ist.

5.1.3 Heutige Isolationsbarrieren

In den vorhergehenden Abschnitten konnte gezeigt werden, dass der Genfluss zwischen den Wirtsrassen äußerst stark, wenn nicht komplett, eingeschränkt ist. Doch was bedingt diese reproduktive Isolation von Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen? Welche Isolationsbarrieren reduzieren den Genfluss und sind daher für den Differenzierungsbeziehungsweise Artbildungsprozess bei *T. conura* entscheidend? Dobzhansky (1939) stellte eine allgemeine Liste potentieller Isolationsbarrieren auf, die Coyne und Orr (2004) aktualisierten. Diese soll als Leitfaden dienen, um einen Überblick darüber zu gewinnen, welche Barrieren bei *T. conura* eine Rolle spielen (Tabelle 5.1).

Im Wesentlichen lassen sich Isolationsbarrieren in zwei Gruppen einordnen: Entweder sind sie präzygotisch, das heißt, der Genfluss wird verringert, weil es mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit zur Bildung einer Zygote kommt, oder sie sind postzygotisch, das heißt, die Überlebensfähigkeit/Fruchtbarkeit des Hybrids ist mehr oder weniger eingeschränkt. Präzygotische Barrieren werden oft, was die Erhaltung reproduktiver Isolation angeht, als die wichtigeren angesehen (Kirkpatrick & Ravigne 2002). Dies hängt unter anderem damit zusammen, dass die einzelnen Isolationsbarrieren aufeinander folgen, sodass sie immer nur auf jene Individuen wirken können, die von vorherigen Barrieren nicht beeinflusst wurden. Folglich werden Barrieren, die zuerst auftreten, oft *absolut* mehr zur reproduktiven Isolation beitragen als spätere Barrieren - selbst wenn letztere, *relativ* effektiver sein können. Im Folgenden werden potentielle Isolationsbarrieren zwischen den *T. conura*-Wirtsrassen entsprechend in der Reihenfolge diskutiert, wie sie auch in der Natur auftreten.

Die erste Barriere, die den Genfluss zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen verringert, stellt die Trennung der Habitate dar. Komma (1990) zeigte, dass die Wirtsrassen hochsignifikante Präferenzen für ihre Wirtspflanze haben. Wurden zuvor betäubte Fliegen auf Rosetten der falschen Wirtspflanze gesetzt, so verließen sie in allen Fällen innerhalb weniger Minuten die Pflanze. Dagegen verblieben sie auf der Wirtspflanzenart, von der sie ursprünglich auch abgefangen worden waren. Hochsignifikante Wirtspräferenzen wurden auch in der vorliegenden Arbeit gefunden, und da die verwendeten Fliegen vor der Versuchsdurchführung keinerlei Kontakt zu irgendeiner Wirtspflanze gehabt hatten, können frühere Erfahrungen als Adulte keine Rolle bei der Wirtswahl gespielt haben (siehe Prokopy

et al. 1982, 1986). Zwar kann eine Prägung während der Larvalentwicklung nicht ausgeschlossen werden, doch wurde ein solches Phänomen bislang nicht nachgewiesen (Itami *et al.* 1998). Es kann daher davon ausgegangen werden, dass die Wirtspräferenzen bei *T. conura* genetisch determiniert sind.

Welche Merkmale der Wirtspflanze dieses Präferenzverhalten auslösen, ist teilweise ebenfalls bekannt. Mit Farbtafelversuchen wies Komma (1990) nach, dass bei den Wirtsrassen unterschiedliche Farbpräferenzen existieren, die den Blattfarben ihrer Wirtspflanzen entsprechen. Ob weitere Charakteristika der Wirtspflanze eine Rolle bei der Habitatpräferenz von *T. conura* spielen (bei *Rhagoletis pomonella* gibt es zum Beispiel auch olfaktorische Präferenzen [Linn *et al.* 2003]), ist bislang ungeklärt.

Tabelle 5.1. Klassifizierung potentieller Isolationsbarrieren bei *T. conura* (modifiziert nach Coyne & Orr 2004). Erläuterungen siehe Text.

<p>Präzygotische Isolationsbarrieren</p>	
<p><i>I. vor der Paarung</i></p>	
A	Ökologische Isolation
	1. Habitatisolation
	2. Zeitliche (allochrone) Isolation
B	Ethologische Isolation
C	Mechanische Isolation
<p><i>II. nach der Paarung</i></p>	
A	Isolation aufgrund des Kopulationsverhaltens
B	Gametische Isolation
	1. nichtkompetitiv
	2. kompetitiv
<p>Postzygotische Isolationsbarrieren</p>	
A	Extrinsisch
	1. Ökologische Lebensunfähigkeit
	2. Verhaltenssterilität
B	Intrinsisch
	1. Hybridlebensunfähigkeit
	2. Hybridsterilität

Eine weitere ökologische Isolationsbarriere, die mit der Habitatwahl unmittelbar zusammenhängen kann, ist die zeitliche Isolation von Populationen. Eine solche allochrone Isolation kann entweder ein Nebenprodukt der Wirtspflanzenwahl sein oder genetische Ursachen haben. Ersteres konnte Wood (1993) an der Buckelzikade *Enchenopa binotata* nachweisen. Transferexperimente auf verschiedene Wirtsarten (*Viburnum spec.*) resultierten aufgrund verschieden langer Entwicklungszeiten in assortativen Paarungen der Tiere einer Wirtspflanzenart. Dagegen hat die allochrone Isolation sowohl bei den Wirtsrassen von *Rhagoletis pomonella* als auch von *Eurosta solidaginis* genetische Ursachen. Als Ergebnis genetischer Anpassungen an die Phänologie ihrer Wirtspflanzen schlüpfen die Adulten jeweils kurz bevor ihre Wirtspflanzen sich in einem für die Eiablage geeigneten Stadium befinden (Craig *et al.* 1993, Feder *et al.* 1997).

Auch bei *T. conura* unterscheiden sich die Wirtspflanzen in ihrer Phänologie. *C. heterophyllum* beginnt drei bis vier Wochen vor *C. oleraceum* für die Eiablage geeignete Blütenköpfe zu entwickeln, und wenn letztere dann ebenfalls entsprechende Blütenköpfe besitzt, sind bei *C. heterophyllum* bereits keine belegbaren Blütenköpfe mehr vorhanden. Bei Freilandbeobachtungen stellte Komma (1990) fest, dass das Auftauchen der Fliegen mit dieser Entwicklungsphase der Wirtspflanzen synchronisiert war. Heterophyllum-Fliegen tauchten entsprechend drei bis vier Wochen vor den Oleraceum-Fliegen auf und waren bis zu dem Zeitpunkt, an dem es belegbare *C. oleraceum*-Knospen gab, bereits größtenteils abgestorben. Offenbar gibt es also zwischen den Wirtsrassen eine deutliche allochrone Isolation. Doch handelt es sich dabei um eine eigene, unabhängige Isolationsbarriere oder ist dies nur eine Nebenerscheinung der Habitatpräferenzen? Es wäre möglich, dass bei den Fliegen die Wirtspräferenz erst durch ein bestimmtes phänologisches Stadium der Wirtspflanze in starkem Maße ausgelöst wird. Bei dem in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Präferenzversuch hielten sich die Fliegen zum Beispiel vor allem an den Knospen der Rosette auf, die für die Fliegen offenbar eine besonders hohe Attraktivität aufwies. In diesem Fall ließe sich das von Komma beobachtete zeitliche Muster einfach damit erklären, dass die Fliegen auf ihren Wirtspflanzen auftauchen, sobald das phänologische Stadium die entsprechenden Wirtspräferenzen auslöst. Würden demzufolge *C. heterophyllum* und *C. oleraceum* zum gleichen Zeitpunkt blühen, wäre die allochrone Trennung der Wirtsrassen entsprechend hinfällig.

Die Paarungsversuche zeigten jedoch, dass dies offenbar nicht der Fall ist. Unabhängig davon, ob oder welche Pflanzen den Fliegen angeboten wurde, waren die Heterophyllum-Fliegen wesentlich früher sexuell aktiv als die Oleraceum-Fliegen. Erstere paarten sich sofort, wenn sie nach mehreren Monaten Winterbedingungen aus der Klimakammer gebracht wurden, letztere begannen damit erst frühestens zwei Wochen später. Dabei lag dieser Unterschied nicht darin begründet, dass die Oleraceum-Fliegen gut zwei bis drei Wochen später als die Heterophyllum-Fliegen geschlüpft und in die Klimakammern gebracht

worden waren, denn eine Wiederholung des Versuchs mehrere Wochen später erbrachte die gleichen Resultate. Welche Faktoren die sexuelle Reifung bei Tephritiden auslösen, ist unbekannt (Headrick & Goeden 1994), doch sind es bei anderen Insekten oft Temperatur und Tageslänge, die den Beginn und das Ende von Dormanz oder Diapause auslösen (Tauber & Tauber 1981). Bei dem Rüsselkäfer *Pissodes strobi* zum Beispiel ist für die sexuelle Reifung der Weibchen zunächst eine gewisse Zeit bei niedrigen Temperaturen nötig, gefolgt von warmen Temperaturen unter Langtagsbedingungen (Trudel *et al.* 2002). Ähnliches gilt vermutlich auch für *T. conura*. Beide Wirtsrassen benötigen zunächst eine bestimmte Zeit niedrige Temperaturen, damit dann bei einer bestimmten Kombination von Temperatur und Tageslänge die sexuelle Reifung ausgelöst wird. Dabei deuten die Ergebnisse der Paarungsversuche darauf hin, dass sich die Wirtsrassen nicht in der Länge der benötigten "Kaltphase" unterscheiden, sondern unterschiedlich lange höheren Temperaturen und/oder längeren Tageszeiten ausgesetzt sein müssen. In jedem Fall lassen die beobachteten Aktivitätsmuster der Paarungsversuche darauf schließen, dass sich die Wirtsrassen an die unterschiedliche Phänologie ihrer Wirtspflanzen angepasst haben, indem sie ihre eigene Entwicklung mit jener der Wirtspflanze synchronisiert haben.

Damit gibt es neben der Habitatspräferenz bereits eine zweite Isolationsbarriere, die den Genfluss zwischen den Wirtsrassen massiv einschränkt. Existieren außerdem noch weitere präzygotische Barrieren? Die Paarungsversuche deuten daraufhin, dass es zumindest keine ethologische Isolation gibt. Unter Berücksichtigung ihrer sexuellen Aktivität gab es keine Präferenzen der Fliegen bezüglich der Wirtsrassenzugehörigkeit ihres Partners. Dies ist insofern nicht überraschend, als dass Zwölfer (1974a) bei einer Reihe von Tephritiden-Gattungen experimentell interspezifische Paarungen induzieren konnte. Dies hängt mit der geringen intragenerischen Variation der Signalcodes zusammen. Tephritiden kommunizieren, auch bei der Paarung, mittels einer Reihe von Signalbewegungen miteinander, wie zum Beispiel Drehen oder Schwenken der Flügel, "Ruckeln" des ganzen Körpers oder Heben des Ovipositors (Zwölfer 1974b, Headrick & Goeden 1994). Diese Codes sind zwischen den Gattungen teilweise sehr verschieden, innerhalb jedoch sehr ähnlich. Beim Zusammentreffen zweier Tephritiden-Fliegen der gleichen Gattung gibt es daher kaum verhaltensbedingte Isolation.

Auch die Kopulation an sich zwischen Partnern verschiedener Wirtsrassen scheint keine Barriere darzustellen. Es gab zahlreiche Hybridpaarungen, die sich zudem in ihrer durchschnittlichen Paarungsdauer nicht von reinrassigen Heterophyllum-Paarungen unterschieden. Weder eine mechanische Isolation noch eine durch das Kopulationsverhalten bedingte Isolation (Punkte I C und II A aus Tabelle 5.1) spielen also offenbar eine Rolle.

Dagegen kann über die mögliche Bedeutung gametischer Isolation bei *T. conura* keine Aussage getroffen werden. Da keine Wirtspflanzen im richtigen phänologischen Stadium zur

Verfügung standen, konnte beispielsweise nicht überprüft werden, ob bei Hybridpaarungen die Eier im gleichen Maße befruchtet werden wie bei reinrassigen Paarungen (nichtkompetitive gametische Isolation). Bei der Eireifung, die durch Sektion verpaarter Weibchen in verschiedenen Abständen nach der Paarung überprüft wurde, war zumindest kein Unterschied zwischen Weibchen, die sich mit der gleichen Wirtsrasse, und jenen, die sich mit der anderen Wirtsrasse verpaart hatten, erkennbar. Auch ob es eine Spermienpräferenz für die eigene Wirtsrasse gibt (kompetitive gametische Isolation), konnte nicht untersucht werden. Im Laufe der Versuche wurde zahlreiche Male beobachtet, dass sich Fliegen mehrfach verpaarten. Sollte dies nicht nur auf die künstlichen Laborbedingungen zurückzuführen sein, sondern auch im Freiland regelmäßig geschehen, könnte die Benachteiligung von Spermien, die von der falschen Wirtsrasse stammen, eine wirkungsvolle Isolationsbarriere darstellen. Dieses Phänomen konnte bei anderen, eng miteinander verwandten Insektenarten/–unterarten bereits häufig dokumentiert werden (z.B. Bella *et al.* 1992, Gregory & Howard 1994, Robinson *et al.* 1994). Um dies für *T. conura* überprüfen zu können, hätten aber wiederum geeignete Wirtspflanzen zur Verfügung stehen müssen, in die jene Weibchen, die sich sowohl mit der eigenen als auch der anderen Wirtsrasse verpaart hatten, ihre Eier hätten ablegen können.

Die nun folgenden Isolationsbarrieren sind postzygotisch. Gibt es aufgrund solcher Barrieren Entwicklungsprobleme, die auf die Inkompatibilität der verschiedenen Genome zurückzuführen und von Außenbedingungen weitgehend unabhängig sind, so werden sie als intrinsisch bezeichnet. Hängt die postzygotische Isolation dagegen weitgehend von der biotischen oder abiotischen Umwelt ab, ist sie extrinsischer Art. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen darauf hin, dass beide bei *T. conura* eine Rolle spielen könnten.

Leider war es nicht möglich Hybridfliegen zu untersuchen, die entweder aus *C. oleraceum* oder *C. heterophyllum* geschlüpft waren. Das Eiablageexperiment zeigte jedoch, was passiert, wenn Heterophyllum-Fliegen gezwungen werden, ihre Eier in Blütenköpfe von *C. oleraceum* abzulegen. Nur ein einziger von 24 Eiablageversuchen resultierte in F1-Fliegen, die meisten Eigelege entwickelten sich nicht über das Larvenstadium hinaus. Offenbar stellen die Blütenköpfe der falschen Wirtspflanze eine Larvalumgebung dar, die für nicht adaptierte Genotypen eine hohe Mortalitätsrate bedingt. Entsprechend handelt es sich um eine starke extrinsische postzygotische Barriere, die wirkungsvoll die Introgression der Wirtsrassen durch Eiablagen in die falsche Wirtspflanze reduziert. In welchem Maße Hybride unter einer suboptimalen Adaption an die jeweilige Wirtspflanze leiden würden, ist noch unklar. Es ist aber wahrscheinlich, dass ihre Überlebensraten im Vergleich zu "richtig" und "falsch" abgelegten reinrassigen Gelegen intermediär wäre. Craig *et al.* (1997) konnten genau dieses Muster bei *Eurosta solidaginis* nachweisen.

Inwieweit auch interne Entwicklungsprobleme bei *T. conura*-Hybriden eine Isolationsbarriere darstellen könnten, lässt sich noch nicht eindeutig beantworten. Die Ergebnisse des Hybridstandortes ließen sich aber dadurch bestmöglich erklären. Dort wurden hochsignifikant weniger Hybridgelege identifiziert als bei Zufallspaarungen hätten gefunden werden müssen. Für dieses Muster bieten sich zunächst eine Reihe von Erklärungen an, die jedoch größtenteils wieder ausgeschlossen werden können:

1. *Es kommt unabhängig von der Pflanze zu weniger Hybridpaarungen.* Dies könnte durch starke Partnerpräferenzen innerhalb der Wirtsrassen, Verhaltensunterschiede oder mechanische Inkompatibilität bedingt sein. Die Beobachtungen der Paarungsversuche sprechen aber eindeutig gegen alle diese Punkte.
2. *Zeitliche Isolation reduziert die Paarungswahrscheinlichkeit zwischen den Wirtsrassen.* Da die Heterophyllum-Fliegen sich früher paaren als die Oleraceum-Fliegen, sind die meisten Paarungen reinrassig. Dieses Argument mag durchaus gelten, wenn die gesamte Eiablageperiode betrachtet wird. Die analysierten Gelege schlüpfen jedoch alle innerhalb einer einzigen Woche und sowohl Heterophyllum- als auch Oleraceum-Fliegen schlüpfen jeweils auch vor und nach den Hybridgelegen (Anhang 17). Die untersuchten Gelege wurden also alle in einer Zeit abgelegt, als beide Wirtsrassen gleichermaßen sexuell aktiv waren.
3. *Aufgrund der Methodik wurden Hybridgelege nicht entdeckt.* Dies ist nicht auszuschließen, doch erscheint es aus zwei Gründen wahrscheinlicher, dass die Anzahl der Hybridgelege sogar *überschätzt* wurde. Erstens wird bei der Klassifizierung implizit angenommen, dass die *a priori* Wahrscheinlichkeit von reinrassigen Oleraceum-beziehungsweise Heterophyllum-Paarungen, sowie Hybridpaarungen jeweils gleich ist. Nur, wenn diese Wahrscheinlichkeit gleich ist, gilt das 95%-Kriterium, welches aussagt, dass der beobachtete Genotyp mit mindestens 95%-iger Wahrscheinlichkeit Eltern einer bestimmten Wirtsrasse hatte. In Wirklichkeit scheinen Hybridpaarungen aber ja deutlich seltener vorzukommen, das heißt aufgrund der Häufigkeit reinrassiger Paarungen ist die tatsächliche Wahrscheinlichkeit, dass ein als „Hybrid“ eingestufte Genotyp auch einer ist, deutlich geringer (denn mit der Häufigkeit beispielsweise von Heterophyllum-Paarungen steigt auch die Chance, einen eigentlich seltenen Genotypen zu erhalten). Der zweite Grund, der für eine Überschätzung des Hybridanteils spricht, ist, dass die totale Gelegeanzahl aufgrund von unentdeckten Mehrfachgelegen noch größer ist und die meisten unentdeckten Mehrfachgelege aus mehreren Heterophyllum-Gelegen bestehen (nur dort deuten die Gelegegrößen nämlich auf Mehrfachbelegungen hin).

4. *Paarungsort und Eiablageort sind getrennt.* Angenommen, die Habitatpräferenz sorgt dafür, dass sich die Fliegen meistens auf ihrer Wirtspflanze und weniger oft auf einer Hybridpflanze aufhalten. Dann würden sich die meisten Fliegen aufgrund des Rendzevous-Prinzips (Zwölfer 1974a) auf ihrer Wirtspflanze paaren, nur wenige auf der Hybridpflanze (letzteres wären dann zu 50% Hybridpaarungen). Wenn des Weiteren der Eiablageort unabhängig vom Paarungsort wäre, würden die meisten Gelege in der Hybridpflanze, wie festgestellt, von reinrassigen Paarungen stammen, da diese insgesamt am häufigsten stattgefunden haben.

Die Kehrseite davon ist allerdings, dass die meisten Hybridgelege nicht in der Hybridpflanze landen, sondern in der "richtigen" Wirtspflanze des Weibchens. Dies hätte zur Folge, dass eine nicht unerhebliche Menge von Hybridindividuen in die Parentalpopulationen eingebracht würden. Die beobachteten Allelfrequenzen der Parentalpopulationen zeigen jedoch keine Anzeichen von Introgression. Die einzige Erklärung dafür wäre, dass aufgrund der oben besprochenen extrinsischen Isolation die Hybridgelege nur zu einem derart kleinen Teil adulte Fliegen hervorbringen, dass die Allelfrequenzen dadurch nicht merklich beeinflusst werden.

Nur dieser letzte Punkt könnte als Erklärungsansatz für das beobachtete Muster eine, allerdings sehr spekulative, Alternative zu postzygotischer Isolation darstellen. Liegt das Defizit an Hybridgelegen jedoch tatsächlich an letzterem, ist die Wahrscheinlichkeit groß, dass es sich um eine intrinsische Form handelt. Denn selbst wenn extrinsische Isolation aufgrund mangelnder Adaptation an die Blütenkopfumgebung der Hybridpflanzen existieren sollte, so gibt es doch keinen Grund, warum diese dann bei den Hybridfliegen viel stärker als bei den reinrassigen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen sein sollte. Folglich ließe sich das hochsignifikante Defizit an Hybridgelegen am besten durch Inkompatibilitäten der beiden Wirtsrassegenome erklären. Darauf deutet möglicherweise auch noch ein weiteres Indiz hin. Bei genetischen Inkompatibilitäten ist oft zunächst nur ein Geschlecht betroffen. Nach Haldanes Gesetz ist es das heterogametische Geschlecht, welches steril ist, gar nicht auftritt oder selten ist (Haldane 1922). Obgleich die Ursachen dafür immer noch umstritten sind, gilt dieses Gesetz in den allermeisten Fällen (Coyne & Orr 2004). Haldanes Gesetz könnte erklären, warum nur 25% aller geschlüpften Hybridfliegen Männchen waren, während bei reinrassigen Eltern jeweils ein Männchenüberschuss beobachtet wurde. Demzufolge müssten aber die Männchen bei *T. conura* das heterogametische Geschlecht sein. Dies ist zumindest zweifelhaft. Bush (1966) wies für mehrere Arten der Subfamilie Tephritinae Heterogametie bei den Weibchen nach – darunter auch solche der Gattung *Tephritis*. Dagegen waren in anderen Unterfamilien stets die Männchen das heterogametische Geschlecht (siehe auch dos Santos *et al.* 2001, Mavragani-Tsipidou 2002). Dies deutet auf eine gewisse evolutionäre Flexibilität bezüglich dieses Merkmals bei Tephritiden hin

(Saccone *et al.* 2002), sodass nicht auszuschließen ist, dass es vielleicht auch innerhalb von Gattungen Unterschiede geben kann. Zum momentanen Zeitpunkt kann nur festgehalten werden, dass sich bei *T. conura* die Geschlechtsverteilung der Hybridgelege signifikant von jener der reinrassigen Gelege unterscheidet und Haldanes Gesetz dafür eine Erklärung liefern könnte. Zusammen mit dem generellen Defizit an Hybridgelegen deutet dies auf intrinsische Isolation hin, doch muss in weiteren Studien gezeigt werden, dass tatsächlich ein großer Teil der Hybridgelege in den Hybridpflanzen keine Adulten hervorbringt, um dies eindeutig belegen zu können.

5.1.4 Wirtsrassen oder Geschwisterarten?

Unter Berücksichtigung der zahlreichen nachgewiesenen Isolationsbarrieren und der massiven genetischen Differenzierung zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen stellt sich die Frage, ob diese überhaupt noch als Wirtsrassen bezeichnet werden können oder nicht vielmehr bereits zwei eigene Arten darstellen. Zur Erinnerung: Wirtsrassen wurden von Diehl und Bush (1984, S.472) definiert als "Populationen einer Art, die als unmittelbare Folge der Anpassung an einen spezifischen Wirt von anderen, konspezifischen Populationen partiell reproduktiv isoliert sind." Doch was genau ist unter dem Begriff "partiell" zu verstehen? Für Dres und Mallet (2002) sollte der Genfluss pro Generation mindestens ein Prozent betragen, andernfalls handele es sich um zwei eigene Arten. Dabei orientieren sie sich am genotypischen Cluster-Artkonzept (GCSC) von Mallet (1995, S. 296), der eine Art definiert als "unterscheidbare Gruppe von Individuen, mit wenigen oder keinen Zwischenformen, wenn sie in Kontakt mit anderen solchen Gruppe kommt". Bezogen auf Wirtsrassensysteme klassifizieren Feder *et al.* (1998) entsprechend solche Gruppen als Art, wenn sich Individuen mit mindestens 95%-iger Wahrscheinlichkeit dem richtigen Cluster zuordnen lassen. Nach diesem Kriterium handelt es sich bei Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen eindeutig um eigene Arten. Aufgrund des Allozymgenotyps konnten mit dem Programm *Structure* über 99% aller Individuen ihrer tatsächlichen Wirtsrasse zugeordnet werden.

Für das biologische Artkonzept nach Mayr (1942) ist allerdings ausschließlich das Maß der reproduktiven Isolation ausschlaggebend, um Arten zu definieren. Dabei gibt es unterschiedliche Standpunkte. Barton und Hewitt (1985) beispielsweise verlangten, dass für die Klassifizierung zweier Gruppen als verschiedene Arten absolute reproduktive Isolation vorliegen muss. Dies ist bei *T. conura* offensichtlich nicht der Fall, da am Hybridstandort nachgewiesen werden konnte, dass, wenn auch selten, Hybridgelege adulte Fliegen hervorbrachten. Allerdings ist der Genfluss auch bei vielen Arten, die eindeutig als solche klassifiziert werden, nicht komplett unterbunden (Coyne & Orr 2004). Die meisten Autoren betrachten daher ein gewisses Maß an Hybridisierung als akzeptabel. So sieht zum Beispiel

Mayr (1963) das Artniveau erreicht, so bald der Artbildungsprozess unumkehrbar geworden ist, auch wenn manche Isolationsbarrieren noch nicht perfekt sind. Auch Grant (1976) und Wright (1984) betonen, dass ein gewisses Maß an Hybridisierung nicht entscheidend ist, wenn die Arten trotzdem deutlich getrennt bleiben.

Alle Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass dieses Maß an Hybridisierung bei *T. conura* äußerst gering ist. Von über tausend analysierten Individuen hatte kein einziges einen Allozymgenotypen, der an den Loci *Hex* und *PepD* den häufigsten Genotypen der Alternativwirtsrasse aufwies. Des Weiteren bestand von über siebzig Oleraceum-Haplotypen aus Kontaktzonen nur bei einem überhaupt die *Möglichkeit*, dass er Ergebnis von Genfluss sein könnte. Der einzige direkte Beweis für Genfluss, nämlich der Hybridstandort, sollte für die Beurteilung keine Rolle spielen, da er eine äußerst seltene Ausnahme darstellt. Im gesamten Untersuchungsgebiet wurde ansonsten niemals eine Hybridpflanze von *C. heterophyllum* und *C. oleraceum* entdeckt. Dabei ist zu berücksichtigen, dass ein Vielfaches der in die Untersuchungen einbezogenen Standortzahl im Laufe der Arbeit aufgesucht wurde und durch zahlreiche Nachfragen bei Botanikern gezielt nach Hybridstandorten gesucht wurde.

Die Untersuchung potentieller Isolationsbarrieren ergab ein Bild, dass die starke, möglicherweise komplette reproduktive Isolation zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen ebenfalls unterstützt. Am wichtigsten, weil effektivsten, sind dabei die beiden präzygotischen Barrieren Habitatpräferenz und allochrone Isolation. Komma (1990) suchte während der Eiablagezeit an einem Kontaktstandort die dortigen Wirtspflanzen regelmäßig auf *T. conura*-Fliegen ab. In den ersten Wochen fand er zunächst nur auf *C. heterophyllum* Fliegen. Dann folgte eine Phase von zwölf Tagen, während der er keine einzige Fliege mehr beobachten konnte. Schließlich tauchten auf *C. oleraceum* Fliegen auf. Die Kombination von Wirtspräferenz und zeitlichen Unterschieden im Aktivitätsmuster könnte also durchaus in kompletter reproduktiver Isolation von Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen resultieren. Sollte es dennoch vereinzelt zu Eiablagen in die falsche Wirtspflanze kommen, werden, wie im Eiablageversuch gezeigt, die allermeisten Gelege aufgrund mangelnder Adaption an die fremde Umgebung nicht überleben. Bei Hybridgelegen könnten zusätzlich noch Inkompatibilitäten zwischen den verschiedenen Genomen als intrinsische postzygotische Barriere wirken.

Ein weiterer Hinweis darauf, dass die vorhandenen Barrieren Austausch zwischen den Wirtsrassen nicht zulassen, liefern Standorte, an denen zwar beide Wirtspflanzen vorkommen, aber nur eine befallen wird. Solche Standorte wurden im Laufe der Sammelfahrten vor allem in Südschweden gefunden. Dort kommen *C. heterophyllum*-Standorte nur sehr verstreut vor und oft waren sie unbefallen. Vermutlich waren dort Fliegensubpopulationen im Laufe der Zeit ausgestorben und konnten von Heterophyllum-Fliegen aufgrund der Entfernung zum nächsten *C. heterophyllum*-Standort nicht rekolonisiert

werden. Oft befanden sich aber auf der gleichen Wiese auch *C. oleraceum*-Pflanzen, die massiv befallen waren. Die Tatsache, dass trotz intensiver Beprobung der *C. heterophyllum*-Blütenköpfe dieser Standorte keinerlei Befall festgestellt werden konnte, deutet darauf hin, dass es, wenn überhaupt, nur äußerst selten zu Fehlbelegungen kommt.

Zusammengenommen ergibt sich daraus, dass Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen nicht nur unter dem genotypischen Clusterkonzept, sondern auch unter dem biologischen Artkonzept mit großer Wahrscheinlichkeit eigene Arten darstellen. Natürlich sind letztendlich Bezeichnungen wie "Art" und "Wirtsrasse" zu einem gewissen Grad willkürlich, da es sich um einen kontinuierlich ablaufenden Differenzierungsprozess mit vielen Zwischenstufen handelt (Dres & Mallet 2002). Doch kommt durch die Zuteilung des Artniveaus auch zum Ausdruck, dass eine Umkehrung des Differenzierungsprozesses bei *T. conura* unwahrscheinlich ist. Selbst wenn heutzutage noch gelegentlicher Genfluss stattfinden sollte, handelt es sich bei Heterophyllum- beziehungsweise Oleraceum-Fliegen bereits um eigene evolutionäre Linien, die sich in Zukunft unabhängig voneinander weiterentwickeln werden.

5.2 DIE ENTWICKLUNG DES SYSTEMS

5.2.1 In welche Richtung fand der Wirtswechsel statt?

Um Aussagen darüber treffen zu können, welche Faktoren möglicherweise einen Wirtswechsel bei *T. conura* ermöglicht haben, ist es zunächst einmal wichtig, die Richtung des Wirtswechsels zu kennen. Welche der beiden Wirtspflanzen ist die ursprüngliche, und welche wurde durch einen Wirtswechsel kolonisiert? Hinweise darauf können der Grad der genetischen Variation, das geographische Muster der genetischen Variation und die Haplotypgenealogie liefern (Brown *et al.* 1996). Unter der Annahme, dass der Wirtswechsel vor nicht allzu langer Zeit stattgefunden hat, sollte ein bestimmtes Muster zu beobachten sein, falls der Wirtswechsel lokal begrenzt in Sympatrie oder Peripatrie stattgefunden hat (Harrison 1991, 1998): Die Populationen, die den neuen Wirt befallen, sollten aufgrund des Gründereffekts genetisch weniger divers sein, insgesamt weniger weit verbreitet sein und ihre Haplotypen sollten sich innerhalb der Genealogie der ursprünglichen Wirtsrasse befinden (d.h. letztere sollten bezüglich ihrer Haplotypen paraphyletisch zu ersterer sein). Solche Muster aufgrund eines Wirtswechsels wurden bereits bei anderen Tephritiden (Brown *et al.* 1996, siehe aber Smith *et al.* 2002) und Insekten (Brown *et al.* 1994, Funk *et al.* 1995, Groman & Pellmyr 2000) gefunden.

Betrachtet man unter diesen Gesichtspunkten die genetischen Variation bei *T. conura*, deutet alles darauf hin, dass der Wirtswechsel von *C. heterophyllum* zu *C. oleraceum* stattgefunden hat. Der Grad der Haplotypvariation war bei Oleraceum-Fliegen viel geringer

als bei *Heterophyllum*-Fliegen. Dies resultierte in hochsignifikanten Unterschieden in der mittleren Anzahl Haplotypen, paarweiser Differenzen und der Nukleotiddiversität. Entsprechend unterscheiden sich auch die Minimum Spanning Networks von *Heterophyllum*- und *Oleraceum*-Populationen (Abb. 4.6 und 4.7). Ersteres ist deutlich strukturierter als letzteres. Die größere Diversität der *Heterophyllum*-Populationen kommt auch bei den Allozymen zum Ausdruck, wo sie signifikant größere Distanzen zueinander aufwiesen als die *Oleraceum*-Populationen.

Die anderen von Harrison (1991) aufgestellten Erwartungen sind dagegen weniger eindeutig erfüllt: Weder existiert eine absolute Paraphylie der *Oleraceum*-Haplotypen bezüglich der *Heterophyllum*-Haplotypen, noch lässt die heutige geographische Verbreitung der *Oleraceum*-Fliegen darauf schließen, dass diese Wirtsrasse die abgeleitete darstellt. Allerdings könnte ein solches Muster auch nur beobachtet werden, wenn seit dem Wirtswechsel äußerst wenig Zeit vergangen wäre. Dies scheint aber bei *T. conura* nicht der Fall gewesen zu sein (siehe Kapitel 5.2.2). Eine plausible Szenario für das Muster der Haplotypverteilung bei *T. conura* ist, dass ein lokaler Wirtswechsel von *Heterophyllum*-Fliegen, die den Haplotyp H1 aufwiesen, zu *C. oleraceum* stattfand (weswegen sich dieser Haplotyp auch heute noch im Zentrum des *Oleraceum*-Netzwerkes befindet). Nachdem sich dann die neue *Oleraceum*-Wirtsrasse herausbildete und der Genfluss mehr oder weniger unterbunden war, verblieb noch genug Zeit, damit einige wenige exklusive *Oleraceum*-Haplotypen entstehen konnten. Gleichzeitig kam es zu einer raschen Expansion der ursprünglich lokal begrenzten *Oleraceum*-Wirtsrasse, mit der Folge, dass heute das gesamte Verbreitungsgebiet von *C. oleraceum* durch *Oleraceum*-Fliegen befallen ist. Dieses Szenario wird unterstützt von den Ergebnissen der D- und F_S -Tests, sowie der Mismatch Distributions, die alle auf eine rapide Expansion der *Oleraceum*-Fliegen hinweisen.

Schlussendlich gibt es noch ein weiteres Indiz, das auf einen Wirtswechsel von *C. heterophyllum* zu *C. oleraceum* hindeutet. Romstöck (1987) konnte bei *Heterophyllum*-Fliegen keine statistisch signifikante Ei- und Larvalmortalität nachweisen. Dagegen ergeben sich aus Eschenbachers (1982) Daten, dass knapp 40 Prozent aller Eier von *Oleraceum*-Fliegen das Puppenstadium nicht erreichen (dieser Wert wurde aus Abb. 22 [Eschenbacher 1982] abgeleitet). Diese Diskrepanz in der Larvalmortalität könnte mit der Neubesiedlung von *C. oleraceum* zusammenhängen. Es ist nämlich zu erwarten, dass Populationen, die einen neuen Wirt befallen, an diesen schlechter adaptiert sind als an den ursprünglichen Wirt (Brown *et al.* 1995). Obgleich die Daten darauf hindeuten, dass dies bei *T. conura* der Fall sein könnte, bleibt bei einer Beurteilung Vorsicht geboten. Eschenbachers Daten stammen von einem einzigen Standort und aus einem einzigen Jahr und sind daher möglicherweise nicht repräsentativ. Das in der vorliegenden Arbeit durchgeführte Eiablageexperiment lässt ebenfalls keine eindeutige Aussage zu. In 21 der 25 *C. oleraceum*-Blütenköpfe (84%) entwickelten sich nach Eiablageversuchen auch Puppen, doch gibt es keine Informationen

darüber, wie viel Prozent der Eier *innerhalb* eines Blütenkopfes das Puppenstadium nicht erreichten.

5.2.2 Wann fand der Wirtswechsel statt?

Während die Hinweise auf einen Wirtswechsel von *C. heterophyllum* zu *C. oleraceum* eindeutig sind, müssen Rückschlüsse über das Alter des Systems etwas vorsichtiger gezogen werden. Die Tatsache, dass sich die Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen in ihren Haplotypverteilungen unterscheiden, und dass die "abgeleitete" Wirtsrasse eigene exklusive Haplotypen aufweist, macht es unwahrscheinlich, dass der Wirtswechsel in historischer Zeit stattgefunden hat, wie es für andere Wirtsrassensysteme postuliert wird (Bush 1969, Shirai & Morimoto 1999, Groman & Pellmyr 2000). Vielmehr deuten die genetischen Daten darauf hin, dass die Differenzierung der Wirtsrassen zumindest so alt ist wie die letzte Eiszeit.

C. heterophyllum wird sowohl in Schweden, im Fichtel-/Erzgebirge, in den Alpen, als auch in Schottland von *T. conura* befallen, und die Allelfrequenzen der Allozyme waren in all diesen Regionen beinahe identisch. Eine mehrfache, unabhängige Herausbildung der Heterophyllum-Wirtsrasse in diesen geographisch voneinander isolierten Gebieten kann ausgeschlossen werden. Die Heterophyllum-Wirtsrasse muss also bereits existiert haben, als diese Gebiete noch miteinander verbunden gewesen sind, was zuletzt während der vergangenen Eiszeit der Fall gewesen ist. Dass Heterophyllum-Fliegen bereits mindestens eine Eiszeit erlebt haben, lässt sich im Übrigen auch aus den Haplotypverteilungen ableiten. Zum Beispiel sind die beiden russischen Haplotypen H14 und H32 im Heterophyllum-Netzwerk jeweils deutlich von allen anderen Haplotypen getrennt und repräsentieren wohl eigene Linien. Differenzierung in solche Linien findet häufig während der Isolation in eiszeitlichen Refugialgebieten statt (Hewitt 1996, 2000, Taberlet *et al.* 1998). Im Falle von H14 und H32, die aus der östlichsten aller untersuchten Populationen stammen, könnten dies zum Beispiel Refugia im Südosten gewesen sein (Kaukasus, Kaspisches Meer). Im Laufe der postglazialen Ausbreitung kamen dann solche Haplotypen wieder in Kontakt mit Haplotypen aus anderen Refugialgebieten, was die beobachtete Populationsstruktur in Russland erklären würde.

Dies alles gibt jedoch noch keine Auskunft darüber, wann der Wirtswechsel stattgefunden hat, da die Heterophyllum-Wirtsrasse die ursprüngliche zu sein scheint (siehe oben) und der Wirtswechsel auf *C. oleraceum* prinzipiell auch in postglazialer Zeit erfolgt sein könnte. Immerhin ist *C. oleraceum* im Gegensatz zu *C. heterophyllum* kontinuierlich verbreitet. Die Tatsache, dass heutzutage *C. oleraceum* im gesamten Verbreitungsgebiet von Oleraceum-Fliegen befallen wird, ließe sich daher auch mit einem rezenten (d.h. postglazialen), lokalen Wirtswechsel erklären, dem eine rasche Expansion folgte (was die D-

und F_S -Tests nahe legen). Gegen diese Möglichkeit spricht aber das phylogeographische Muster der Oleraceum-Populationen. Während in den meisten geographischen Regionen H1 der bei weitem häufigste Haplotyp gewesen ist und andere Haplotypen nur vereinzelt auftraten, ergab sich in den Alpen ein etwas anderes Bild: Die zwölf analysierten Fliegen wiesen acht verschiedene Haplotypen auf, wobei H1 nur dreimal vorkam. Diese für Oleraceum-Fliegen außerordentlich hohe Variation kann nicht durch die heutige Populationsstruktur erklärt werden. Die untersuchten Alpenpopulationen sind weder isolierter noch kleiner als die anderen Oleraceum-Populationen. Entsprechend muss die hohe Variation der Alpenregion, sowie die niedrige Variation außerhalb, historische Ursachen haben. Am besten kann dieses Muster damit erklärt werden, dass es in der Nähe der Alpenpopulationen ein eiszeitliches Refugium gab, in welchem bereits vorhandene genetische Diversität aufrecht erhalten werden konnte (Gugerli *et al.* 2001, Despres *et al.* 2002). Mit der postglazialen Erwärmung des Klimas kam es dann zu einer rapiden Kolonisierung Europas von diesem Refugium heraus, mit der Folge eines Verlusts an Haplotypen (Hewitt 1999), wie sie bei den Oleraceum-Fliegen zu beobachten ist.

Die Wirtsrassen scheinen sich daher also schon zumindest vor dem Beginn des gegenwärtigen Interglazials herausgebildet zu haben (d.h. vor mindestens 18.000 Jahren [Webb & Bartlein 1992]). Auf der anderen Seite jedoch sind sie immer noch paraphyletisch zueinander und die Differenzierung ist nicht sehr ausgeprägt (die durchschnittliche Nukleotiddifferenz zwischen den Wirtsrassen betrug 0,14%). Dies deutet darauf hin, dass es sich um kein besonders altes System handelt. Geht man von einer durchschnittlichen Evolutionsrate für mtDNA in Insekten von 2,3% je Million Jahre aus (Brower 1994), ergibt sich, dass Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen vor ungefähr 60.000 Jahren begonnen haben zu divergieren. Diese Schätzung muss jedoch sehr vorsichtig interpretiert werden. Sie impliziert, dass das Maß der Differenzierung proportional zur Divergenzzeit ist. Dies ist aber bei *T. conura* nicht der Fall, wenn der heutige Differenzierungsgrad durch Populationskontraktionen und –expansionen während der Kalt- und Warmzeiten beeinflusst wurde. Zum Beispiel könnte der Diversitätsverlust aufgrund einer raschen postglazialen Expansion dazu führen, dass es weniger beobachtbare Differenzierung zwischen den Wirtsrassen gibt, und entsprechend in einer Unterschätzung des Divergenzzeitpunktes resultieren. Auch existierte zu Beginn des Differenzierungsprozesses (abhängig davon, in welchem Maße die Differenzierung in Allopatrie oder Sympatrie stattfand) vermutlich noch mehr oder weniger starker Genfluss, der die Wirtsrassendifferenzierung der mitochondrialen DNA reduzierte.

Ogleich der obige Wert von 60.000 Jahren also nur als grobe Schätzung verstanden werden darf, macht es das phylogeographische Muster und das Maß der Differenzierung sehr wahrscheinlich, dass es sich bei den *T. conura*-Wirtsrassen um ein vergleichsweise junges System handelt, welches vermutlich im Laufe der letzten Eiszeit entstand.

5.2.3 Welche Mechanismen waren für die Artbildung entscheidend?

Im ersten Teil der Diskussion wurde ausführlich dargelegt, dass Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen heutzutage als zwei eigene Arten angesehen werden können. Doch wie evolvierte die reproduktive Isolation zwischen ihnen? Es gibt drei grundsätzliche Möglichkeiten, von denen jedoch keine exklusiv ist: 1) *Die reproduktive Isolation ist ein passives Nebenprodukt von genetischer Drift.* Bei diesem Modell wird normalerweise eine allopatrische Phase vorausgesetzt, während der sich Populationen aufgrund genetischer Drift so weit differenzieren, dass sie bei sekundärem Kontakt prä- und/oder postzygotisch voneinander isoliert sind. 2) *Die reproduktive Isolation ist ein passives Nebenprodukt von natürlicher Selektion.* Bei diesem Modell wird oft ebenfalls eine mehr oder weniger lange allopatrische Phase angenommen, doch kann dieser Prozess auch komplett in Sympatrie ablaufen (Schluter 2001). 3) *Die reproduktive Isolation entsteht direkt aufgrund von natürlicher Selektion.* Bei dieser Variante wird aktiv gegen Genfluss selektiert, weil intermediäre Phänotypen eine geringere Fitness haben und eine Stärkung präzygotischer Barrieren damit adaptiv ist. Dieser Mechanismus kann entsprechend nur in Kontaktzonen wirken und spielt eine wichtige Rolle bei Reinforcement beziehungsweise sympatrischen Artbildungsmodellen.

Von diesen drei grundsätzlichen Möglichkeiten, kann die erste Variante ausgeschlossen werden. Alle identifizierten Isolationsbarrieren sind eindeutig Adaptionen an die entsprechende Wirtspflanze und unterliegen entsprechend natürlicher Selektion. Dies gilt sowohl für die Habitatspräferenzen, die Anpassung des Lebenszyklus an die Phänologie der Wirtspflanze, als auch die Anpassung an die Larvalumgebung. Auch die unterschiedliche Ovipositorlänge ist eine Adaption an die Wirtspflanze und folglich das Ergebnis natürlicher Selektion. Lediglich genetische Inkompatibilitäten bei *T. conura*-Hybriden (falls es sie gibt) könnten gleichermaßen gut mit genetischer Drift und natürlicher Selektion erklärt werden (Coyne & Orr 2004).

Insgesamt lässt sich das Differenzierungsmuster bei *T. conura* also nur im Sinne einer "ökologischen Artbildung" (*in sensu* Schluter 2001) verstehen, bei der reproduktive Isolation die Folge divergenter (einschließlich disruptiver) Selektion auf Merkmale in verschiedenen Umwelten ist. Die entscheidende Frage ist, ob die reproduktive Isolation nur als Nebenprodukt entsteht (Möglichkeit 2) oder Folge direkter Selektion ist (Möglichkeit 3). Letzteres könnte dann der Fall sein, wenn die falsche Wirtswahl und/oder Hybridpaarungen bei *T. conura* darin resultierten, dass die Fliegen eine geringere Fitness aufweisen. Dann könnte Selektion jene Merkmale fördern, die Hybridisierung und falsche Eiablage verhindern (wie z.B. Habitats- oder Partnerpräferenzen) - das heißt, Selektion würde direkt reproduktive Isolation fördern, weil dies adaptiv wäre.

Ein solches Muster könnte auf der einen Seite zu beobachten sein, wenn zwei Taxa, die noch nicht komplett reproduktiv voneinander isoliert sind, nach einer allopatrischen Phase

sekundär miteinander in Kontakt kommen (dann spricht man von Reinforcement [siehe z.B. Howard 1993, Noor 1999]). Alternativ ist ein solches Muster aber auch unter sympatrischen Artbildungsmodellen zu erwarten (Schluter 2001). In jedem Fall ist eine Grundvoraussetzung, dass Hybridisierung und/oder Eiablage in die falsche Wirtspflanze in geringerer Fitness resultieren. Ersteres ist bei *T. conura* zumindest sehr wahrscheinlich, letzteres konnte in dem Eiablageexperiment eindeutig nachgewiesen werden.

Um zu testen, ob es Hinweise auf direkte Selektion von reproduktiver Isolation bei *T. conura* gibt, wurden in der vorliegenden Arbeit allopatrische Gebiete mit Kontaktzonen (Sympatrie/Parapatric) verglichen. Falls Merkmale, die Hybridisierung und Eiablage in die falsche Wirtspflanze verhindern, in den Kontaktzonen ausgeprägter wären als in Allopatric, würde dies auf direkte Selektion und damit Reinforcement oder sympatrische Artbildung hindeuten. Dieser Ansatz erwies sich aber aus mehreren Gründen als nur begrenzt aussagefähig. Zum einen deuten alle Ergebnisse darauf hin, dass der Genfluss zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen heutzutage bereits so weit eingeschränkt ist, dass sie als eigene Arten bezeichnet werden können. Die massive wirtsspezifische Differenzierung wurde in allen untersuchten geographischen Regionen und unabhängig vom Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen gefunden. Dementsprechend kann auch aus dem heutigen Differenzierungsgrad nicht mehr abgeleitet werden, ob direkte Selektion eine wichtige Rolle während der eigentlichen Differenzierungsphase der Wirtsrassen gespielt hat. Dazu kommt noch, dass die DNA-Daten darauf hinweisen, dass die Wirtsrassenbildung vor der letzten Eiszeit erfolgte. Entsprechend spiegelt die heutige Verbreitung der Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen die Wiederbesiedlung Europas nach der letzten Kaltzeit wieder, das heißt es handelt sich in den Kontaktzonen um sekundären Kontakt. Hinweise in diesen Gebieten auf direkte Selektion müssten also im Sinne eines Reinforcement-Prozesses interpretiert werden und könnten nicht Beleg sympatrischer Artbildungsprozesse sein.

Obgleich über die eigentliche Differenzierungsphase der Wirtsrassen also keine Aussage getroffen werden kann, besteht aber doch die Möglichkeit, dass der Vergleich von Kontaktzonen mit allopatrischen Gebieten Hinweise liefern könnte, ob zumindest in der abschließenden Artbildungsphase direkte Selektion bei *T. conura* eine Rolle spielt. Eine mögliche Stärkung präzygotischer Isolation in Kontaktzonen sollte ursprünglich durch den Vergleich von Wirts- und Partnerpräferenzen von Fliegen aus Sympatrie, Parapatric und Allopatric untersucht werden. Diese Versuche konnten leider nicht durchgeführt werden, da aufgrund der Schwierigkeiten bei der Hälterung keine Fliegen aus allen Verbreitungsmustern der Pflanzen zur Verfügung standen.

Es konnten daher lediglich indirekte Marker miteinander verglichen werden, die *eventuell* mit präzygotischer Isolation in Zusammenhang stehen. Zu Beginn der Arbeit wurde

noch die Flügellänge als ein solcher Marker eingeordnet. In zahlreichen Studien wurde nachgewiesen, dass Größenunterschiede bei Insekten in assortativen Paarungen resultieren können (z.B. Brown 1993, Arnquist *et al.* 1995, Eber *et al.* 1999). Da Komma (1990) signifikante Flügellängenunterschiede zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen gefunden hatte, bestand die Möglichkeit, dass sich dies auf Partnerpräferenzen auswirken könnte. Entsprechend hätte direkte Selektion gegen Genfluss sich in größeren Flügellängenunterschieden in Kontaktgebieten manifestieren können. Allerdings zeigte sich im Laufe der Arbeit, dass generell keine deutlichen Unterschiede in der Flügelgröße zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen existieren, sodass dieses Merkmal offensichtlich auch nicht als Ansatzpunkt direkter Selektion in Frage kommt. Davon abgesehen ergaben die Präferenzversuche, dass direkte Partnerpräferenzen bei *T. conura* nicht zu existieren scheinen, sondern als ein reines Nebenprodukt von Habitatpräferenz und allochroner Isolation entstehen.

Ein anderer Marker, der mit präzygotischer Isolation indirekt in Zusammenhang stehen könnte, stellten die Allozyme dar. Der höchst unterschiedliche Grad an Differenzierung zwischen den einzelnen Loci weist nämlich darauf hin, dass die Loci Hexokinase und Peptidase D unter Selektion stehen, oder zumindest mit solchen Loci eng gekoppelt sind (siehe Kapitel 5.1.1). Letzteres konnten Feder *et al.* (1993, 1997) bei Wirtsrassen von *Rhagoletis pomonella* nachweisen. Die Frequenzen bestimmter Allele korrelierten dort stark mit dem Schlüpfdatum der Puppen, was sich auf die Wirtswahl auswirkt und dadurch eine präzygotische Barriere darstellt. Könnte ähnliches auch für *T. conura* gelten, wo allochrone Isolation ebenfalls eine wichtige Rolle bei der reproduktiven Isolation spielt? Dann sollten während der Eiablageperiode die Heterophyllum-Allele kontinuierlich abnehmen, beziehungsweise die Oleraceum-Allele allmählich zunehmen. Einen solchen Zusammenhang konnte aber weder Komma (1990) für die Hexokinase finden, noch gab es in der vorliegenden Arbeit einen erkennbaren Zusammenhang zwischen Schlüpfdatum einerseits und Allelfrequenzen der Loci Hexokinase und Peptidase D andererseits. Es besteht aber die Möglichkeit, dass die Loci trotzdem ein Maß für präzygotische Isolation darstellen. Sie könnten in irgendeiner Form mit der Habitatswahl gekoppelt sein. Dann würde sich eventuell eine direkte Selektion auf reproduktive Isolation (via Stärkung der Habitatswahl) in den Allozymmarkern widerspiegeln.

Tatsächlich waren bei der Hexokinase die Unterschiede zwischen den Wirtsrassen in der Kontaktzone signifikant größer als jene zu den allopatrischen Populationen. Dies spiegelte sich auch in der hierarchischen F-Statistik wider, wo der Differenzierungsgrad zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen sowohl in Südschweden (Sympatrie) als auch im Fichtelgebirge (Parapatric) größer war als in Allopatric – wenngleich dieser Unterschied sehr gering war. Dieses Muster entspricht genau jenem, welches bei einem Reinforcement-Prozess zu erwarten wäre.

Dagegen gab es bei der Peptidase D keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den Regionen. Eine mögliche Erklärung wäre, dass die Hexokinase mit einem Merkmal gekoppelt ist, welches präzygotische Isolation bedingt, während der Locus Peptidase D, direkt oder indirekt, in irgendeiner Form mit der Adaptation der Fliegen an die jeweilige Wirtspflanze zu tun hat und daher unabhängig vom Verbreitungsmuster differenziert ist. Die Ergebnisse der Tests auf Kopplungsungleichgewicht zeigten zumindest, dass die Allele der Hexokinase und der Peptidase D voneinander unabhängig vererbt werden, sodass ein solches Szenario durchaus vorstellbar wäre.

Allerdings müssen auch alternative Erklärungen bedacht werden. Die stärkere Differenzierung am Locus *Hex* in Kontaktzonen muss nicht notwendigerweise das Produkt direkter Selektion sein, sondern könnte beispielsweise auch auf stochastische Prozesse zurückzuführen sein. So könnte das gefundene Hexokinase-Muster reiner Zufall sein. Bei der Peptidase D sind die Populationen zum Beispiel in den Kontaktzonen weniger stark differenziert als im Vergleich zu allopatrischen Gebieten. Dieser Unterschied ist im Gegensatz zur Hexokinase zwar nicht signifikant, doch besteht zumindest eine starke Tendenz ($p = 0,09$). Untersucht man genügend Loci, würde sich immer einer finden, bei dem ein Muster auftritt, das im Sinne von Reinforcement interpretiert werden kann.

Eine andere Möglichkeit, das Hexokinase-Muster zu erklären, liegt in der Populationsgröße der parapatrischen *Heterophyllum*-Populationen begründet. Im Fichtelgebirge war die wirtsspezifische Differenzierung mit Abstand am größten (was stark zu dem scheinbaren Reinforcement-Muster beiträgt) und dies liegt vor allem an den *Heterophyllum*-Populationen, bei denen das Allel *Hex100* näher an der Fixierung liegt als in jeder anderen Region. Das Fichtelgebirge stellt eine verhältnismäßig kleine Reliktzone für *C. heterophyllum* dar, sodass die effektive Populationsgröße von *T. conura* deutlich kleiner ist als in den Hauptverbreitungsgebieten. Entsprechend stärker kann genetische Drift wirken (Futuyma 1998), was in der beobachteten stärkeren Differenzierung resultieren könnte.

Schließlich gibt es auch noch die Möglichkeit, dass das beobachtete Muster zwar tatsächlich das Ergebnis von Selektion gegen falsche Eiablagen und/oder Hybridisierung darstellt, dies aber nicht mehr direkt mit dem Artbildungsprozess zusammenhängt. Dies wäre der Fall, wenn die postzygotische Isolation bereits absolut wäre. Es käme dann zu keinerlei Genfluss mehr, sodass der Artbildungsprozess als solcher bereits abgeschlossen wäre. Trotzdem würde Selektion eine Stärkung der präzygotischen Barriere forcieren, da dies adaptiv wäre (Butlin 1987). Die bisherigen Ergebnisse zeigen zwar, dass eine solche absolute postzygotische Isolation bei *T. conura* noch nicht existiert, doch scheint die extrinsische Isolation zumindest sehr stark zu sein (von 24 Eiablageversuchen schlüpfte nur ein einziges *Heterophyllum*-Gelege auf *C. oleraceum*). Dementsprechend müsste das gefundene Muster vor allem als Selektion gegen falsche Eiablagen interpretiert werden,

während der sich potentiell daraus ergebende Genfluss nur eine untergeordnete Rolle spielen würde.

Zusammengefasst ergibt sich daraus, dass i.) divergente Selektion im Gegensatz zu genetischer Drift beim Differenzierungsprozess von *T. conura* eindeutig eine wichtige Rolle gespielt hat, ii.) direkte Selektion möglicherweise einen Beitrag zur Vollendung der reproduktiven Isolation in Kontaktzonen leistet, iii.) aber aufgrund des heutigen sekundären Verbreitungsmusters und dem hohen Maße an reproduktiver Isolation keine Aussagen darüber getroffen werden können, ob direkte Selektion ein (wichtiger) Faktor während der hauptsächlichlichen Differenzierungsphase darstellte.

5.2.4 Was war der geographische Modus der Artbildung?

Der Nachweis starker direkter Selektion wäre ein deutlicher Hinweis darauf gewesen, dass zumindest ab einer bestimmten Differenzierungsphase die Artbildung bei *T. conura* sympatrischer Natur gewesen ist. Doch selbst wenn während der gesamten Wirtsrassenbildung dieser Mechanismus keine Rolle gespielt haben sollte (worüber, wie oben erwähnt, keine Aussagen gemacht werden können), schließt dies keinesfalls die Möglichkeit sympatrischer Artbildung aus. Reinforcement-Prozesse leisten zwar möglicherweise oft einen wichtigen Beitrag zur Vollendung von Artbildung in Sympatrie (Dres & Mallet 2002), doch beschränken sich die meisten Modelle zur sympatrischen Artbildung auf die Selektion gegen intermediäre Phänotypen (disruptive Selektion), ohne dass dies zu einer *direkten* Selektion von reproduktiver Isolation führt (z.B. Kawecki 1996, 1997, Dieckmann & Doebeli 1999, Kondrashov & Kondrashov 1999, Fry 2003).

Wie wahrscheinlich ist es, dass bei *T. conura* divergente oder disruptive Selektion die Differenzierung der Wirtsrassen in Sympatrie ermöglichte? Prinzipiell weist *T. conura* gute Voraussetzungen für sympatrische Artbildung auf: Zunächst einmal resultieren aus der Habitatswahl als pleiotropisches Nebenprodukt assortative Paarungen, da sich die Fliegen zur Paarung auf ihren Wirtspflanzen treffen und der Paarungsort entsprechend durch die Habitatpräferenz bestimmt wird. Dies entkräftet einen der wesentlichen Einwände, die gegen sympatrische Artbildung erhoben werden, den Selektions-Rekombinations-Antagonismus. Selbst wenn nämlich disruptive Selektion für ein bestimmtes Merkmal zu einer bimodalen Verteilung der Phänotypen innerhalb einer Population führt, muss es doch zusätzlich noch assortative Paarungen geben, um diese bimodale Verteilungsform zu erhalten und eine weitere Differenzierung zu ermöglichen. Das Problem ist, dass selbst wenn ein Merkmal evolviert, das assortative Paarungen bedingt, Rekombination während der Meiose in den meisten Fällen die für eine Differenzierung notwendige Kopplung der beiden Loci wieder zerstört, auch wenn Selektion diese Kopplung begünstigt (Felsenstein 1981).

Dieses Problem existiert bei *T. conura* nicht, was in der Theorie eine sympatrische Artbildung wesentlich wahrscheinlicher macht (Rice & Hostert 1993). Im einfachsten Fall müsste es nur zu einer Mutation kommen, die einen Wechsel der Wirtspräferenzen bedingt, um den Differenzierungsprozess zu initiieren (Bush 1969, 1975). Resultieren daraus Eiablagen in die neue Wirtspflanze, und entwickelt sich zumindest ein Teil der Eier zu Adulten, die die veränderte Wirtspräferenz geerbt haben, ergeben sich daraus als Nebenprodukt assortative Paarungen, die den Genfluss bereits stark einschränken können. Anpassungen an die Wirtspflanze (z.B. an die Phänologie oder die physiologischen Verhältnisse im Blütenkopf) könnten dann aufgrund starker natürlicher Selektion relativ schnell folgen und den Genfluss weiter einschränken (Dres & Mallet 2002).

Ein solches Szenario wäre bei *T. conura* prinzipiell durchaus vorstellbar. Es existieren genetisch determinierte Wirtspräferenzen, die aufgrund der daraus resultierenden assortativen Paarungen den Genfluss einschränken. Es existieren Anpassungen an die Phänologie der Wirtspflanze, die sich parallel oder als unmittelbare Folge zur Wirtspräferenz herausgebildet haben könnten und die reproduktive Isolation weiter verstärken. Außerdem deuten die Eiablageexperimente auf genetische "Trade-offs" hin, das heißt, Fliegen überleben auf ihrer Wirtspflanze besser als auf der Alternativwirtspflanze. Dies ist für die Annahme einer sympatrischen Artbildung wichtig, denn wäre dies nicht der Fall und die Fliegen könnten sich in beiden Wirtspflanzen gleichermaßen gut entwickeln, gäbe es keine Selektion gegen intermediäre Phänotypen und eine Differenzierung würde verhindert (Filchak *et al.* 2000, Via 2001). Schließlich ist auch noch das relativ junge Alter des Systems, wie es die DNA-Daten anzeigen, in Übereinstimmung mit den Erwartungen sympatrischer Artbildungsmodelle, bei denen der Differenzierungsprozess meist in relativ kurzer Zeit abläuft (z.B. Rice 1984, Dieckmann & Doebeli 1999, Kondrashov & Kondrashov 1999).

Obgleich das *T. conura*-System also eine Reihe von Eigenschaften aufweist, die eine sympatrische Artbildung prinzipiell plausibel erscheinen lassen, heißt dies aber natürlich nicht, dass der Differenzierungsprozess tatsächlich auch in Sympatrie stattgefunden hat, oder mit Vias (2001, S. 385) Worten: "it is usually easier to document that an evolutionary process could have occurred than it is to conclusively show that it is the only possible explanation". Diese Aussage gilt in besonderem Maße für sympatrische Artbildung. Coyne und Orr (2004) weisen darauf hin, dass beinahe niemals eine allopatrische Phase ausgeschlossen werden kann. Der einzig wirklich eindeutige Fall von sympatrischer Artbildung via Wirtsrassen wäre die Beobachtung eines sympatrischen Wirtswechsels in historischen Zeiten und die darauf folgende Differenzierung in zwei vollständig getrennte Arten (Berlocher & Feder 2002). Solch ein System ist aber bislang nicht beschrieben worden (bei *Rhagoletis pomonella* und der Motte *Prodoxus quinquepunctellus* sind zwar historische Wirtswechsel nachgewiesen (Walsh 1867) bzw. wahrscheinlich (Groman & Pellmyr 2000), der Artbildungsprozess ist jedoch noch lange nicht abgeschlossen).

Bei dem *T. conura*-System ist es besonders schwierig, allopatrische Phasen während der Wirtsrassendifferenzierung auszuschließen. Die genetischen Daten deuten darauf hin, dass die heutigen Verbreitungsmuster sekundären Kontakt aufgrund postglazialer Rekolonisierungen widerspiegeln und die Differenzierung der Wirtsrassen vermutlich schon davor äußerst stark war. Vor und während der letzten Kaltzeit, als die Wirtsrassen wahrscheinlich hauptsächlich evolvierten, kam es zu zahlreichen massiven Klimaoszillationen (Dansgaard *et al.* 1993, GRIP Members 1993). Dies resultierte in entsprechenden Kontraktionen und Expansionen der Verbreitungsgebiete vieler Pflanzen und Tiere (Hewitt 1996). Für die Wirtsrassenbildung bei *T. conura* bedeutet dies, dass es im Laufe dieser Zeit zu einer Reihe verschiedenster geographischer Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen (und damit der Fliegen) gekommen sein kann. Entsprechend schwierig ist es, Aussagen darüber zu treffen, welche Bedingungen während der hauptsächlichsten Differenzierungsphase herrschten.

Sicherlich muss der eigentliche Wirtswechsel, vermutlich von *C. heterophyllum* auf *C. oleraceum*, zunächst unter sympatrischen oder zumindest parapatrischen Bedingungen stattgefunden haben – schließlich muss für die Besiedlung einer neuen Wirtspflanze die ursprüngliche Wirtspflanze zumindest in räumlicher Nähe vorkommen. Doch heißt dies nicht, dass auch die eigentliche Differenzierung unter diesen Umständen erfolgte. Zumindest Hinweise auf die Region, wo die Differenzierung stattgefunden haben könnte, und auf den geographischen Modus, können aber die phylogeographischen Analysen der DNA-Daten liefern. Wie bereits in Kapitel 5.2.2 diskutiert, weisen die Oleraceum-Populationen aus den Alpen eine (für Oleraceum-Populationen) ungewöhnlich hohe genetische Diversität auf, die darauf hindeutet, dass in dieser Region (oder in der Nähe) ein glaziales Rückzugsgebiet von *C. oleraceum* existierte, von dem dann später die Rekolonisierung Europas ausging. Es ist daher nicht unwahrscheinlich, dass diese Region eine zentrale Rolle bei der Wirtsrassendifferenzierung spielte und auch der ursprüngliche Wirtswechsel auf *C. oleraceum* dort stattfand, obgleich natürlich aufgrund der oben angesprochenen Kontraktionen und Expansionen auch Alternativszenarien vorstellbar sind.

In jedem Fall deuten die Verteilungsmuster der Haplotypen daraufhin, dass es sich bei der Differenzierung der Wirtsrassen um ein relativ lokales Ereignis handelte. Wäre dem Wirtswechsel auf *C. oleraceum* zunächst eine Expansion der Oleraceum-Fliegen über ein großes geographisches Gebiet gefolgt, in dem *C. oleraceum* und *C. heterophyllum* sympatrisch vorkamen, und erst dann wären die Genflussbarrieren zwischen Oleraceum- und Heterophyllum-Fliegen im Rahmen sympatrischer Artbildung komplettiert worden, so müssten heute bei den Oleraceum-Fliegen aufgrund früherer Introgression auch viele Heterophyllum-Haplotypen zu finden sein. Dies ist aber nicht der Fall. Oleraceum-Fliegen teilen sich mit Heterophyllum-Fliegen im Wesentlichen nur den Haplotypen H1. Dieser Haplotyp kommt mit einer hohen Frequenz bei den Heterophyllum-Fliegen aus den Alpen

vor, was das Szenario eines lokal begrenzten Wirtswechsels von Heterophyllum-Fliegen auf *C. oleraceum* in diesem Gebiet unterstützt.

Dabei sind prinzipiell zwei Möglichkeiten denkbar: Die Differenzierung könnte lokal in Sympatrie stattgefunden haben, das heißt trotz anhaltenden Genflusses, oder sie war in irgendeiner Form allopatrisch, das heißt während der Differenzierung verhinderte eine räumliche Trennung den genetischen Austausch zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen. Im zweiten Fall wäre eine peripatrische Variante nicht unwahrscheinlich, bei der eine relativ kleine Oleraceum-Population (z.B. wegen Veränderungen in der Wirtspflanzenverbreitung) von den ursprünglichen Heterophyllum-Populationen geographisch getrennt wurde und sich dann aufgrund starker divergenter Selektion so weit differenzierte, dass bei späterem sekundärem Kontakt als Nebenprodukt bereits weitgehende reproduktive Isolation zwischen den Wirtsrassen die Folge war. Die niedrigere Haplotypdiversität der Oleraceum-Fliegen im Vergleich zu der totalen Heterophyllum-Population, wie sie in der vorliegenden Arbeit gefunden wurde, unterstützt beide Szenarien gleichermaßen, da eine lokale Differenzierung sowohl in Sympatrie als auch in Peripatrie dieses Muster hervorbringen würde (Harrison 1991).

Dabei deutet die Haplotypverteilung in den Alpen eher auf die peripatrische Variante hin. Bei einer sympatrischen Differenzierung wäre nämlich zu erwarten, dass sich die Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen aus den Alpen in ihrer Haplotypzusammensetzung nicht (oder kaum) unterscheiden sollten, da solange der Genfluss noch nicht komplett unterbunden ist, eine Vermischung der Haplotypen die Folge sein sollte (Berlocher & Feder 2002). Tatsächlich jedoch wurde bei den Heterophyllum-Fliegen aus den Alpen (bis auf H1) kein einziger Haplotyp gefunden, der bei den entsprechenden Oleraceum-Populationen auftrat. Natürlich besteht theoretisch die Möglichkeit, dass diese Haplotypen alle evolvierten, *nachdem* die reproduktive Trennung bereits Introgressionereignisse äußerst selten werden ließ. Dann hatten möglicherweise während des Differenzierungsprozesses fast alle Fliegen in dieser Region den Haplotypen H1 (der bei Heterophyllum-Fliegen dort heute noch sehr dominant ist) und Introgressionereignisse aufgrund sympatrischer Artbildung hätten entsprechend keine Auswirkungen auf das Haplotypmuster gehabt. Doch müssen solche zusätzlichen Annahmen bei einem peripatrischen Szenario nicht gemacht werden, sodass es plausibler scheint, dass sich die Oleraceum-Fliegen in einem verhältnismäßig kleinen Gebiet allopatrisch differenzierten und beim sekundären Kontakt mit Heterophyllum-Populationen bereits weitgehend reproduktiv voneinander isoliert waren.

Ogleich die vorliegenden Daten dieses Szenario am besten unterstützen, bleibt es aber doch sehr spekulativ und Alternativszenarien sind prinzipiell nicht auszuschließen. Auch können während der Differenzierung der *T. conura*-Wirtsrassen in verschiedenen Phasen

durchaus verschiedene geographische Verbreitungsmuster eine Rolle gespielt haben. Feder *et al.* (2003) fanden zum Beispiel, dass selbst bei dem klassischen Beispiel für sympatrische Wirtsrassenbildung, *Rhagoletis pomonella*, die genetischen Voraussetzungen vermutlich in Allopatrie entstanden. Die wahrscheinliche Entwicklung der *T. conura*-Wirtsrassen während der letzten Eiszeit(en) brachte vermutlich eine Vielzahl von Kombinationen verschiedenster Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen mit sich. Während des Artbildungsprozesses könnten daher sowohl allopatrische als auch sympatrische, aber auch parapatrische Phasen die Differenzierung beeinflusst haben. Wenn sich das *T. conura*-System tatsächlich in einem solch komplexen Zusammenspiel verschiedenster geographischer Muster entwickelte, kann dies mit Hilfe der verhältnismäßig wenig differenzierten mtDNA unmöglich aufgelöst werden. Entsprechend vorsichtig sollten die obigen Schlussfolgerungen zur möglicherweise peripatrischen Entwicklung der Wirtsrassen gesehen werden.

5.2.5 Welche Bedingungen ermöglichten den Wirtswechsel?

In der Literatur wird immer wieder darauf hingewiesen, dass Wirtswechsel bei phytophagen Insekten in einem beträchtlichen Maße zur heutigen Artendiversität beigetragen haben könnten (z.B. Via 1990, Abrahamson *et al.* 2001, Berlocher & Feder 2002). Dennoch handelt es sich bei erfolgreichen Wirtswechseln, die in der Entwicklung neuer Wirtsrassen oder Arten resultieren, um vergleichsweise seltene Ereignisse. Bei *T. conura* beispielsweise wurden im Laufe dieser Arbeit zahlreiche Standorte gefunden, wo trotz fehlender räumlicher Trennung eine Wirtspflanze massiv befallen war, während bei der Alternativwirtspflanze keinerlei Parasitierung durch *T. conura* nachgewiesen werden konnte. Fehlbelegungen scheinen also keineswegs häufige Ereignisse zu sein und die Wahrscheinlichkeit, dass sich in Folge solcher Fehlbelegungen tatsächlich auch Populationen auf der Alternativart etablieren und schließlich bis zu eigenen Wirtsrassen oder gar Arten differenzieren, ist noch viel geringer. Doch welche Bedingungen ermöglichten, dass genau dies bei *T. conura* durch den Wirtswechsel von *C. heterophyllum* auf *C. oleraceum* geschah?

In verbalen Artbildungsmodellen wird oft spekuliert, dass für einen erfolgreichen Wirtswechsel möglicherweise nur ein Wechsel der Wirtspräferenzen nötig sei (z.B. Craig *et al.* 1993, Dres & Mallet 2002). Physiologische Anpassungen an die neue Wirtspflanze seien bei nahe verwandten Wirten dagegen eventuell kaum oder gar nicht nötig (Craig *et al.* 1993). Tatsächlich konnte schon in einer Reihe von Studien nachgewiesen werden, dass Insekten auch auf Wirten, die von ihnen nicht parasitiert werden, sehr gut überleben können (Fox & Lalonde 1993, Gratton & Welter 1998, Ballabeni & Rahier 2000). Dies gilt jedoch nicht für *T. conura*. Die Eiablageexperimente zeigten, dass aus Eiablagen von Heterophyllum-Fliegen auf *C. oleraceum* kaum F1-Fliegen resultierten. Offenbar stellen die Blütenköpfe von *C. oleraceum* für die Heterophyllum-Larven eine Umgebung dar, für die sie in der Regel nur

sehr unzureichend angepasst sind. Für den vermuteten Wirtswechsel von *C. heterophyllum* auf *C. oleraceum* bedeutet dies, dass Heterophyllum-Fliegen, die – aus welchen Gründen auch immer - ihre Eier auf *C. oleraceum* ablegten, kaum Nachkommen produzierten und entsprechend eine deutlich niedrigere Fitness aufwiesen als jene Fliegen, die auf ihrer ursprünglichen Wirtspflanze *C. heterophyllum* verblieben. Sollte gegen ein solches Eiablageverhalten daher nicht natürliche Selektion wirken?

Eine Möglichkeit ist, dass andere Faktoren den Fitnessnachteil der mangelnden physiologischen Adaptation soweit ausgleichen, dass Eiablagen in *C. oleraceum*-Blütenköpfe trotzdem adaptiv sind. Ein wichtiges Konzept in diesem Zusammenhang ist jenes vom "Enemy-Free Space" (Gilbert & Singer 1975). Die neue Wirtspflanze könnte einen Lebensraum darstellen, in dem das Maß an Parasitierung und interspezifischer Konkurrenz viel geringer als in der ursprünglichen Wirtspflanze ist, sodass ein Wirtswechsel begünstigt wird. Tatsächlich ist die Parasitierungsrate bei einem neuen Wirt häufig deutlich niedriger als bei dem bisherigen (Price *et al.* 1980) und bei verschiedenen Tephritiden-Arten wurden bereits Hinweise gefunden, dass Parasitierung und interspezifische Konkurrenz eine wichtige Rolle bei dem Wirtswechsel gespielt haben könnten (Brown *et al.* 1995, Feder 1995, Feder *et al.* 1995).

Der Vergleich der Parasitierungsraten von Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen aus dem Fichtelgebirge lässt allerdings keine derartigen Schlussfolgerungen zu: In beiden Wirtspflanzen liegt die Larvenmortalität aufgrund von Parasitierung und intraspezifischer Konkurrenz bei ungefähr 30 Prozent (Eschenbacher 1982, Romstöck-Völkl 1990). Zur Parasitierung tragen dabei vor allem Erzwespen (*Eurytoma* sp. nahe *tibialis*, *Pteromalus caudiger* bei Heterophyllum-Fliegen, *Pteromalus ?albipennis*, *Crataepiella* sp. bei Oleraceum-Fliegen) und teilweise auch Kleinschmetterlinge (*Eucosma cana*, *Aethes rubigana*) bei, wobei letztere vor allem interspezifische Konkurrenten um die Blütenkopffressourcen darstellen (Eschenbacher 1982, Romstöck-Völkl 1990). Die Tatsache, dass sich heutzutage im Fichtelgebirge keine deutlichen Unterschiede im Maß der Parasitierung finden lassen, heißt allerdings nicht, dass es zum Zeitpunkt des Wirtswechsels keine gab. Es ist möglich, dass *C. oleraceum* für die Heterophyllum-Fliegen ursprünglich einen mehr oder weniger feindfreien Raum darstellte und die Parasitierungsrate, als Reaktion der Parasitoiden auf die neu etablierten Oleraceum-Populationen, im Laufe der Zeit den heutigen Stand erreichte (Keese 1997). Alternativ wäre auch vorstellbar, dass die Parasitierungsrate regional stark unterschiedlich war und der Wirtswechsel in einer kaum parasitierten Region stattfand. Heterophyllum-Fliegen werden zum Beispiel heute in Schottland beinahe überhaupt nicht parasitiert (die Mortalitätsrate liegt bei 2-5% [Romstöck & Arnold 1987]). Obwohl also nicht ausgeschlossen werden kann, dass der Wirtswechsel zu *C. oleraceum* durch eine geringere Parasitierungsrate begünstigt wurde, sprechen aber die

Ergebnisse der ökologischen Untersuchungen von Eschenbacher (1982) und Romstöck-Völkl (1990) nicht dafür.

Ein anderer Faktor, der möglicherweise die fehlende Adaptation bei einem Wirtswechsel zu *C. oleraceum* hätte ausgleichen können, stellt die innerartliche Konkurrenz dar. Eine Reihe von Studien konnte bislang nachweisen, dass solche Konkurrenz bei Tephritiden-Larven eine Rolle spielt (Averill & Prokopy 1987, Craig *et al.* 1990, Dukas *et al.* 2001) und dadurch Wirtswechsel erleichtert worden sein könnten (Feder *et al.* 1995, Craig *et al.* 2000). Doch wiederum gibt es keinerlei Anzeichen dafür, dass dies für die Entwicklung des *T. conura*-Systems wichtig gewesen sein könnte. Romstöck-Völkl (1990) wies nach, dass es bei normalen Dichteverhältnissen beinahe nie zu einer Konkurrenz der *T. conura*-Larven in den Blütenköpfen von *C. heterophyllum* kommt. Auch die adulten Weibchen zeigten nur bei extrem hohen Dichten, die künstlich im Labor erzeugt wurden, Anzeichen von dichteabhängigem Verhalten. Sie legten, wenn sehr viele Weibchen vorhanden waren, weniger effizient ab, und mieden extrem überbelegte Blütenköpfe (Romstöck-Völkl 1990). Unter normalen Freilandbedingungen jedoch gibt es keine Konkurrenzsituation, weder zwischen den adulten Weibchen, noch zwischen den Larven, die einen Wechsel auf *C. oleraceum* adaptiv erscheinen ließe.

Insgesamt spricht also wenig dafür, dass bei der Besiedlung von *C. oleraceum* durch Heterophyllum-Fliegen die fehlende physiologische Adaptation durch andere Vorteile ausgeglichen wurde und dadurch die Etablierung einer Oleraceum-Population trotz Anwesenheit eines besseren Wirtes möglich wurde. Es bieten sich aber zwei Szenarien zur Erklärung der Wirtsrassenbildung an, die dieses Problem abschwächen oder umgehen: 1) der Wirtswechsel erfolgte über einen Zwischenschritt (Hybride) oder 2) die mangelnde Verfügbarkeit der ursprünglichen Wirtspflanze ließ den Wechsel zu *C. oleraceum* adaptiv werden, das heißt, der Wechsel ist mehr oder weniger auf eine räumliche Komponente zurückzuführen.

Das Hybridszenario basiert auf der "Hybrid Bridge Hypothesis" von Floate und Whitham (1993). Wenn Hybridformen (sowohl einfache F1-Hybride als auch Rückkreuzungen) zwischen einem bereits genutzten Wirt und einem neuen Wirt existieren, können phytophage Insekten möglicherweise über diese Zwischenformen den bislang ungenutzten Wirt kolonisieren. Dieser Hypothese liegt die Annahme zugrunde, dass es sich bei den Hybriden nicht nur um genotypische, sondern auch um phänotypische Zwischenformen der Parentalarten handelt. Dies ist nicht notwendigerweise der Fall. Zum einen könnten Merkmale, die eine Besiedlung durch den Parasiten bedingen (d.h. sich auf Wirtspräferenz und Überlebenswahrscheinlichkeit auswirken) nicht additiv, sondern dominant sein, sodass die Hybride bezüglich dieser Merkmale eher der einen Parentalart als der anderen gleichen (Fritz *et al.* 1996, Fritz 1999). Zum anderen können Hybride sich aber auch von beiden

Parentalarten in manchen Merkmalen völlig unterscheiden (z.B. können sie Sekundärstoffe produzieren, die in keiner der Parentalarten vorkommen [Rieseberg & Ellstrand 1993, Weber *et al.* 1994]), und für den Parasiten damit eher eine ganz eigene Umwelt als eine Brücke zwischen den Parentalarten darstellen (Pilson 1999).

Bei den Hybriden zwischen *C. heterophyllum* und *C. oleraceum*, die im Erzgebirge gefunden wurden, konnte bislang nicht genau quantifiziert werden, inwieweit die für *T. conura* entscheidenden Merkmale intermediär ausgeprägt sind (dazu müssten spezifische Wirtspräferenzversuche durchgeführt, sowie das Maß der postzygotischen Isolation ermittelt werden). Die Hybride werden jedoch sowohl von Heterophyllum- als auch von Oleraceum-Fliegen zur Eiablage genutzt und beide Wirtsrassen bringen auch zahlreiche Nachkommen hervor. Bedenkt man außerdem, dass die Hybridpflanzen auch bezüglich der Phänologie zwischen den Parentalarten liegen, so ist es nicht unwahrscheinlich, dass ein Wirtswechsel von *C. heterophyllum* zu *C. oleraceum* durch Hybride *theoretisch* wesentlich erleichtert werden könnte.

Die Frage ist aber, ob dazu ausreichend Gelegenheit gewesen ist. Es wurde im Laufe dieser Arbeit trotz intensiver Suche nur ein einziger Hybridstandort gefunden (mit nur wenigen Hybridpflanzen), sodass davon ausgegangen werden kann, dass Hybride zwischen *C. heterophyllum* und *C. oleraceum* nur äußerst selten gebildet werden. Zudem ist unbekannt, wie lange solche Hybridstandorte überhaupt bestehen können. Es scheint eher unwahrscheinlich, dass in den seltenen Fällen von Hybridisierung eine Hybridpflanzenpopulation (so fern man bei den vermutlich wenigen Hybriden überhaupt von einer Population sprechen kann) so lange existiert, dass darüber bereits eine Etablierung einer Oleraceum-Population erfolgen kann.

Alternativ könnte vielleicht eher die mangelnde Verfügbarkeit des ursprünglichen Wirtes, *C. heterophyllum*, der entscheidende Faktor für den Wirtswechsel und die darauf folgende Differenzierung gewesen sein. Über die relative Häufigkeit von alten und neuen Wirten zum Zeitpunkt eines Wirtswechsels ist wenig bekannt (Pilson 1999), doch prinzipiell kann die Häufigkeit der Wirtspflanze maßgeblich das Eiablageverhalten beeinflussen. In der Theorie sollte sich mit abnehmender Verbreitung "guter" Wirte (d.h. Wirte, die eine hohe Überlebenswahrscheinlichkeit für die Larven bieten) und zunehmender Häufigkeit weniger guter Wirte die Eiablagepräferenz in Richtung letzterer verschieben (Levins & MacArthur 1969, Jaenike 1978). Tatsächlich konnten mehrere Studien nachweisen, dass Insekten nur in Gebieten, wo die "guten" Wirte fehlten, Alternativwirte akzeptierten (z.B. Singer 1983, Etges & Heed 1987, Courtney & Forsberg 1988), beziehungsweise dass Weibchen allgemein weniger wählerisch sind, wenn kaum Wirte zur Verfügung stehen (Chew 1977, Williams 1983). Ähnliches könnte auch für *T. conura* gelten. In Mitteleuropa wird die Sumpfkatzdistel, *C. palustre*, von den Fliegen nicht als Wirt akzeptiert. In Schottland dagegen wird *C. palustre* von *T. conura* massiv parasitiert. Romstöck-Völkl (1997) erklärt

dieses unterschiedliche Befallsmuster mit der geringen Abundanz des ursprünglichen Wirtes, *C. heterophyllum*, in Schottland. *C. heterophyllum* kommt dort nur sehr zerstreut und verhältnismäßig selten vor, während *C. palustre* flächendeckend auftritt. Dies könnte nach Romstöck-Völkl (1997) zu dem Befall von *C. palustre* in Schottland geführt haben, obwohl die Parasitierungsrate in diesem Wirt um ein Vielfaches höher liegt (Romstöck & Arnold 1987).

Möglicherweise spielte auch beim Wirtswechsel von *C. heterophyllum* auf *C. oleraceum* die Verbreitung der Wirtspflanzen die entscheidende Rolle. Wenn *C. heterophyllum* in bestimmten Regionen immer seltener wurde oder lokal sogar ausstarb, könnte dies Heterophyllum-Fliegen dazu gezwungen haben, auf *C. oleraceum* auszuweichen. Wie die Eiablageversuche zeigten, akzeptieren Heterophyllum-Fliegen durchaus *C. oleraceum*-Blütenköpfe, wenn der Eiablagegedruck groß genug und keine Alternativwirtspflanze vorhanden ist (in Käfig gehaltene Weibchen legten ihre Eier notfalls sogar an der Gaze ab, wenn ihnen keine Wirtspflanzen angeboten wurden). Bei diesem Szenario ist es letztlich die räumliche Struktur der Wirtspflanzenverbreitung, die den Wirtswechsel und die Differenzierung ermöglicht hätte. Dabei ist es von untergeordneter Bedeutung, ob *C. heterophyllum* in dem entsprechenden Gebiet nur verhältnismäßig selten wurde oder sogar ganz ausstarb. *C. heterophyllum* muss nur selten genug gewesen sein, damit eine Besiedlung von *C. oleraceum* trotz der damit verbundenen absoluten Fitnessnachteile adaptiv wurde (d.h. die relative Fitness war größer).

Wenn tatsächlich die geringe Abundanz der ursprünglichen Wirtspflanze eine treibende Kraft beim Wirtswechsel gewesen sein sollte, könnte der Differenzierungsprozess mit der Selektion physiologischer Anpassung von *T. conura* an *C. oleraceum* begonnen haben. Eine ausgeprägte Wirtspräferenz für *C. oleraceum* wäre zunächst nicht nötig, da die Fliegen in Ermangelung ausreichend vieler *C. heterophyllum* auch Alternativwirte akzeptiert hätten. Auch die Tatsache, dass die Heterophyllum-Fliegen nicht an die Phänologie der neuen Wirtspflanze angepasst waren, kann im allerersten Schritt von untergeordneter Bedeutung gewesen sein. Wenn Heterophyllum-Fliegen nicht bereits ihre sämtlichen Ressourcen in die Eiablage auf *C. heterophyllum* investiert haben, ist die zeitliche Differenz bis zum richtigen Blütenkopfstadium von *C. oleraceum* kein Problem (dies zeigten sowohl die Eiablageversuche, als auch im Freiland abgefangene Heterophyllum-Fliegen, die im Labor bis August überlebten).

Der Selektionsprozess auf physiologische Anpassung könnte dabei ausgesprochen schnell vonstatten gegangen sein. Die Eiablageversuche zeigten, dass zwar die allermeisten Eiablagen der Heterophyllum-Fliegen nicht in F1-Fliegen resultierten, doch gab es auch ein Gelege, aus dem acht Fliegen schlüpfen – dies entspricht ungefähr der durchschnittlichen Gelegegröße von Heterophyllum-Fliegen (Romstöck-Völkl 1990) und deutet darauf hin, dass

diese Fliegen für eine Entwicklung in *C. oleraceum* verhältnismäßig gut angepasst waren (obgleich natürlich die Fitness dieser Fliegen niedriger als jene von *Oleraceum*-Fliegen sein könnte). Das Potential, auf der Alternativpflanze zu überleben, ist also, zumindest bei manchen Individuen, durchaus vorhanden. Diese Variation innerhalb von Populationen bezüglich der Überlebensfähigkeit von Larven in verschiedenen Wirtspflanzen wurde bereits häufig dokumentiert (siehe Via 1990) und auch bei Wirtsrassen gefunden (Craig *et al.* 1997). Wenn die *Heterophyllum*-Fliegen zu einem großen Teil gezwungen waren, in *C. oleraceum* abzulegen, könnten aufgrund der starken Selektion bereits nach wenigen Generationen Genotypen, die für die Besiedlung von *C. oleraceum* ungeeignet sind, aus dem Genpool weitgehend verschwunden sein.

Dieser Selektionsprozess könnte als Nebeneffekt auch eine Erhöhung der Wirtspräferenzen für *C. oleraceum* zur Folge gehabt haben. Zum einen haben die überlebenden Fliegen eine Mutter gehabt, die *C. oleraceum* als Eiablagesubstrat akzeptiert hat. Je nachdem, ob und welche alternativen Eiablagesubstrate noch zur Verfügung standen, kann dies bedeuten, dass dieses Weibchen eine mehr oder weniger starke Präferenz für *C. oleraceum* hatte, die sich, bei einer erblichen Komponente, auch in der Präferenz der schlüpfenden F1-Fliegen manifestieren wird. Zum anderen könnten aber auch die Gene für die Überlebensfähigkeit und die Präferenz gekoppelt sein. Dann würde eine Selektion des einen mit der Selektion des anderen einhergehen, das heißt, die überlebenden Fliegen in der neuen Wirtspflanze würden aufgrund der genetischen Korrelation auch den neuen Wirt präferieren (Via 1990). Eine solche genetische Korrelation, die nicht das Ergebnis eines Differenzierungsprozesses ist, sondern vielmehr letzteren erst mit in Gang setzt, wiesen Hawthorne und Via (2001) bei Wirtsrassen der Blattlaus *Acyrtosiphon pisum pisum* nach.

Parallel zu den Wirtspräferenzen könnte sich auch die Anpassung an die Phänologie von *C. oleraceum* herausgebildet haben, das heißt die zeitliche Synchronisation von Gonadenreifung und Paarungsaktivität bei *T. conura* mit dem richtigen Blütenkopfstadium bei *C. oleraceum*. Das grundsätzliche Potential dazu war vermutlich von Beginn an vorhanden – ein starkes Maß an Variation für solche Merkmale auch innerhalb von Populationen wurde bereits oft nachgewiesen (Tauber & Tauber 1981). Genotypen, die für den Befall von *C. heterophyllum* aufgrund einer relativ späten sexuellen Aktivierung suboptimal waren, existierten daher vermutlich bereits und wurden nun adaptiv. Auf Populationsebene kam es wahrscheinlich entsprechend schnell zu einer Verschiebung des Zeitpunktes, an dem die Gonadenreifung und Paarungsaktivität einsetzte.

Letztendlich bleibt es aber spekulativ, in welcher exakten Reihenfolge sich die obigen Barrieren entwickelt haben, beziehungsweise welche der entsprechenden Merkmale sich früher und/oder stärker differenzierten als die anderen – vor allem, da auch die tatsächlichen

Gründe für den Wirtswechsel nicht endgültig geklärt werden können. Um genauere Aussagen über den Differenzierungsprozess treffen zu können, müssten die Umstände zum Zeitpunkt des Wirtswechsels und danach besser bekannt sein. Insbesondere wären Informationen über die relative Abundanz der Wirtspflanzen während der Neubesiedlung von *C. oleraceum* notwendig. Dann ließe sich besser einschätzen, ob die mangelnde Verfügbarkeit von *C. heterophyllum* tatsächlich der entscheidende Faktor beim Differenzierungsprozess war, oder ob der Wirtswechsel von einem Wirt, auf dem *T. conura* eine hohe Fitness aufwies, zu einem Wirt, an dem dies zumindest für die meisten Individuen nicht galt, mit anderen Szenarien plausibler erklärt werden könnte.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden Artbildungsprozesse bei der Bohrfliege *Tephritis conura* untersucht, einem phytophagen Parasiten, der die Blütenköpfe von Kratzdisteln (*Cirsium sp.*) befällt. Vorhergehende Studien hatten gezeigt, dass sich Fliegen, die *Cirsium heterophyllum* befallen, von Fliegen, die *C. oleraceum* befallen, in einer Reihe von Merkmalen unterscheiden und zumindest partiell reproduktiv isolierte Wirtsrassen existieren. Durch die Kombination von genetischen und morphometrischen Analysen mit direkten Untersuchungen von potentiellen Isolationsbarrieren einerseits, und die Einbeziehung verschiedener Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen andererseits, sollten nun bislang unbearbeitete Aspekte untersucht werden, um ein tieferes Verständnis der Artbildungsprozesse bei *T. conura* zu ermöglichen.

Es wurde das heutige Maß an Differenzierung zwischen den Wirtsrassen genauer quantifiziert und die für die reproduktive Isolation verantwortlichen Isolationsbarrieren identifiziert. Entscheidende präzygotische Barrieren stellen dabei die Wirtspräferenzen sowie Anpassungen an die Phänologie der Wirtspflanze dar. Erstere waren bereits aus früheren Studien bekannt, doch konnte durch die Verwendung von "naiven" Fliegen nachgewiesen werden, dass die Wirtspräferenzen höchstwahrscheinlich genetisch determiniert sind. Die Anpassungen an die Phänologie der Wirtspflanze sind offenbar physiologischer Art und resultierten bei den Paarungsversuchen darin, dass Heterophyllum-Fliegen mehrere Wochen vor den Oleraceum-Fliegen sexuell aktiv wurden, unabhängig von der An- oder Abwesenheit verschiedener Wirtspflanzen. Andere präzygotische Barrieren konnten nicht nachgewiesen werden. Es gab weder signifikante Partnerpräferenzen, die unabhängig von Habitatspräferenz oder sexueller Aktivität waren, noch signifikante Unterschiede in der Paarungsdauer zwischen reinrassigen und Hybridpaarungen.

Eiablageexperimente und Untersuchungen an einem Hybridstandort zeigten, dass außerdem postzygotische Barrieren den Genfluss zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen unterbinden. Eiablagen von Heterophyllum-Weibchen in *C. oleraceum*-Blütenköpfe brachten in den allermeisten Fällen keine F1-Fliegen hervor. Die Tatsache, dass die fremde Blütenkopfumgebung der Alternativwirtspflanze in einer hohen Larvenmortalität resultierte, stellt daher eine extrinsische Barriere dar, die die reproduktive Isolation zusätzlich zu den präzygotischen Barrieren verstärkt. Möglicherweise gibt es außerdem auch noch genetische Inkompatibilitäten zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen (intrinsische Isolation), die eine Selektion gegen Hybridfliegen zur Folge hätten. Entsprechende Hinweise lieferten die Untersuchungen am Hybridstandort, wo ein hochsignifikantes Defizit an Hybridgelegen nachgewiesen wurde und Anzeichen für das Wirken von Haldanes Gesetz existieren.

Allerdings können zum gegenwärtigen Zeitpunkt Alternativerklärungen noch nicht ausgeschlossen werden.

Des Weiteren wurde untersucht, ob und wie stark sich die Wirtsrassen in morphologischen Merkmalen unterscheiden. Die in früheren Studien erhaltenen Ergebnisse, dass Heterophyllum-Fliegen kleinere Flügel als Oleraceum-Fliegen aufweisen, wurden widerlegt – die Wirtsrassen unterscheiden sich prinzipiell nicht in ihrer Größe voneinander. Ein signifikanter Einfluss von Umweltfaktoren (Temperatur) auf die Flügelgröße konnte mit den untersuchten Transekten ebenfalls nicht nachgewiesen werden, doch besteht die Möglichkeit, dass die Temperaturunterschiede zwischen den Standorten nicht ausreichend groß waren, um einen solchen Effekt bei *T. conura* finden zu können.

Dagegen weisen Heterophyllum-Fliegen im Durchschnitt ein hochsignifikant längeres Ovipositorendglied als die Oleraceum-Fliegen auf. Dies scheint eine Adaptation an die unterschiedlich großen Blütenköpfe der Wirtspflanzen zu sein, die eine optimale Synchronisation von Eiablage mit dem für die Larvalentwicklung geeigneten Blütenkopfstadium ermöglicht. Die Analysen des Hybridstandortes zeigten, dass die Ovipositorgrößenunterschiede zwischen den Wirtsrassen tatsächlich genetisch determiniert sind und nicht auf phänotypische Plastizität zurückgeführt werden können.

Mit genetischen Methoden, Allozymelektrophorese und Sequenzierung mitochondrialer DNA, wurde untersucht, welche Auswirkungen die oben erwähnten Isolationsbarrieren auf das Maß der Differenzierung zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen bislang hatten, das heißt, wie stark die dadurch bedingte reproduktive Isolation ist. Bei den Allozymen unterschieden sich Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen hochsignifikant in einer Reihe von Allelfrequenzen, wobei besonders die Loci Hexokinase und Peptidase D stark wirtsspezifische Frequenzen aufwiesen. Dies resultierte darin, dass bei einem aus den Allelfrequenzen erstellten Phänogramm die Populationen ausschließlich nach Wirtspflanzenzugehörigkeit gruppiert wurden, unabhängig von der geographischen Herkunft. In einer hierarchischen F-Statistik konnten über 98 Prozent der Variation zwischen den Populationen auf die Wirtsrassenzugehörigkeit zurückgeführt werden.

Bei der mitochondrialen DNA wurde ebenfalls wirtsspezifische Differenzierung nachgewiesen. Die meisten Haplotypen wurden exklusiv nur bei einer Wirtsrasse gefunden und die Anwendung kladistischer Analysen zeigte, dass es sich bei den Heterophyllum-beziehungsweise Oleraceum-Populationen um eigene evolutionäre Linien handelt. Zusammengenommen zeigten die genetischen Analysen, dass die reproduktive Isolation zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Populationen so weit fortgeschritten ist, dass es sich bei ihnen eigentlich nicht mehr um Wirtsrassen handelt, sondern eine Zuweisung zu eigenen Arten rechtfertigen würde.

Zusätzlich zur Ermittlung des *Status quo* konnten mit den erhobenen Daten auch Aussagen über die Entwicklung des Systems gemacht werden. Der ursprüngliche Wirtswechsel fand vermutlich von *C. heterophyllum* auf *C. oleraceum* statt. Darauf deutet die wesentlich geringere Haplotypendiversität der Oleraceum-Fliegen hin. Die Verteilung der Haplotypen zeigt außerdem, dass die Differenzierung der Wirtsrassen wahrscheinlich bereits vor dem Beginn des heutigen Interglazials erfolgte. Auf der anderen Seite deutet die relativ geringe Differenzierung zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen (insbesondere das häufige Vorkommen des gemeinsamen, zentralen Haplotyps H1) darauf hin, dass es sich um ein vergleichsweise junges System handelt.

Das Haplotypmuster macht es außerdem wahrscheinlich, dass bei dem ursprünglichen Differenzierungsprozess eine peripatrische Phase eine wichtige Rolle gespielt hat. Allerdings ist bei der Interpretation der DNA-Daten bezüglich des geographischen Artbildungsmodus Vorsicht geboten, da die durch die Eiszeit(en) bedingten Populationsexpansionen und -kontraktionen es schwierig machen, andere Szenarien auszuschließen.

Die treibende Kraft beim Differenzierungsprozess scheint starke divergente Selektion gewesen zu sein, während genetische Drift vermutlich keine wichtige Rolle gespielt hat. Dies zeigt sich unter anderem am Muster der Allozyimdifferenzierung. Die Tatsache, dass die wirtsspezifische Differenzierung an den beiden Loci Hexokinase und Peptidase D um ein Vielfaches höher war als an allen anderen Loci, ist ein klarer Hinweis darauf, dass diese Loci unter Selektion stehen (oder zumindest mit entsprechenden Loci eng gekoppelt sind). Ob es auch direkte Selektion für reproduktive Selektion gegeben hat (d.h. eine Förderung der präzygotischen Barrieren, weil Hybridisierung und Eiablagen in die falsche Wirtspflanze in geringerer Fitness resultierten), bleibt unbekannt. Da zum einen das Verbreitungsmuster der Wirtspflanzen in Europa sekundärer Natur ist und zum anderen die reproduktive Isolation zwischen Heterophyllum- und Oleraceum-Fliegen heutzutage (beinahe) komplett ist, ließen sich aus dem Vergleich von allopatrischen, sympatrischen und parapatrischen Gebieten keine Rückschlüsse auf die Prozesse während der eigentlichen Differenzierung ziehen. Die Wirtsrassen unterschieden sich aber am Locus Hexokinase in den Kontaktzonen signifikant mehr als in den allopatrischen Gebieten, was im Sinne von Reinforcement-Prozessen in der finalen Differenzierungsphase interpretiert werden könnte.

7 LITERATUR

- Abrahamson WG, Eubanks MD, Blair CP, Whipple AV (2001) Gall flies, inquilines, and goldenrods: a model for host-race formation and sympatric speciation. *American Zoologist*, **41**, 928-938.
- Alcock J (2001) *Animal behavior: an evolutionary approach*. 7th ed., Sinauer, Sunderland, MA.
- Anderson WW (1973) Genetic divergence in body size among experimental populations of *Drosophila pseudoobscura* kept at different temperatures. *Evolution*, **27**, 278-284.
- Arnqvist G, Rowe L, Krupa JJ, Sih A (1995) Assortative mating by size: a meta-analysis of mating patterns in water striders. *Evolutionary Ecology*, **10**, 265-284.
- Atkinson D (1994) Temperature and organism size - a biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*, **25**, 1-58.
- Averill AL, Prokopy RJ (1987) Intraspecific competition in the Tephritid fruit fly *Rhagoletis pomonella*. *Ecology*, **68**, 878-886.
- Awmack CS, Leather SR (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, **47**, 817-844.
- Azevedo RBR, French V, Partridge L (2002) Temperature modulates epidermal size in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, **48**, 231-237.
- Ballabeni P, Rahier M (2000) Performance of leaf beetle larvae on sympatric host and non-host plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **97**, 175-181.
- Barker AM, Maczka CJM (1996) The relationships between host selection and subsequent larval performance in three free-living graminivorous sawflies. *Ecological Entomology*, **21**, 317-327.
- Barracough TG, Vogler AP (2000) Detecting the geographical pattern of speciation from species-level phylogenies. *American Naturalist*, **155**, 419-434.
- Barton NH (2001) Speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**, 325-413.
- Barton NH, Hewitt GM (1985) Analysis of hybrid zones. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **16**, 113-148.
- Bella JL, Butlin RK, Ferris C, Hewitt GM (1992) Asymmetrical homogamy and unequal sex ratio from reciprocal mating-order crosses between *Chorthippus parallelus* subspecies. *Heredity*, **68**, 345-352.
- Berlocher SH (1998) Can sympatric speciation via host or habitat shift be proven from phylogenetic and biogeographic evidence? In: *Endless Forms: Species and Speciation* (eds Howard DJ, Berlocher SH), pp. 99-113. Oxford University Press, New York.
- Berlocher SH, McPherson BA (1996) Population structure of *Rhagoletis pomonella*, the apple maggot fly. *Heredity*, **77**, 83-99.
- Berlocher SH, Feder JL (2002) Sympatric speciation in phytophagous insects: moving beyond controversy? *Annual Review of Entomology*, **47**, 773-815.
- Bernays E (1986) Diet-induced head allometry among foliage-chewing insects and its importance for graminivores. *Science*, **231**, 495-497.
- Bithner-Mathé BC, Klaczko LB (1999) Heritability, phenotypic and genetic correlations of size and shape in *Drosophila mediopunctata* wings. *Heredity*, **83**, 688-696.
- Blanckenhorn WU (1997) Effects of temperature on growth, development and diapause in the yellow dung fly – against all the rules? *Oecologia*, **111**, 318-324.
- Blanckenhorn WU (2000) The evolution of body size: what keeps animals small? *Quarterly Reviews in Biology*, **75**, 385-407.
- Brower AVZ (1994) Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato*, inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **91**, 6491-6495.

- Brown JM, Pellmyr O, Thompson JN, Harrison RG (1994) Phylogeny of *Greya* (Lepidoptera: Prodoxidae), based on nucleotide sequence variation in mitochondrial cytochrome oxidase I and II: congruence with morphological data. *Molecular Biology and Evolution*, **11**, 128-141.
- Brown JM, Abrahamson WG, Packer RA, Way PA (1995) The role of natural enemy escape in a gallmaker host-plant shift. *Oecologia*, **104**, 52-60.
- Brown JM, Abrahamson WG, Way PA (1996) Mitochondrial DNA phylogeography of host races of the goldenrod ball gallmaker, *Eurosta solidaginis* (Diptera: Tephritidae). *Evolution*, **50**, 777-786.
- Brown WD (1993) The cause of size-assortative mating in the leaf beetle *Trirhabda canadensis* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **33**, 151-157.
- Bryant EH (1977) Morphological adaptation of the housefly *Musca domestica* L., United States. *Evolution*, **31**, 580-596.
- Bush GL (1966) Female heterogamety in the family Tephritidae (Acalyptratae, Diptera). *American Naturalist*, **100**, 119-126.
- Bush GL (1969) Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus *Rhagoletis* (Diptera, Tephritidae). *Evolution* **23**, 237-251.
- Bush GL (1975) Modes of animal speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* **6**, 339-364.
- Bush GL, Smith JJ (1998) The genetics and ecology of sympatric speciation: a case study. *Researches on Population Ecology*, **40**, 175-187.
- Butlin RK (1987) Speciation by reinforcement. *Trends in Ecology and Evolution*, **2**, 8-13.
- Cavicchi S, Guerra D, Natali V, Pezzoli C, Giorgi G (1989) Temperature-related divergence in experimental populations of *Drosophila melanogaster*. II. Correlation between fitness and body dimensions. *Journal of Evolutionary Biology*, **2**, 235-251.
- Chew FS (1977) Coevolution of pierid butterflies and their cruciferous foodplants. II. The distribution of eggs on potential foodplants. *Evolution*, **31**, 568-579.
- Clary DO, Wolstenholme DR (1985) The mitochondrial DNA molecule of *Drosophila yakuba*: nucleotide sequence, gene organization, and genetic code. *Journal of Evolutionary Biology*, **22**, 252-271.
- Clement M, Posada D, Crandall K (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**, 1657-1660.
- Courtney SP, Forsberg J (1988) Host use by two pierid butterflies varies with host density. *Functional Ecology*, **2**, 67-75.
- Coyne JA, Beecham C (1987) Heritability of two morphological characters within and among natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **117**, 727-737.
- Coyne JA, Orr HA (2004) *Speciation*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Cracraft J (1989) Speciation and its ontology: the empirical consequences of alternative species concepts for understanding patterns and processes of differentiation. In: *Speciation and Its Consequences* (eds Otte D, Endler JA), pp. 28-59. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Craig TP, Itami JK, Price PW (1989) A strong relationship between oviposition preference and larval performance in a shoot-galling sawfly. *Ecology*, **70**, 1691-1699.
- Craig TP, Price PW, Itami JK (1990) Intraspecific competition and facilitation by a shoot-galling sawfly. *Journal of Animal Ecology*, **59**, 147-159.
- Craig TP, Itami JK, Abrahamson WG, Horner JD (1993) Behavioral evidence for host-race formation in *Eurosta solidaginis*. *Evolution*, **47**, 1696-1710.
- Craig TP, Horner JD, Itami JK (1997) Hybridization studies on the host races of *Eurosta solidaginis*: Implications for sympatric speciation. *Evolution*, **51**, 1552-1560.
- Craig TP, Itami JK, Shantz C, Abrahamson WG, Horner JD, Craig JV (2000) The influence of host plant variation and intraspecific competition on oviposition preference and offspring performance in the host races of *Eurosta solidaginis*. *Ecological Entomology*, **25**, 7-18.

- Craig TP, Horner JD, Itami JK (2001) Genetics, experience, and host-plant preference in *Eurosta solidaginis*: implications for host shifts and speciation. *Evolution*, **55**, 773-782.
- Dansgaard W, Johnsen SJ, Clausen HB, Dahl-Jensen D, Gundestrup NS, Hammer GU, Hvidberg CS, Steffensen JP, Sveinbjornsdottir AE, Jouzel J, Bond G (1993) Evidence for general instability of past climate from a 250-kyr ice-core record. *Nature*, **364**, 218-220.
- de Queiroz K, Donoghue MJ (1988) Phylogenetic systematics and the species problem. *Cladistics*, **4**, 317-338.
- Despres L, Lorient S, Gaudeul M (2002) Geographic pattern of genetic variation in the European globeflower *Trollius europaeus* L. (Ranunculaceae) inferred from amplified fragment length polymorphisms markers. *Molecular Ecology*, **11**, 2337-2347.
- Diaz-Fleischer F, Papaj DR, Prokopy RJ, Norrbom AL, Aluja M (2000) Evolution of fruit fly oviposition behavior. In: *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior* (eds Aluja M, Norrbom AL), pp. 811-841. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Dieckmann U, Doebeli M (1999) On the origin of species by sympatric speciation. *Nature*, **400**, 354-357.
- Diegisser T (2001) *Wirtsrasenbildung bei Tephritis bardanae (Schrank) – Populationsgenetische und morphologische Untersuchungen*. Diplomarbeit, Universität Mainz.
- Diegisser T, Johannesen J, Lehr C, Seitz A (2004) Genetic and morphological differentiation in *Tephritis bardanae* (Diptera: Tephritidae): evidence for host-race formation. *Journal of Evolutionary Biology*, **17**, 83-93.
- Diehl SR, Bush GL (1984) An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annual Review of Entomology*, **29**, 471-504.
- Dirlbekova O, Dirlbek J (1970) Host plants of some species of trypetid flies (Diptera: Trypetidae) in the West Carpathian area. *Informative Report of Agriculture College in Nitra. Biological Principles of Agriculture*, **8**, 177-191.
- Dobzhansky T (1939) *Die genetischen Grundlagen der Artbildung*. Fischer Verlag, Jena.
- dos Santos P, Uramoto K, Matioli SR (2001) Experimental hybridization among *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae): production and morphological characterization of F-1 hybrids. *Annals of the Entomological Society of America*, **94**, 717-725.
- Dres M, Mallet J (2002) Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, **357**, 471-492.
- Dukas R, Prokopy RJ, Duan JJ (2001) Effects of larval competition on survival and growth in Mediterranean fruit flies. *Ecological Entomology*, **26**, 587-593.
- Eber S, Knoll S, Brandl R (1999) Endophagous insects and structural niches on plants: ecology and evolutionary consequences. *Ecological Entomology*, **24**, 292-299.
- Ehrlich PR, White RR, Singer MC, McKechnie SW, Gilbert LE (1975) Checkerspot butterflies: a historical perspective. *Science*, **188**, 221-228.
- Emelianov I, Dres M, Baltensweiler W, Mallet J (2001) Host-induced assortative mating in host races of the larch budmoth. *Evolution*, **55**, 2002-2010.
- Eschenbacher H (1982) *Untersuchungen über den Insektenkomplex in den Blütenköpfen der Kohldistel, Cirsium oleraceum L. (Compositae)*. Diplomarbeit, Universität Bayreuth.
- Etges WJ, Heed WB (1987) Sensitivity to larval populations of *Drosophila mojavensis*: influence of host plant variation on components of fitness. *Oecologia*, **71**, 375-381.
- Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**, 479-491.
- Feder JL (1995) The effects of parasitoids on sympatric host races of the apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *Ecology*, **76**, 801-813.
- Feder JL, Hunt TA, Bush GL (1993) The effects of climate, host plant phenology and host fidelity on the genetics of apple and hawthorn infesting races of *Rhagoletis pomonella*. *Entomologia Experimentalis and Applicata*, **69**, 117-135.

- Feder JL, Opp S, Wlazlo B, Reynolds K, Go W, Spisak S (1994) Host fidelity is an effective pre-mating barrier between sympatric races of the apple maggot fly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **91**, 7990-7994.
- Feder JL, Reynolds K, Go W, Wang EC (1995) Intra- and interspecific competition and host race formation in the apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *Oecologia*, **101**, 416-425.
- Feder JL, Stolz U, Lewis KM, Perry W, Roethele JB, Rogers A (1997) The effects of winter length on the genetics of apple and hawthorn races of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *Evolution*, **51**, 1862-1876.
- Feder JL, Berlocher SH, Opp SB (1998) Sympatric host-race formation and speciation in *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae): a tale of two species for Charles D. In: *Genetic Structure and local Adaptation in Natural Insect Populations. Effects of Ecology, Life History, and Behavior*. (eds Mopper S, Strauss SY), pp. 408-434. Chapman & Hall, New York.
- Feder JL, Berlocher SH, Roethele JB, Dambroski H, Smith JJ, Perry WL, Gavrilovic V, Filchak KE, Rull J, Aluja M (2003) Allopatric genetic origins for sympatric host-plant shifts and race formation in *Rhagoletis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **100**, 10314-10319.
- Felsenstein J (1981) Skepticism towards Santa Rosalia, or Why are there so few kinds of animals? *Evolution*, **35**, 124-138.
- Felsenstein J (1993) *PHYMLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c*. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- Filchak KE, Roethele JB, Feder JL (2000) Natural selection and sympatric divergence in the apple maggot *Rhagoletis pomonella*. *Nature*, **407**, 739-742.
- Fitch WM, Margoliash E (1967) Construction of phylogenetic trees. A method based on mutation distances as estimated from cytochrome c sequences is of general applicability. *Science*, **155**, 279-284.
- Floate KD, Whitham TG (1993) The "hybrid bridge" hypothesis: host shifting via plant hybrid swarms. *American Naturalist*, **141**, 651-662.
- Fox CW, Lalonde G (1993) Host confusion and the evolution of insect diet breadths. *Oikos*, **67**, 577-581.
- French V, Feast M, Partridge L (1998) Body size and cell size in *Drosophila*: the developmental response to temperature. *Journal of Insect Physiology*, **44**, 1081-1089.
- Fritz RS (1999) Resistance of hybrid plants to herbivores: genes, environment, or both? *Ecology*, **80**, 382-391.
- Fritz RS, Roche BM, Brunfeldt SJ, Orians CM (1996) Interspecific and temporal variation in herbivore responses to hybrid willows. *Oecologia*, **108**, 121-129.
- Fry JD (2003) Multilocus models of sympatric speciation: Bush versus Rice versus Felsenstein. *Evolution*, **57**, 1735-1746.
- Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, **147**, 915-925.
- Funk DJ, Omland KE (2003) Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **34**, 397-423.
- Funk DJ, Futuyma DJ, Orti G, Meyer A (1995) A history of host associations and evolutionary diversification for *Orphraella* (Coleoptera: Chrysomelidae): new evidence from mitochondrial DNA. *Evolution*, **49**, 1008-1017.
- Futuyma DJ (1998) *Evolutionary Biology*. 3rd ed., Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Futuyma DJ, Mayer GC (1980) Non-allopatric speciation in animals. *Systematic Zoology*, **29**, 254-271.
- Gavrilets S, Hastings A (1996) Founder effect speciation: a theoretical reassessment. *American Naturalist*, **147**, 466-491.
- Gilbert LE, Singer MC (1975) Butterfly ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **6**, 365-397.
- Grant V (1976) *Artbildung bei Pflanzen*. Parey, Berlin.
- Grastat AA (2004) *Umweltbedingte Einflüsse bei der Wirtsrassendifferenzierung von Tephritis conura*. Diplomarbeit, Universität Mainz.

- Gratton C, Welter S (1998) Oviposition preference and larval performance of *Liriomyza helianthi* (Diptera: Agromyzidae) on normal and novel host plants. *Environmental Entomology*, **27**, 926-935.
- Gregory PG, Howard DJ (1994) A post-insemination barrier to fertilization isolates two closely related ground crickets. *Evolution*, **48**, 705-710.
- GRIP Members (1993) Climate instability during the last inter-glacial period recorded in the GRIP ice core. *Nature*, **364**, 203-207.
- Groman JD, Pellmyr O (2000) Rapid evolution and specialization following host colonization in a yucca moth. *Journal of Evolutionary Biology*, **13**, 223-236.
- Gugerli F, Sperisen C, B uchler U, Magni F, Geburek T, Jeandroz S, Senn J (2001) Haplotype variation in a mitochondrial tandem repeat of Norway spruce (*Picea abies*) populations suggests a serious founder effect during postglacial re-colonization of the western Alps. *Molecular Ecology*, **10**, 1255-1263.
- Häggström H, Larsson S (1995) Slow larval growth on a suboptimal willow results in high predation mortality in the leaf beetle *Galerucella lineola*. *Oecologia*, **104**, 308-315.
- Haldane JBS (1922) Sex ratio and unisexual sterility in animal hybrids. *Journal of Genetics*, **12**, 101-109.
- Han HY, McPheron BA (1997) Molecular phylogenetic study of Tephritidae (Insects: Diptera) using partial sequences of the mitochondrial 16S ribosomal DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **7**, 17-32.
- Hare MP, Avise JC (1998) Population structure in the American oyster as inferred by nuclear gene genealogies. *Molecular Biology and Evolution*, **15**, 119-128.
- Harpending HC, Batzer MA, Gurven M, Jorde LB, Rogers AR, Sherry ST (1998) Genetic traces of ancient demography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **95**, 1961-1967.
- Harrison RG (1991) Molecular changes at speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **22**, 281-308.
- Harrison RG (1998) Linking evolutionary pattern and process: the relevance of species concepts for the study of speciation. In: *Endless Forms: Species and Speciation* (eds Howard DJ, Berlocher SH), pp. 19-31. Oxford University Press, New York.
- Hawthorne DJ, Via S (2001) Genetic linkage of ecological specialization and reproductive isolation in pea aphids. *Nature*, **412**, 904-907.
- Headrick DH, Goeden RD (1994) Reproductive behavior of California fruit flies and the classification and evolution of Tephritidae (Diptera) mating systems. *Studia dipterologica*, **1**, 195-252.
- Hebert PDN, Beaton MJ (1989) *Methodologies for Allozyme Analysis Using Cellulose Acetate Electrophoresis. A Practical Handbook*. Educational Service of Helena Laboratories.
- Hedin MC (1997) Speciation history in a diverse clade of habitat-specialized spiders (Araneae: Nesticidae: Nesticus): inferences from geographic-based sampling. *Evolution*, **51**, 1929-1945.
- Hegi G (1979) *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*. Band 6. J.F. Lehmanns Verlag, München.
- Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, **58**, 247-276.
- Hewitt GM (1999) Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, **68**, 87-112.
- Hewitt GM (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907-913.
- Howard DJ (1993) Reinforcement: origin, dynamics, and fate of an evolutionary hypothesis. In: *Hybrid Zones and the Evolutionary Process*. (ed Harrison RG), pp. 46-69. Oxford University Press, Oxford.
- Howard DJ, Berlocher SH (1998) *Endless Forms: Species and Speciation*. Oxford University Press, Oxford.
- Imasheva AG, Bubli OA, Lazebny OE (1994) Variation in wing length in Eurasian natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, **72**, 508-514.
- Itami JK, Craig TP, Horner JD (1998) Factors affecting gene flow between the host-races of *Eurosta solidaginis*. In: *Genetic Structure and local Adaptation in Natural Insect Populations. Effects of Ecology, Life History, and Behavior*. (eds Mopper S, Strauss SY), pp. 375-407. Chapman & Hall, New York.

- Jaenike J (1978) On optimal oviposition behaviour by phytophagous insects. *Theoretical Population Biology*, **14**, 350-356.
- James AC, Partridge L (1995) Thermal evolution of rate of larval development in *Drosophila melanogaster* in laboratory and field populations. *Journal of Evolutionary Biology*, **8**, 315-330.
- Jiggins CD, Mallet J (2000) Bimodal hybrid zones and speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, **15**, 250-255.
- Jones SR (1989) *Morphology and evolution of the aculei of true fruit flies (Diptera: Tephritidae) and their relationship to host anatomy*. PhD Thesis, Pennsylvania State University, University Park.
- Katakura H, Hosogai T (1994) Performance of hybrid ladybird beetles (*Epilachna* ssp.) on the host plants of parental species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **71**, 81-84.
- Kawecki TJ (1996) Sympatric speciation driven by beneficial mutations. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **263**, 1515-1520.
- Kawecki TJ (1997) Sympatric speciation via habitat specialization driven by deleterious mutations. *Evolution*, **51**, 1751-1763.
- Keese MC (1997) Does escape to enemy-free space explain host specialization in two closely related leaf-feeding beetles (Coleoptera: Chrysomelidae)? *Oecologia*, **112**, 81-86.
- Kimura M (1991) Recent development of the neutral theory viewed from the Wrightian tradition of theoretical population genetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **88**, 5969-5973.
- Kirkpatrick M, Ravigne V (2002) Speciation by natural and sexual selection: models and experiments. *American Naturalist* **159**, S22-S35.
- Klingenberg CP, Spence JR (1997) On the role of body size for life-history evolution. *Ecological Entomology*, **22**, 55-68.
- Köhler K (2005) *Koevolution zwischen Wirtsrassen der Bohrflye Tephritis conura und der Pflanzengattung Cirsium*. Diplomarbeit, Universität Mainz.
- Komma M (1990) *Der Pflanzenparasit Tephritis conura und die Wirtsgattung Cirsium*. Dissertation, Universität Bayreuth.
- Kondrashov AS, Kondrashov FA (1999) Interactions among quantitative traits in the course of sympatric speciation. *Nature*, **400**, 351-354.
- Lampe C (2005) *Europäische Phylogeographie der Verschiedenblättrigen Kratzdistel Cirsium heterophyllum*. Diplomarbeit, Universität Mainz.
- Levins R, MacArthur R (1969) An hypothesis to explain the incidence of monophagy. *Ecology*, **50**, 910-911.
- Lewis PO, Zaykin D (2001) *Genetic data analysis: Computer program for the analysis of allelic data*. Version 1.0 [d16.c]. Distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>.
- Linn C, Feder JL, Nojima S, Dambroski HR, Berlocher SH, Roelofs W (2003) Fruit odor discrimination and sympatric host race formation in *Rhagoletis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **100**, 11490-11493.
- Mallet J (1995) A species definition for the Modern Synthesis. *Trends in Ecology and Evolution*, **10**, 294-299.
- Mallet J (2001) Gene flow. In: *Insect movement: mechanisms and consequences* (eds Woiwood IP, Reynolds DR, Thomas CD), pp. 337-360. CAB International (Proceedings of a Symposium at the Royal Entomological Society, London), Wallingford, UK.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, **27**, 209-220.
- Masta SE, Sullivan B, Lamb T, Routman EJ (2002) Phylogeography, species boundaries, and hybridization among toads of the *Bufo americanus* group. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **24**, 302-314.
- Mavragani-Tsipidou P (2002) Genetic and cytogenetic analysis of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Genetica*, **116**, 45-57.
- Mayr E (1942) *Systematics and the Origin of Species*. Columbia University Press, New York.

- Mayr E (1963) *Animal Species and Evolution*. Belknap Press, Cambridge, MA.
- McDonald JH, Kreitman M (1991) Adaptive protein evolution at the *Adh* locus in *Drosophila*. *Nature*, **351**, 652-654.
- McKechnie SW, Ehrlich PR, White RR (1975) Population genetics of *Euphydrya* butterflies. I. Genetic variation and the neutrality hypothesis. *Genetics*, **81**, 571-594.
- McPheron BA, Smith DC, Berlocher SH (1988) Microgeographic genetic variation in the apple maggot *Rhagoletis pomonella*. *Genetics*, **119**, 445-451.
- Nei M (1972) Genetic distance between populations. *American Naturalist*, **106**, 283-292.
- Nielsen R (2001) Statistical tests of selective neutrality in the age of genomics. *Heredity*, **86**, 641-647.
- Noor M (1999) Reinforcement and other consequences of sympatry. *Heredity*, **83**, 503-508.
- Otte D, Endler JA (1989) *Speciation and Its Consequences*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Partridge L, Barrie B, Fowler K, French V (1994) Evolution and development of body and cell size in *Drosophila melanogaster* in response to temperature. *Evolution*, **48**, 1269-1276.
- Pfenninger M, Posada D (2002) Phylogeographic history of the land snail *Candidula unifasciata* (Helicellinae, Stylommatophora): fragmentation, corridor migration, and secondary contact. *Evolution*, **56**, 1776-1788.
- Pfriem P (1983) Latitudinal variation in wing size in *Drosophila subobscura* and its dependence on polygenes of chromosome O. *Genetica* **61**, 221-232.
- Pilson D (1999) Plant hybrid zones and insect host range expansion. *Ecology*, **80**, 408-415.
- Posada D (2000) *Testing Geographic Association – Chiperm Version 1.2*. Department of Biology, Brigham Young University, Provo, UT.
- Posada D, Crandall KA, Templeton AR (2000) GeoDis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology*, **9**, 487-488.
- Price PW, Bouton CE, Gross P, McPheron BA, Thompspn JN, Weis AE (1980) Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**, 41-65.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure from multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945-959.
- Prokopy RJ, Averill AL, Cooley SS, Roitberg CA (1982) Associative learning in egg-laying site selection by apple maggot flies. *Science*, **218**, 76-77.
- Prokopy RJ, Papaj DR, Cooley SS, Kallet C (1986) On the nature of learning in oviposition site acceptance by apple maggot flies. *Animal Behavior*, **34**, 98-107.
- Ray C (1960) The application of Bergmann's and Allen's rules to the poikilotherms. *Journal of Morphology*, **106**, 85-108.
- Raymond M, Rousset F (2000) *GENEPOP*. Version 3.2. Distributed by the authors. Institut des Sciences de l'Evolution, Université de Montpellier II, France.
- Rice WR (1984) Disruptive selection on habitat preference and the evolution of reproductive isolation: a simulation study. *Evolution*, **38**, 1251-1260.
- Rice WR, Hostert EE (1993) Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years? *Evolution*, **47**, 1637-1653.
- Richardson BJ, Baverstock PR, Adams M (1986) *Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematics and population studies*. Academic Press, San Diego.
- Rieseberg LH, Ellstrand NC (1993) What can morphological and molecular markers tell us about plant hybridization? *Critical Reviews in Plant Sciences*, **12**, 213-241.
- Robertson FW (1963) The ecological genetics of growth in *Drosophila*. 6. The genetic correlation between the duration of the larval period and body size in relation to larval diet. *Genetical Research*, **4**, 74-92.

- Robinson T, Johnson NA, Wade MJ (1994) Postcopulatory, prezygotic isolation: intraspecific and interspecific sperm precedence in *Tribolium* spp., flour beetles. *Heredity*, **73**, 155-159.
- Roderick GK (1996) Geographic structure insect populations: Gene flow, phylogeography, and their uses. *Annual Review of Entomology*, **41**, 325-352.
- Roff DA (1980) Optimizing development time in a seasonal environment: the 'up and downs' of clinal variation. *Oecologia*, **45**, 202-208.
- Roff DA (1992) *The Evolution of Life Histories: Theory and Analysis*. Chapman & Hall, New York.
- Roff DA, Bentzen P (1989) The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: χ^2 and the problem of small samples. *Molecular Biology and Evolution*, **5**, 539-545.
- Roitberg BD, Isman MB (1992) *Insect Chemical Ecology: An Evolutionary Approach*. Chapman & Hall, New York.
- Romstöck M (1982) *Untersuchungen über den Insektenkomplex in den Blütenköpfen von Cirsium heterophyllum (Cardueae)*. Diplomarbeit, Universität Bayreuth.
- Romstöck M (1987) *Tephritis conura Loew (Diptera: Tephritidae) und Cirsium heterophyllum (L.) Hill (Cardueae): Struktur und Funktionsanalyse eines ökologischen Kleinsystems*. Dissertation, Universität Bayreuth.
- Romstöck M, Arnold H (1987) Populationsökologie und Wirtswahl bei *Tephritis conura* Loew-Biotypen (Dipt.: Tephritidae). *Zoologischer Anzeiger*, **219**, 83-120.
- Romstöck-Völkl M (1990) Host refuges and spatial patterns of parasitism in an endophytic host-parasitoid system. *Ecological Entomology*, **15**, 321-331.
- Romstöck-Völkl M (1997) Host race formation in *Tephritis conura*: Determinants from three trophic levels. *Ecological Studies*, **130**, 21-38.
- Romstöck-Völkl M, Zwölfer H (1991) Biotypes and the evolution of niches in phytophagous insects on Cardueae hosts. In: *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. (eds Price PW, Fernandez GW, Lewinsohn TMa, Benson WW), pp. 487-507. Wiley, New York, NY.
- Rozas J, Sanchez-Delbarrio JC, Messeguer X, Rozas R (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, **19**, 2496-2497.
- Saccone G, Pane A, Polito LC (2002) Sex determination in flies, fruitflies and butterflies. *Genetica*, **116**, 15-23.
- Schluter D (2001) Ecology and the origin of species. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**, 372-380.
- Schluter D, Price TD, Rowe L (1991) Conflicting selection pressures and life history trade-offs. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **246**, 11-17.
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2000) *Arlequin: A software for population genetics data analysis*. Version 2.0. Genetics and Biometry Lab, Department of Anthropology, University of Geneva.
- Seitz A, Komma M (1984) Genetic polymorphism and its ecological background in tephritid populations (Diptera: Tephritidae). In: *Population Biology and Evolution* (eds Wöhrmann K, Loeschke V), pp. 143-158. Springer, Heidelberg.
- Sezer M, Butlin RK (1998) The genetic basis of host plant adaptation in the brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). *Heredity*, **80**, 499-508.
- Shaw KL (1998) Species and the diversity of natural groups. In: *Endless Forms: Species and Speciation* (eds Howard DJ, Berlocher SJ), pp. 44-56. Oxford University Press, Oxford.
- Shirai Y, Morimoto N (1999) A host shift from wild blue cohosh to cultivated potato by the phytophagous ladybird beetle, *Epilachna yasutomii* (Coleoptera, Coccinellidae). *Researches on Population Ecology*, **41**, 161-167.
- Siegismund HR (1993) *G-Stat. Genetical statistical programs for the analysis of population data*. Version 3. The Arboretum, Royal Veterinary and Agricultural University, Horsholm, Denmark.
- Simonsen KL, Churchill GA, Aquadro CF (1995) Properties of statistical tests of neutrality for DNA polymorphism data. *Genetics*, **141**, 413-429.
- Singer MC (1983) Determinants of multiple host use by a phytophagous insect population. *Evolution*, **37**, 389-403.
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, **236**, 787-792.

- Slatkin M (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, **47**, 264-279.
- Smith LD, Palmer AR (1994) Effects of manipulated diet on size and performance of brachyuran crab claws. *Science*, **264**, 710-712.
- Smith PT, Krager K, Cronin JT, Kambhampati S (2002) Mitochondrial variation among host-races of *Eurosta solidaginis* Fitch (Diptera: Tephritidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **25**, 372-376.
- Sokolovska N, Rowe L, Johansson F (2000) Fitness and body size in mature odonates. *Ecological Entomology*, **25**, 239-248.
- Stalker HD, Carson HL (1948) An altitudinal transect of *Drosophila robusta* Sturtevant. *Evolution*, **2**, 295-305.
- StatSoft Inc. (2004) STATISTICA für Windows.
- Straw NA (1989) The timing of oviposition and larval growth by two tephritid fly species in relation to host-plant development. *Ecological Entomology*, **14**, 443-454.
- Taberlet P, Fumagalli L, Wust-Saucy AG, Cosson JF (1998) Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, **7**, 453-464.
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, **123**, 585-595.
- Tauber CA, Tauber MJ (1981) Insect seasonal cycles: genetics and evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **12**, 281-308.
- Templeton AR (1994) The role of molecular genetics in speciation studies. In: *Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications* (eds Schierwater B, Streit B, Wagner GP, DeSaller R), pp. 455-477. Birkhäuser-Verlag, Basel.
- Templeton AR (1998) Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypothesis about gene flow and population history. *Molecular Ecology*, **7**, 381-397.
- Templeton AR (2001) Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Molecular Ecology*, **10**, 779-791.
- Templeton AR (2004) Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology*, **13**, 789-809.
- Templeton AR, Crandall KA, Sing CF (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, **132**, 619-633.
- Templeton AR, Routman E, Phillips CA (1995) Separating population structure from population history - a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics*, **140**, 767-782.
- Thompson DB (1992) Consumption rates and the evolution of diet-induced plasticity in the head morphology of *Melanoplus femurrubrum* (Orthoptera: Acrididae). *Oecologia*, **89**, 204-213.
- Thompson DB (1999) Genotype-environment interaction and the ontogeny of diet-induced phenotypic plasticity in size and shape of *Melanoplus femurrubrum* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Evolutionary Biology*, **12**, 38-48.
- Tritsch C (2005) *Genetische Untersuchungen zu regionalen Befallsdifferenzen von Tephritis conura auf Cirsium palustre*. Diplomarbeit, Universität Mainz.
- Trudel R, Lavallee R, Bauce E, Guertin C (2002) The effect of cold temperature exposure and long-day photoperiod on the termination of the reproductive diapause of newly emerged female *Pissodes strobi* (Coleoptera: Curculionidae). *Agricultural and Forest Entomology*, **4**, 301-308.
- Vanderzant ES (1973) Axenic rearing of larvae and adults of the boll weevils on defined diets: additional tests with amino acids and vitamins. *Annals of the Entomological Society of America*, **66**, 1184-1186.
- van't Land J, van Putten P, Zwaan B, Kamping A, van Delden W (1999) Latitudinal variation in wild populations of *Drosophila melanogaster*: heritabilities and reaction norms. *Journal of Evolutionary Biology*, **12**, 222-232.
- Via S (1990) Ecological genetics and host adaptation in herbivorous insects: the experimental study of evolution in natural and agricultural systems. *Annual Review of Entomology*, **35**, 421-446.

- Via S (1999) Reproductive isolation between sympatric races of pea aphids. I. Gene flow restriction and habitat choice. *Evolution* **53**, 1446-1457.
- Via S (2001) Sympatric speciation in animals: the ugly duckling grows up. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**, 381-390.
- Walsh BJ (1867) The apple-worm and the apple maggot. *Journal of Horticulture*, **2**, 338-343.
- Webb T, Bartlein PJ (1992) Global changes during the last 3 million years: climatic controls and biotic responses. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **23**, 141-173.
- Weber DJ, Gang DR, Halls SC, Smith BN, McArthur ED (1994) Inheritance of hydrocarbons in subspecific big sagebrush (*Artemisia tridentata*) hybrids. *Biochemical Systematics and Ecology*, **22**, 689-697.
- Weir BS (1990) *Genetic Data Analysis: methods for discrete population genetic data*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- Wheeler G, Halpern M (1999) Compensatory responses of *Samea multiplicalis* larvae when fed leaves of different fertilization levels of the aquatic weed *Pistia stratiotes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **92**, 205-216.
- Wickman P-O, Karlsson B (1989) Abdomen size, body size and reproductive effort in insects. *Oikos*, **56**, 209-214.
- Wiley EO (1978) The evolutionary species concept reconsidered. *Systematic Zoology*, **27**, 17-26.
- Williams KS (1983) The coevolution of *Euphydryas chalcedona* butterflies and their larval host plants. III. Oviposition behaviour and host plant quality. *Oecologia*, **56**, 336-340.
- Wimberger PH (1991) Plasticity of jaw and skull morphology in the Neotropical Cichlids *Geophagus brasiliensis* and *G. steindachneri*. *Evolution*, **45**, 1545-1563.
- Wood TK (1993) Speciation of the *Enchenopa binotata* complex (Insecta: Homoptera: Membracidae). In: *Evolutionary Patterns and Processes* (eds Lees DR, Edwards D), pp. 300-317. Academic Press, London.
- Wright S (1984) *Evolution and the genetics of populations. 4. Variability within and among natural populations*. 2nd ed., University of Chicago Press, Chicago.
- Wright SL (1931) Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, **16**, 97-150.
- Wright SL (1943) Isolation by distance. *Genetics*, **28**, 114-138.
- Zwölfer H (1974a) Das Treffpunkt-Prinzip als Kommunikationsstrategie und Isolationsmechanismus bei Bohrfliegen (Diptera: Trypetidae). *Entomologica Germanica* **1**, 11-20.
- Zwölfer H (1974b) Innerartliche Kommunikationssysteme bei Bohrfliegen. *Biologie in unserer Zeit*, **4**, 147-153.
- Zwölfer H (1975) Artbildung und ökologische Differenzierung bei phytophagen Insekten. *Verhandlungsbericht der Deutschen Zoologischen Gesellschaft*, **67**, 394-401.
- Zwölfer H (1987) Species richness, species packing and evolution in insect plant systems. *Ecological Studies*, **61**, 301-319.
- Zwölfer H (1988) Evolutionary and ecological relationships among the insect fauna of thistles. *Annual Review of Entomology*, **33**, 103-122.

Internetquellen

- Gemeinde Galtür (2005). Klima Galtür (1583m). <<http://www.galtuer.gv.at/klima.htm>> 02.06.2005.
- wetter.com AG (2005a) Klimadatenbank. Klimatabelle für Malmö. <http://www.wetter.com/v2/?SID=&LANG=DE&LOC=0226&LOCFROM=0201&id_city=026375> 02.06.2005.
- wetter.com AG (2005b) Klimadatenbank. Klimatabelle für Haparanda. <http://www.wetter.com/v2/?SID=&LANG=DE&LOC=0226&LOCFROM=0201&id_city=021960> 02.06.2005.

ANHANG

- Anhang 1** Geographische Angaben zu den Standorten
- Anhang 2** Hälterung der Fliegen
- Anhang 3** Pflanzenanzucht
- Anhang 4** Allelfrequenzen aller Populationen
- Anhang 5** Genetische Distanzen (unterhalb der Diagonalen) und Identitäten (oberhalb) zwischen allen Populationen
- Anhang 6** Graphische Übersicht der *Structure*-Klassifikation
- Anhang 7** Basenunterschiede zwischen den Haplotypen des Locus CO I/II
- Anhang 8** Basenunterschiede zwischen den Haplotypen des Locus 16S/ND1
- Anhang 9** Zusammensetzung der Gesamthaplotypen
- Anhang 10** Haplotypenverteilung und Diversitätsparameter für alle Populationen
- Anhang 11** Ergebnisse der Nested Clade Analysis (alle Populationen)
- Anhang 12** Ergebnisse der Nested Clade Analysis (Heterophyllum-Populationen)
- Anhang 13** Ergebnisse der Nested Clade Analysis (Oleraceum-Populationen)
- Anhang 14** Mittlere Flügellänge \pm Standardabweichung (N) aller Populationen, bei denen Männchen und Weibchen analysiert wurden (Datensatz A)
- Anhang 15** Details zum Eiablageversuch
- Anhang 16** Allelfrequenzen der Parentalpopulationen am Hybridstandort
- Anhang 17** Übersicht der Blütenköpfe von Hybridpflanzen, aus denen *T.conura* geschlüpft sind

Anhang 1. Geographische Angaben zu den Standorten.

Pop.	Standort	Höhe [mNN]	Koordinaten		Beschreibung
HSc2	Bridge of Orchy	170	N56°30.523'	W04°46.097'	A82 → Fort Williams, Krz. B8074
HSc6	Little Dunkeld	55	N56°33.734'	W03°44.717'	A9 Perth → Abfahrt Dunkeld
HST11	Boden	-	N65°52.550'	E21°46.400'	-
HST10	Fredrika	-	N63°57.722'	E18°51.181'	-
HST9	Peresjö	210	N63°28.916'	E18°34.759'	einige km vor Björna, SR 352
HST8	Herrskog	48	N62°53.812'	E18°01.915'	300m von Boras, Wiese am SR
HST7	Njurunda	47	N62°13.975'	E17°22.636'	SR zahlreiche Vorkommen
HST6	Sörfosa	46	N61°39.197'	E16°55.620'	10km NW von Iggesund (links am See)
HST5	Lingbo	96	N61°02.050'	E16°41.015'	SR 272
HST4	Tierp	45	N60°21.146'	E17°28.027'	E4 bei Tierp auf 292, erste rechts, SR
HST3	Rydbo	-	N59°29.212'	E18°10.773'	im Wald, nur zu Fuß erreichbar
HS2	Harphult	-	N55°51.103'	E13°52.274'	kleine Straße, am Wegrand
HS4	Gaddaröd	176	N55°46.541'	E13°55.570'	zwischen Gaddaröd und Hemmeneköp
HS6	Aspinge	139	N55°51.857'	E13°44.779'	vor Aspinge, von Benarp kommend
HS8	Höör	-	N55°55.645'	E13°34.628'	SR E13, 3km südlich Höör
HS13	Tommaholma	123	N56°03.852'	E13°34.242'	im Wald
OS2	Osbyholm	-	N55°50.854'	E13°36.033'	E22 Abfahrt Osbyholm, SR in Kurve
OS3	Rövarkulans	68	N55°47.556'	E13°29.973'	Naturreservat
OS6	Bjärnum	87	N56°17.509'	E13°42.424'	am Bahnhof, hinter den Gleisen
OS7	Skäldervigen	16	N56°16.772'	E12°50.849'	Bushaltestelle Hauptstr. (105)
OS8	Rosendal	0	N56°04.982'	E12°49.773'	SR Mörarp → Kropp
OS9	Rästanga	29	N56°02.593'	E13°15.129'	SR B13, ca. 5km nach Röstanga
OS10	Brönnestad	54	N56°05.363'	E13°44.346'	Abfahrt B23 bei Brönnestad, dann SR
HF2	Mäntyharju	-	N61°26.060'	E26°52.967'	-
HF4	Helsinki	-	N60°14.000'	E24°54.000'	-
HF6	Putkilahti	-	N61°53.100'	E25°44.700'	-
OD2	Lütjenburg	14	N54°16.906'	E10°34.350'	SR B430, km17.6
OD4	Luhdorf	9	N53°19.509'	E10°11.112'	bei Winsen, L234, km4
OD5	Unsen	102	N52°08.669'	E09°26.315'	Abfahrt B217 nach Unsen, SR 500m
OD6	Bad Karlshafen	92	N51°38.675'	E09°26.857'	nördliche Orteinfahrt, SR
OD7	Spangenberg	196	N51°06.768'	E09°35.827'	B487 von Melsungen, 500m ab Brücke
OD8	Vogelsberg	613	N50°32.323'	E09°11.950'	Kreuzung Ringstr. / L3139
OD9	Eltville	355	N50°03.124'	E08°05.860'	bei Gasthof Rausch, Waldweg zu Bach

Fortsetzung Anhang 1

OD10	Altleiningen	199	N49°31.781'	E08°06.512'	L520, Bach an Haltestelle "Gensheim"
OD12	Hohenhurst	140	N48°31.119'	E07°51.059'	Hohenhursterstr.
OD14	Ühlingen	-	N47°43.000'	E08°20.000'	-
OD15	Nossen	-	N51°03.325'	E13°20.202'	innerorts am SR bei Bach
HE2	Frauenstein	641	N50°48.348'	E13°30.842'	B171→ Frauenstein, links Wiese
HE3	Zöblitz	634	N50°39.138'	E13°14.363'	B171→ Marienberg, bei Ortsschild
HE4	Erlabrunn	436	N50°28.000'	E12°43.298'	→Johanngeorgenstadt, an Bahnlinie
HE5	Klingenthal	753	N50°23.602'	E12°29.689'	innerorts am SR
H1	Huetten	708	N50°00.599'	E11°48.962'	Glasstraße, nach Huetten SR rechts
H4	Fleckl	700	N50°00.978'	E11°48.504'	Ortsteil Stechenberg, Skihang
H5	Bischofsgrün	630	N50°03.479'	E11°46.588'	rechts der Panoramastr, kurz vor FGS
H9	Schneeberg	840	N50°03.905'	E11°50.411'	Wanderweg
H13	Mehlmeisel	612	N49°58.794'	E11°52.112'	Ortsausfahrt → Fichtelberg, Haus Nr.9
HO1	FGS Radweg	546	N50°02.722'	E11°44.509'	Radweg parallel zur Fichtelgebirgsstr.
HO2	Sickenreuth	650	N50°00.145'	E11°43.309'	Waldweg östlich von Sickenreuth
HO3	Pfeiferhaus	527	N49°58.159'	E11°45.985'	Haltestelle an Glasstr., vor Pfeiferhaus
OH1	FGS Radweg	546	N50°02.722'	E11°44.509'	Radweg parallel zur Fichtelgebirgsstr.
OH2	Sickenreuth	650	N50°00.145'	E11°43.309'	Waldweg östlich von Sickenreuth
OH3	Pfeiferhaus	527	N49°58.159'	E11°45.985'	Haltestelle an Glasstr., vor Pfeiferhaus
O2	Eimersmühle	396	N49°53.092'	E11°36.975'	am Roten Main → Emtmannsberg
O7	Heinersreuth	337	N49°58.683'	E11°31.389'	B85 → Unterwaiz, rechts am Bach
O9	Lessau	488	N49°55.815'	E11°42.706'	Weidenberg → Lessau SR km2.7
O10	Seulbitz	-	N49°56.599'	E11°39.649'	Lankendorf → Seulbitz, SR im Wald
O11	Ützdorf	496	N49°56.578'	E11°40.419'	Seubitz → Ützdorf, SR vor Ortsschild
HA1	Astlehn	~1200	N47°05.100'	E10°57.267'	Ötztal: Längenfeld → Abfahrt Astlehn
HA2	Wirl	~1650	N46°57.083'	E10°10.917'	Paznauntal: Galltür → Stausee
OA1	St. Johann	-	N47°31.150'	E12°25.533'	-
OA2	Paznauntal	600	N47°08.150'	E10°30.317'	Taleinfahrt → Abfahrt Tobadill
OA3	Aggsbach-Dorf	-	N48°17.200'	E15°24.867'	Nähe Melk, Karthauserkloster
OK1	Zagreb	-	N45°48.350'	E15°57.883'	-
OR1	Tetjushi	-	N55°13.483'	E48°46.950'	-
OR3	Kotelnich	-	N58°04.883'	E48°10.533'	-
HR2	Elets	-	N52°38.867'	E38°33.417'	-
HR3	Raifa	-	N55°54.000'	E48°45.983'	-
HXO	Waldfrieden	436	N50°39.383'	E13°04.200'	Wiese an der B101, Nähe Wolkenstein

Anhang 2. Hälterung der Fliegen.

Im Sommer jedes Jahres wurden im Freiland Blütenköpfe von *C. heterophyllum* und *C. oleraceum* gesammelt und in separaten Käfigen (70 x 50 x 40cm) ausgebreitet. Nachdem die Fliegen geschlüpft waren, wurden sie nach Geschlechtern getrennt. Durch die getrennte Hälterung von Weibchen und Männchen sollte verhindert werden, dass es zu unbeobachteten und ungewollten Paarungen in den Käfigen kommen konnte. Zum Abfangen der Fliegen wurde ein umgebauter Akkustaubsauger benutzt, dessen Saugleistung darauf eingestellt war, die Fliegen einerseits durch einen Silikonschlauch in ein Abfanggläschen zu saugen, sie dabei andererseits aber nicht zu verletzen. Auf diese Weise wurden jedes Jahr mehrere Tausend Fliegen auf Käfige aufgeteilt.

Die für die Hälterung benutzten Käfige hatten entweder die Größe 35 x 35 x 35cm ("kleine Käfige") oder 44 x 48 x 50cm ("große Käfige") und waren komplett mit Gaze bespannt (Kunststoffgaze erwies sich als wesentlich geeigneter als Baumwollstoffe, da letztere in den Klimakammern stark verpilzten). Im ersten Jahr wurden in die Käfige noch Behälter mit Grassoden, Moos u.ä. hineingestellt. Diese wurden täglich mit Wasser besprüht, um die Fliegen mit Flüssigkeit zu versorgen. Zusammen mit Stroh, das später noch hinzu gegeben wurde, sollte so den Fliegen außerdem Versteckmöglichkeiten für die Zeit der Überwinterung geboten werden. Die Überlebensraten waren allerdings nicht besser als in anderen Ansätzen, bei denen sich keinerlei pflanzliches Material im Käfig befand. Da es außerdem wesentlich schwieriger war, aus mit Pflanzenmaterial bestückten Käfigen Fliegen für Versuche zu entnehmen, wurden in den folgenden Jahren die Fliegen in leeren Käfigen gehalten (Abb. A1). Es erwies sich allerdings als vorteilhaft, die Gaze im Käfiginneren an den Kanten und Ecken einige Zentimeter überstehen zu lassen, sodass die Fliegen dort zusätzliche Aufenthaltsmöglichkeiten hatten. Die Wasserversorgung erfolgte mit Schwammtüchern, deren eines Ende in mit Wasser gefüllten Plastikschalen hing. Über den Dochteffekt war die gesamte Oberfläche der Schwammtücher permanent feucht, sodass die Fliegen darüber Flüssigkeit aufnehmen konnten.

Die Futtermittellieferung erfolgte mittels Filterpapierstückchen, die an einem diagonal unter der Käfigdecke aufgespannten Angeldraht aufgehängt wurden. Diese Filterpapierstückchen waren entweder mit Honig oder einer Hefeextrakt-Zucker-Mischung (Verhältnis 3:1, angerührt mit Wasser) bestrichen und wurden jede Woche ausgetauscht. Der Honig sollte als Kohlenhydratquelle dienen, während das Hefeextrakt vor allem die Proteinversorgung sicherstellen sollte. Zusätzlich wurden noch Vitamine beigemischt, die in ihrer Zusammensetzung einem Vanderzant-Vitaminmix (Vanderzant 1973) ähnelten. Während die Fliegen essentiell auf Wasser und Honig angewiesen waren (entsprechende Versuche zeigten, dass frisch geschlüpfte *T. conura* ohne jegliche Nahrung/Flüssigkeit maximal zehn Tage lebten, nur mit Wasser (ohne Honig) maximal drei Wochen), konnte ein positiver Effekt weiterer Nahrungsbestandteile nicht nachgewiesen werden. Fliegen, die nur mit Honig und Wasser gehalten wurden, lebten durchschnittlich genau so lange wie Fliegen, die außerdem Hefeextrakt und/oder Vitamine bekommen hatten, zeigten gleiche Paarungsaktivitäten und normale Eientwicklung bei den Weibchen.

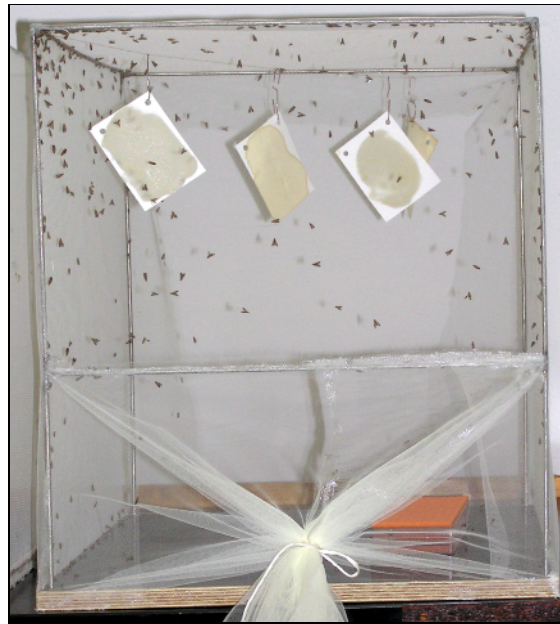


Abbildung A1. Hälterungskäfig. Unten rechts ist der Wasserbehälter mit Schwammtuch zu sehen, oben die mit Honig und Hefeextrakt bestrichenen Filterpapierstückchen.

Im ersten Jahr wurden die im Juli/Anfang August geschlüpften Fliegen noch bis Mitte Oktober unter Raumbedingungen gehalten, ehe sie in Klimakammern gebracht wurden, wo sie Winterbedingungen ausgesetzt wurden (siehe unten). Es stellte sich jedoch heraus, dass die Mortalität der Fliegen deutlich gesenkt werden konnte, wenn sie wesentlich früher in die Klimakammern überführt wurden. Daher wurden sie in den folgenden Jahren bereits zwei Wochen nach dem Schlüpfen mit ihren Käfigen in Klimakammern gebracht. Dort wurde die Raumtemperatur im Verlauf mehrerer Tage allmählich auf 4°C heruntergekühlt. Die Beleuchtung entsprach Kurztagbedingungen (8h/Tag) und erfolgte mit 18W Leuchtstoffröhren, die über jedem Käfig hingen. Einmal im Monat wurden die Klimakammern schrittweise auf 20°C aufgewärmt und den Fliegen zwei bis drei Tage Wasser und Futter gegeben. Anschließend wurde die Temperatur wieder heruntergefahren.

Auf diese Weise überlebten die meisten Fliegen die ersten drei bis vier Monate. Ab November/Dezember stieg allerdings die Mortalitätsrate stark an, und bis spätestens März standen keine Fliegen mehr zur Verfügung. Daher konnten bislang keine Fliegen, die im Labor gezogen worden waren, für Versuche mit Pflanzen aus dem Freiland genutzt werden.

Wie Versuche vom November 2004 jedoch zeigten (siehe Paarungsversuche), reicht die Zeitspanne, in der *T. conura* unter Laborbedingungen bislang gehalten werden konnte, aus, um bei den Fliegen sexuelle Aktivität und Gonadenreife auszulösen. Für weitere Versuche ist es aber nötig, dass entweder die Fliegen bis zum folgenden Frühsommer überleben (wenn die Wirtspflanzen im Freiland zur Verfügung stehen) oder dass es gelingt, Wirtspflanzen im richtigen phänologischen Stadium im Winter zur Verfügung zu stellen.

Anhang 3. Pflanzenanzucht.

Wirtspflanzen wurden in zwei verschiedenen Anzuchträumen angezogen. Im Anzuchtraum 1 (AR1) wurden die Pflanzen bei konstant 20°C, 50-60% relativer Luftfeuchtigkeit und Langtagsbedingungen gehalten (16h/Tag). Die Beleuchtung erfolgte mit Leuchtstoffröhrenfeldern (*Philips TL-M115W/33RS*). In einem zweiten Raum (AR2) wurden *Muselmann Speziallampen Plant Star® 400 Vario* verwendet. Bis auf die Beleuchtungsdauer (ebenfalls 16h/Tag) konnte den Pflanzen in AR2 keine konstanten Bedingungen angeboten werden. Weder waren Temperatur oder Luftfeuchtigkeit regelbar, noch gab es eine ausreichende Belüftung.

Die Pflanzen wurden aus Samen angezogen, die entweder Botanischen Gärten entstammten oder im Freiland gesammelt worden waren. In Vorversuchen stellte sich heraus, dass eine Behandlung mit Gibberellinsäure die Keimungsrate signifikant erhöhte. Dazu wurden die Samen 24h in eine Gibberellinsäurelösung eingelegt (1mg/ml), bevor sie ausgesät wurden. Zusätzlich erwies es sich meist als wirksam, die Samen vorher für mehrere Tage im Gefrierschrank (-20°C) aufzubewahren, um eine eventuell notwendige Stratifikation der Samen zu erreichen. Die Samen wurden in Pflanzschalen (11 x 7) mit TKS II Erde ausgesät und nach Keimung und ausreichendem Wachstum in 5l Blumentöpfe umgetopft (ebenfalls in TKS II Erde).

Bei *C. heterophyllum* bildeten sich innerhalb einiger Monate zwar meist kräftige Rosetten (wobei ganzrandige Blätter deutlich häufiger waren als fiederspaltige), doch gelangten unter den gegebenen Bedingungen nur vereinzelt Pflanzen zur Blüte. Im Laufe der vorliegenden Arbeit konnten nur bei drei Pflanzen Blütenkopfbildungen beobachtet werden, ansonsten gingen die Rosetten meist innerhalb eines Jahres wieder ein.

Bei *C. oleraceum* dagegen war es möglich, innerhalb von sechs bis sieben Monaten nach der Aussaat blühende Pflanzen zu erhalten. So blühten im Januar/Februar 2003 viele der Pflanzen, die im Juli 2002 ausgesät worden waren. Auch bei späteren Anzuchtversuchen gelang es immer wieder, blühende *C. oleraceum* zu produzieren: Im August 2003 blühten viele der im Februar ausgesäten Pflanzen, die bis zum Juni/Juli in ihren Pflanzschalen verblieben waren, bevor sie schließlich umgetopft wurden. Wenn die Jungpflanzen lange genug in den Pflanzschalen blieben, gelangten sie manchmal sogar dort zur Blüte.

Obwohl also prinzipiell eine Anzucht zumindest von *C. oleraceum* möglich war, erwiesen sich in der Praxis die Rahmenbedingungen als ungeeignet. Insbesondere Schädlings- und Mehltaubefall verhinderte immer wieder eine planbare Entwicklung der Versuchspflanzen. Diese Probleme waren besonders ausgeprägt in AR2 und weder mit biologischen Mitteln (Einsatz von Raubmilben gegen Thripse, Schlupfwespen/Florfliegenlarven gegen Blattlausbefall, Soja-Lecithin gegen Mehltau), noch Pestiziden (Parexan und Sapro® [Celaflor®]) dauerhaft in den Griff bekommen.

Zusätzlich zu aus Samen angezogenen Pflanzen wurden auch Disteln aus dem Freiland für Versuche verwendet. Dazu wurden Anfang Mai jedes Jahres entsprechende Rosetten ausgegraben und in 5l Blumentöpfe umgetopft. Das weitere Wachstum der Pflanzen war dabei unabhängig davon, ob speziell auf die Wirtspflanze zugeschnittene Erdmischungen oder Standarderde als Substrat benutzt wurde.

Im Jahre 2002 wurden die Rosetten nach dem Umtopfen ins Gewächshaus gebracht. Dort entwickelten sich die *C. oleraceum*-Pflanzen ganz normal und gelangten im Juli zur Blüte. Dagegen verblieben die *C. heterophyllum*-Rosetten in ihrem vegetativen Stadium. Diese Pflanzen bildeten erst Blütenköpfe, nachdem sie im September/Okttober mit Gibberellinsäure behandelt worden waren. Der Vegetationspunkt wurde dazu wöchentlich mit Gibberellinsäure (50mg/l) eingesprüht, bis sich nach einigen Wochen Blütenköpfe entwickelten. Eine gleiche Behandlung noch nicht geblühter *C. heterophyllum*-Rosetten im folgenden Jahr war wiederum erfolgreich.

Im Jahre 2003 wurden die Disteln nach dem Umtopfen der Rosetten teilweise auch im Freien belassen. Solche Pflanzen, sowohl *C. heterophyllum* als auch *C. oleraceum* kamen alle normal zur Blüte. Unter gleichen Bedingungen verblieben im folgenden Jahr jedoch beinahe alle von über hundert gesammelten *C. oleraceum*-Rosetten im vegetativen Zustand und nur einige wenige bildeten, meist verkümmerte, Blütenkopfansätze aus.

Generell konnten bereits einmal geblühte Pflanzen nicht wieder zur Blüte gebracht werden. Weder Einsatz von Gibberellinsäure, Überwinterung im Freien, Langtagsbedingungen im Gewächshaus, u.ä. änderten daran etwas.

Anhang 4. Allelfrequenzen aller Populationen.

	Acon					Apk			Fum				
	70	100	110	125	150	80	100	115	35	70	100	185	290
HST10	0,25	0,71	0,00	0,04	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HST9	0,02	0,96	0,00	0,00	0,02	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HST8	0,44	0,54	0,00	0,00	0,02	0,02	0,98	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HST7	0,10	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HST6	0,23	0,75	0,00	0,02	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HST5	0,17	0,75	0,00	0,00	0,08	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HST4	0,10	0,83	0,00	0,04	0,02	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,02
HST3	0,33	0,65	0,00	0,00	0,02	0,00	1,00	0,00	0,00	0,02	0,96	0,02	0,00
HS2	0,17	0,83	0,00	0,00	0,00	0,04	0,96	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HS4	0,29	0,71	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HS6	0,19	0,81	0,00	0,00	0,00	0,06	0,94	0,00	0,00	0,08	0,92	0,00	0,00
HS8	0,31	0,56	0,00	0,00	0,13	0,08	0,92	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HS13	0,08	0,71	0,00	0,00	0,21	0,00	1,00	0,00	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00
OS2	0,21	0,65	0,00	0,15	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00
OS3	0,15	0,79	0,00	0,06	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00
OS6	0,23	0,71	0,00	0,06	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OS7	0,30	0,67	0,00	0,00	0,02	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OS8	0,13	0,88	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OS10	0,17	0,77	0,00	0,06	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OD2	0,33	0,60	0,00	0,06	0,00	0,00	0,96	0,04	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OD4	0,24	0,74	0,00	0,02	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OD5	0,10	0,83	0,00	0,04	0,02	0,00	1,00	0,00	0,00	0,06	0,94	0,00	0,00
OD7	0,35	0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OD8	0,23	0,73	0,00	0,04	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,13	0,88	0,00	0,00
OD9	0,29	0,67	0,00	0,04	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OD10	0,19	0,71	0,00	0,10	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00	0,02	0,96	0,02	0,00
OD12	0,08	0,75	0,06	0,10	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OD14	0,17	0,76	0,02	0,04	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
H4	0,17	0,73	0,00	0,02	0,08	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
H9	0,06	0,92	0,00	0,00	0,02	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
H13	0,13	0,83	0,00	0,00	0,04	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HO1	0,04	0,79	0,00	0,00	0,17	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HO2	0,08	0,90	0,00	0,00	0,02	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00
HO3	0,17	0,79	0,00	0,00	0,04	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00
OH1	0,19	0,72	0,00	0,08	0,00	0,06	0,94	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OH2	0,04	0,94	0,00	0,00	0,02	0,00	1,00	0,00	0,02	0,04	0,94	0,00	0,00
OH3	0,19	0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
O2	0,13	0,75	0,00	0,13	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00
O7	0,10	0,77	0,00	0,13	0,00	0,06	0,94	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
O11	0,10	0,77	0,00	0,10	0,02	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00

Fortsetzung Anhang 4

	G3pdh		Got							Hbdh					
	75	100	45	65	75	100	125	135	145	-290	-200	-100	0	40	100
HST10	0,00	1,00	0,00	0,02	0,00	0,92	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,75	0,00	0,06
HST9	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,67	0,00	0,04
HST8	0,00	1,00	0,02	0,02	0,04	0,81	0,02	0,08	0,00	0,00	0,00	0,21	0,79	0,00	0,00
HST7	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,94	0,02	0,04	0,00	0,13	0,00	0,27	0,60	0,00	0,00
HST6	0,00	1,00	0,02	0,08	0,00	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,79	0,00	0,02
HST5	0,00	1,00	0,00	0,02	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,94	0,00	0,00
HST4	0,00	1,00	0,00	0,02	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,71	0,00	0,00
HST3	0,00	1,00	0,00	0,06	0,00	0,77	0,08	0,08	0,00	0,00	0,00	0,46	0,54	0,00	0,00
HS2	0,00	1,00	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,69	0,00	0,00
HS4	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,81	0,00	0,00
HS6	0,00	1,00	0,00	0,02	0,00	0,92	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,29	0,71	0,00	0,00
HS8	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,96	0,00	0,00
HS13	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,90	0,08	0,00	0,02	0,00	0,00	0,10	0,90	0,00	0,00
OS2	0,00	1,00	0,00	0,02	0,02	0,92	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,19	0,79	0,00	0,02
OS3	0,00	1,00	0,00	0,06	0,00	0,92	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,27	0,73	0,00	0,00
OS6	0,00	1,00	0,00	0,08	0,00	0,90	0,00	0,02	0,00	0,00	0,04	0,21	0,71	0,02	0,02
OS7	0,00	1,00	0,00	0,24	0,00	0,72	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,24	0,76	0,00	0,00
OS8	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,90	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,77	0,00	0,00
OS10	0,00	1,00	0,00	0,02	0,02	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,79	0,04	0,00
OD2	0,00	1,00	0,00	0,06	0,04	0,88	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,04	0,96	0,00	0,00
OD4	0,00	1,00	0,00	0,05	0,00	0,93	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,31	0,67	0,00	0,02
OD5	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,19	0,79	0,00	0,02
OD7	0,00	1,00	0,00	0,06	0,00	0,92	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,31	0,69	0,00	0,00
OD8	0,00	1,00	0,00	0,10	0,00	0,81	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,35	0,63	0,00	0,02
OD9	0,00	1,00	0,00	0,08	0,00	0,90	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,29	0,69	0,00	0,02
OD10	0,04	0,96	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,50	0,48	0,00	0,02
OD12	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,96	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,29	0,71	0,00	0,00
OD14	0,00	1,00	0,00	0,02	0,11	0,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,69	0,02	0,00
H4	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,56	0,42	0,00	0,02
H9	0,00	1,00	0,00	0,00	0,06	0,90	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,50	0,50	0,00	0,00
H13	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,96	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,48	0,52	0,00	0,00
HO1	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,60	0,00	0,00
HO2	0,00	1,00	0,00	0,06	0,00	0,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,58	0,42	0,00	0,00
HO3	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,58	0,42	0,00	0,00
OH1	0,00	1,00	0,14	0,03	0,00	0,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,44	0,56	0,00	0,00
OH2	0,00	1,00	0,00	0,06	0,02	0,90	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,40	0,60	0,00	0,00
OH3	0,00	1,00	0,00	0,06	0,00	0,88	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,46	0,54	0,00	0,00
O2	0,00	1,00	0,02	0,19	0,00	0,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,44	0,56	0,00	0,00
O7	0,00	1,00	0,02	0,02	0,02	0,90	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,27	0,73	0,00	0,00
O11	0,00	1,00	0,00	0,04	0,02	0,92	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02	0,38	0,56	0,02	0,02

Fortsetzung Anhang 4

	Hex				ldh						Pgd			
	95	100	104	107	85	92	96	100	108	115	85	100	110	120
HST10	0,02	0,94	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,00	0,09
HST9	0,02	0,94	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,92	0,06	0,02
HST8	0,00	0,92	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,04	0,96	0,00	0,00
HST7	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HST6	0,00	0,92	0,00	0,08	0,00	0,02	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,02
HST5	0,00	0,76	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,96	0,00	0,04
HST4	0,00	0,85	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,96	0,00	0,04
HST3	0,00	0,96	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,94	0,00	0,06
HS2	0,00	0,81	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,04	0,94	0,00	0,02
HS4	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00
HS6	0,00	1,00	0,00	0,00	0,04	0,02	0,00	0,94	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,02
HS8	0,02	0,85	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00
HS13	0,00	0,92	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00
OS2	0,00	0,10	0,00	0,90	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,04	0,78	0,07	0,11
OS3	0,00	0,19	0,06	0,75	0,00	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00	0,04	0,94	0,02	0,00
OS6	0,00	0,06	0,06	0,88	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00	0,00	0,00	0,85	0,08	0,06
OS7	0,00	0,17	0,00	0,83	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,65	0,35	0,00
OS8	0,00	0,09	0,13	0,78	0,00	0,00	0,00	0,94	0,06	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00
OS10	0,00	0,23	0,00	0,77	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,04	0,85	0,10	0,00
OD2	0,00	0,35	0,00	0,65	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,02	0,06	0,85	0,08	0,00
OD4	0,00	0,17	0,02	0,81	0,00	0,02	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OD5	0,00	0,10	0,04	0,85	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00	0,00	0,00	0,94	0,04	0,02
OD7	0,00	0,19	0,00	0,81	0,04	0,00	0,00	0,96	0,00	0,00	0,00	0,92	0,02	0,06
OD8	0,00	0,19	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,90	0,10	0,00
OD9	0,00	0,19	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,88	0,13	0,00
OD10	0,00	0,13	0,06	0,81	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,88	0,10	0,02
OD12	0,00	0,46	0,00	0,54	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,96	0,04	0,00
OD14	0,00	0,29	0,00	0,71	0,00	0,00	0,04	0,96	0,00	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00
H4	0,00	0,98	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
H9	0,00	0,98	0,00	0,02	0,00	0,00	0,04	0,96	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
H13	0,00	0,94	0,00	0,06	0,00	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HO1	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HO2	0,00	0,96	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
HO3	0,00	0,95	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
OH1	0,00	0,08	0,00	0,92	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,94	0,06	0,00
OH2	0,00	0,19	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,93	0,07	0,00
OH3	0,00	0,10	0,00	0,90	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,93	0,02	0,04
O2	0,00	0,17	0,00	0,83	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,94	0,04	0,02
O7	0,00	0,20	0,00	0,80	0,00	0,00	0,04	0,96	0,00	0,00	0,00	0,90	0,10	0,00
O11	0,00	0,26	0,00	0,74	0,00	0,02	0,02	0,96	0,00	0,00	0,00	0,95	0,05	0,00

Fortsetzung Anhang 4

	Pgm					PepA								
	10	60	100	140	155	65	70	80	85	90	95	100	108	115
HST10	0,00	0,06	0,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,71	0,23	0,00
HST9	0,00	0,10	0,79	0,02	0,08	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,85	0,02	0,00
HST8	0,00	0,08	0,83	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,81	0,15	0,00
HST7	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,02	0,00	0,00	0,69	0,25	0,00
HST6	0,06	0,00	0,90	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,13	0,06	0,00	0,73	0,08	0,00
HST5	0,00	0,02	0,94	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,21	0,06	0,00	0,60	0,13	0,00
HST4	0,00	0,06	0,88	0,00	0,06	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,00	0,88	0,04	0,04
HST3	0,00	0,00	0,94	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,02	0,58	0,29	0,00
HS2	0,00	0,00	0,90	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,10	0,02	0,10	0,65	0,13	0,00
HS4	0,00	0,00	0,94	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,10	0,02	0,10	0,67	0,10	0,00
HS6	0,00	0,15	0,79	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,04	0,02	0,02	0,73	0,19	0,00
HS8	0,00	0,00	0,90	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	0,33	0,00
HS13	0,00	0,00	0,96	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,44	0,23	0,00
OS2	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,04	0,60	0,15	0,00
OS3	0,00	0,08	0,90	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,52	0,27	0,00
OS6	0,00	0,04	0,94	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,60	0,08	0,00
OS7	0,00	0,00	0,78	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,30	0,02	0,11	0,37	0,15	0,04
OS8	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,00	0,02	0,35	0,24	0,00
OS10	0,00	0,08	0,85	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,02	0,56	0,10	0,00
OD2	0,00	0,00	0,94	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,15	0,04	0,13	0,54	0,15	0,00
OD4	0,00	0,05	0,95	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,12	0,12	0,05	0,57	0,10	0,00
OD5	0,00	0,00	0,96	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,23	0,04	0,02	0,60	0,10	0,00
OD7	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,38	0,00	0,00	0,50	0,08	0,00
OD8	0,00	0,29	0,69	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,02	0,42	0,17	0,06
OD9	0,00	0,06	0,88	0,00	0,06	0,00	0,02	0,00	0,19	0,04	0,02	0,56	0,15	0,02
OD10	0,00	0,06	0,92	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,23	0,04	0,06	0,35	0,29	0,02
OD12	0,00	0,00	0,85	0,04	0,10	0,00	0,00	0,00	0,13	0,06	0,08	0,50	0,19	0,04
OD14	0,00	0,02	0,96	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,24	0,09	0,00	0,46	0,22	0,00
H4	0,00	0,13	0,83	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,17	0,02	0,00	0,67	0,15	0,00
H9	0,00	0,08	0,90	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,21	0,04	0,00	0,48	0,23	0,04
H13	0,00	0,02	0,92	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,11	0,05	0,02	0,59	0,23	0,00
HO1	0,00	0,00	0,90	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,21	0,08	0,00	0,44	0,25	0,02
HO2	0,00	0,08	0,75	0,02	0,15	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,52	0,21	0,02
HO3	0,00	0,06	0,75	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,56	0,19	0,02
OH1	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,03	0,00	0,50	0,17	0,00
OH2	0,00	0,06	0,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,57	0,20	0,00
OH3	0,00	0,02	0,92	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,60	0,04	0,00
O2	0,00	0,06	0,88	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,06	0,60	0,17	0,00
O7	0,00	0,02	0,85	0,02	0,10	0,02	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,44	0,33	0,00
O11	0,00	0,08	0,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,07	0,61	0,17	0,02

Fortsetzung Anhang 4

	PepD								Tre					
	75	80	88	92	100	108	112	123	91	95	97	98	100	103
HST10	0,00	0,00	0,00	0,02	0,94	0,04	0,00	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	0,91	0,00
HST9	0,00	0,00	0,00	0,04	0,90	0,00	0,06	0,00	0,00	0,04	0,02	0,00	0,94	0,00
HST8	0,00	0,00	0,23	0,13	0,58	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,92	0,00
HST7	0,00	0,08	0,02	0,00	0,83	0,00	0,04	0,02	0,00	0,00	0,10	0,00	0,90	0,00
HST6	0,00	0,00	0,00	0,06	0,92	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00
HST5	0,00	0,00	0,00	0,02	0,90	0,04	0,04	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,81	0,00
HST4	0,00	0,00	0,02	0,00	0,96	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,85	0,00
HST3	0,00	0,00	0,02	0,04	0,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,93	0,00
HS2	0,00	0,00	0,00	0,19	0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00
HS4	0,00	0,00	0,00	0,08	0,85	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,92	0,00
HS6	0,00	0,00	0,08	0,10	0,69	0,10	0,02	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,90	0,00
HS8	0,00	0,00	0,31	0,00	0,52	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00
HS13	0,00	0,00	0,08	0,15	0,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00
OS2	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06	0,04	0,88	0,00
OS3	0,02	0,06	0,00	0,83	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,83	0,00
OS6	0,00	0,06	0,00	0,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,85	0,00
OS7	0,00	0,11	0,00	0,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,89	0,00
OS8	0,00	0,06	0,00	0,92	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,94	0,00
OS10	0,00	0,06	0,00	0,92	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,85	0,08
OD2	0,00	0,08	0,02	0,85	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,90	0,00
OD4	0,00	0,00	0,05	0,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,83	0,00
OD5	0,00	0,10	0,00	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,98	0,00
OD7	0,00	0,19	0,02	0,71	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,92	0,00
OD8	0,00	0,10	0,00	0,83	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,92	0,00
OD9	0,00	0,02	0,00	0,90	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,92	0,00
OD10	0,00	0,02	0,00	0,92	0,02	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,90	0,00
OD12	0,00	0,00	0,00	0,98	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,94	0,00
OD14	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,90	0,00
H4	0,00	0,00	0,02	0,10	0,83	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,80	0,00
H9	0,00	0,00	0,02	0,04	0,88	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,02	0,88	0,00
H13	0,00	0,00	0,00	0,06	0,85	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,81	0,02
HO1	0,00	0,00	0,00	0,02	0,96	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00
HO2	0,00	0,00	0,00	0,02	0,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,83	0,02
HO3	0,00	0,00	0,00	0,06	0,85	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,96	0,00
OH1	0,00	0,08	0,03	0,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,92	0,00
OH2	0,00	0,10	0,00	0,88	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,88	0,00
OH3	0,00	0,10	0,00	0,83	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,90	0,02
O2	0,00	0,10	0,00	0,83	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00
O7	0,00	0,06	0,08	0,77	0,06	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,83	0,04
O11	0,00	0,08	0,02	0,75	0,06	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,90	0,02

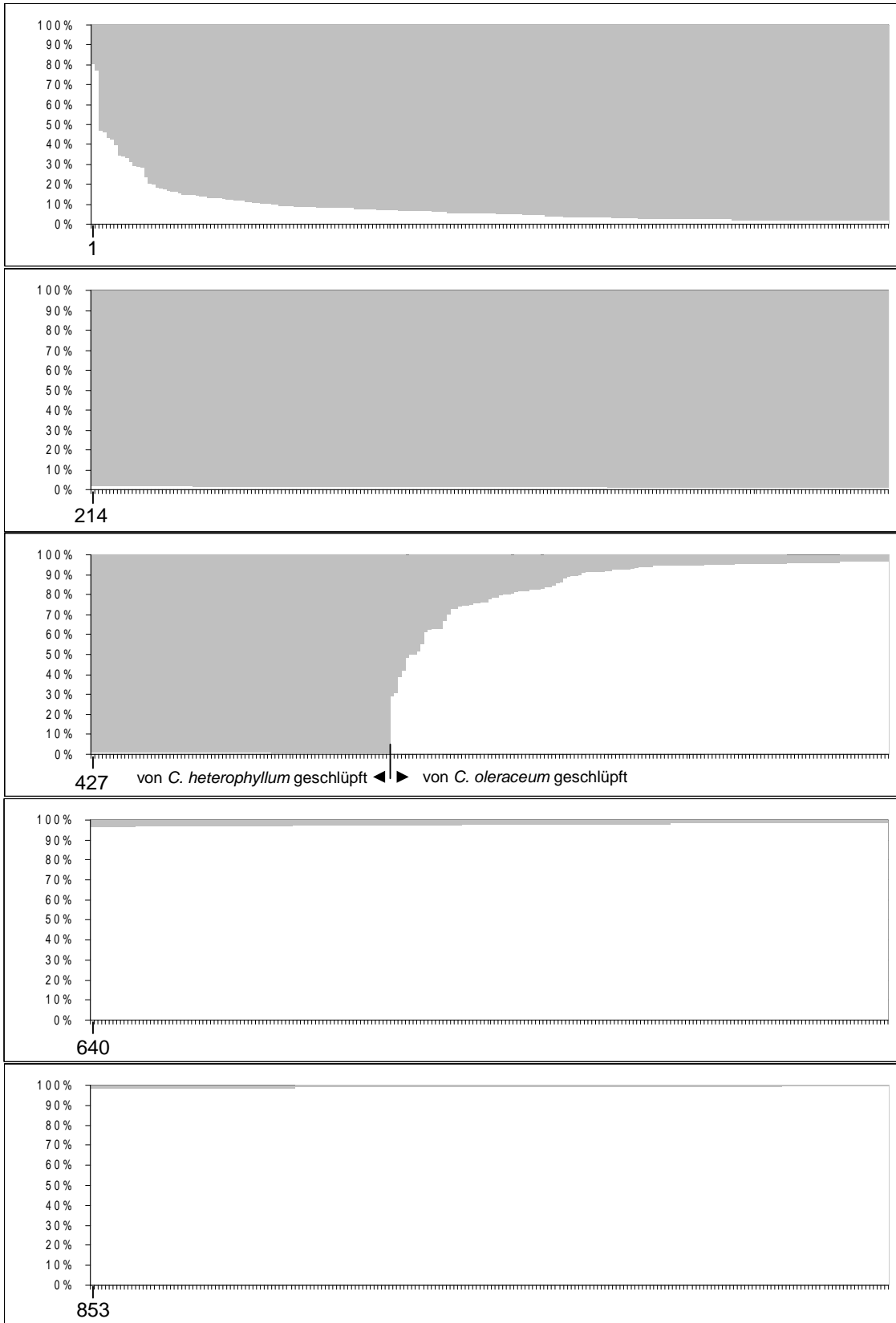
Anhang 5. Genetische Distanzen (unterhalb der Diagonalen) und Identitäten (oberhalb) zwischen allen Populationen.

	OD 2	OD 4	OD 5	OD 7	OD 8	OD 9	OD 10	OD 12	OD 14	OH 1	OH 2	OH 3	HO 1	HO 2	HO 3	O 2	O 7	O 11	H 4	H 9
OD2		0,96	0,96	0,96	0,95	0,97	0,95	0,96	0,97	0,95	0,95	0,95	0,85	0,83	0,85	0,95	0,96	0,96	0,85	0,85
OD4	0,04		0,97	0,97	0,96	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,83	0,82	0,84	0,97	0,97	0,97	0,84	0,84
OD5	0,04	0,03		0,97	0,96	0,97	0,96	0,96	0,97	0,96	0,97	0,97	0,83	0,82	0,83	0,97	0,97	0,97	0,83	0,83
OD7	0,04	0,03	0,03		0,96	0,97	0,96	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,85	0,84	0,86	0,97	0,97	0,97	0,86	0,85
OD8	0,05	0,04	0,04	0,04		0,97	0,97	0,96	0,97	0,96	0,97	0,97	0,83	0,83	0,85	0,97	0,96	0,97	0,85	0,84
OD9	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03		0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,83	0,83	0,84	0,97	0,97	0,97	0,84	0,84
OD10	0,06	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03		0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,83	0,83	0,84	0,97	0,97	0,97	0,84	0,84
OD12	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,03	0,04		0,97	0,95	0,96	0,96	0,87	0,86	0,87	0,96	0,97	0,97	0,87	0,87
OD14	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03		0,97	0,97	0,97	0,85	0,84	0,85	0,97	0,97	0,97	0,85	0,85
OH1	0,05	0,04	0,04	0,03	0,04	0,03	0,03	0,05	0,03		0,97	0,97	0,82	0,81	0,83	0,97	0,96	0,97	0,83	0,83
OH2	0,05	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03		0,97	0,84	0,84	0,85	0,97	0,97	0,97	0,85	0,85
OH3	0,05	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03		0,83	0,83	0,85	0,97	0,97	0,97	0,85	0,84
HO1	0,17	0,19	0,19	0,16	0,18	0,18	0,19	0,14	0,17	0,20	0,18	0,19		0,97	0,97	0,84	0,85	0,86	0,97	0,97
HO2	0,19	0,19	0,20	0,17	0,18	0,19	0,19	0,15	0,18	0,20	0,18	0,18	0,03		0,98	0,84	0,84	0,86	0,97	0,97
HO3	0,17	0,18	0,18	0,15	0,17	0,17	0,17	0,14	0,16	0,19	0,16	0,17	0,03	0,02		0,85	0,85	0,87	0,97	0,97
O2	0,05	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,17	0,17	0,16		0,97	0,97	0,85	0,85
O7	0,04	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,16	0,17	0,16	0,03		0,97	0,85	0,85
O11	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,15	0,15	0,14	0,03	0,03		0,88	0,87
H4	0,16	0,17	0,18	0,15	0,17	0,17	0,17	0,14	0,16	0,19	0,16	0,17	0,03	0,03	0,03	0,16	0,16	0,13		0,97
H9	0,17	0,18	0,18	0,16	0,17	0,18	0,18	0,14	0,16	0,19	0,16	0,17	0,03	0,03	0,03	0,16	0,16	0,14	0,03	
H13	0,15	0,16	0,17	0,15	0,17	0,16	0,17	0,13	0,15	0,18	0,15	0,16	0,03	0,03	0,03	0,15	0,15	0,13	0,03	0,02
OS2	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,21	0,22	0,20	0,04	0,03	0,04	0,20	0,20
OS3	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,16	0,17	0,15	0,03	0,02	0,03	0,15	0,15
OS6	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,21	0,21	0,20	0,03	0,03	0,03	0,19	0,20
OS7	0,04	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,21	0,22	0,20	0,04	0,04	0,05	0,21	0,21
OS8	0,04	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,04	0,03	0,04	0,03	0,04	0,19	0,20	0,18	0,04	0,03	0,04	0,19	0,18
OS10	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,18	0,19	0,17	0,03	0,03	0,03	0,17	0,17
HS2	0,11	0,13	0,13	0,11	0,13	0,13	0,14	0,10	0,12	0,15	0,12	0,13	0,03	0,04	0,04	0,12	0,12	0,10	0,04	0,03
HS4	0,13	0,17	0,17	0,15	0,17	0,16	0,19	0,13	0,15	0,19	0,17	0,18	0,03	0,05	0,04	0,16	0,15	0,14	0,04	0,04
HS6	0,13	0,16	0,16	0,15	0,16	0,16	0,18	0,12	0,15	0,19	0,15	0,17	0,04	0,04	0,04	0,15	0,15	0,13	0,03	0,04
HS8	0,11	0,15	0,15	0,13	0,16	0,14	0,17	0,12	0,14	0,18	0,16	0,17	0,06	0,08	0,07	0,15	0,13	0,13	0,07	0,07
HS13	0,12	0,16	0,15	0,13	0,15	0,15	0,17	0,12	0,13	0,17	0,15	0,16	0,04	0,06	0,05	0,15	0,13	0,13	0,05	0,05
HST3	0,16	0,18	0,19	0,16	0,18	0,18	0,19	0,15	0,17	0,20	0,18	0,18	0,03	0,04	0,03	0,17	0,17	0,15	0,03	0,03
HST4	0,15	0,17	0,17	0,15	0,17	0,16	0,19	0,14	0,16	0,19	0,16	0,17	0,04	0,04	0,04	0,16	0,15	0,13	0,04	0,04
HST5	0,12	0,15	0,14	0,13	0,15	0,14	0,17	0,12	0,14	0,17	0,15	0,15	0,04	0,06	0,06	0,15	0,13	0,12	0,05	0,05
HST6	0,13	0,16	0,16	0,14	0,17	0,16	0,18	0,13	0,15	0,19	0,16	0,17	0,04	0,04	0,04	0,15	0,15	0,13	0,04	0,04
HST7	0,15	0,18	0,18	0,16	0,18	0,17	0,19	0,14	0,16	0,20	0,16	0,18	0,03	0,04	0,04	0,17	0,16	0,14	0,03	0,03
HST8	0,11	0,15	0,15	0,13	0,15	0,14	0,17	0,12	0,14	0,17	0,15	0,16	0,06	0,07	0,06	0,14	0,14	0,12	0,05	0,06
HST9	0,15	0,18	0,17	0,16	0,17	0,17	0,19	0,14	0,16	0,20	0,16	0,17	0,04	0,04	0,04	0,16	0,16	0,14	0,04	0,04
HST10	0,14	0,18	0,18	0,15	0,18	0,17	0,19	0,14	0,16	0,20	0,17	0,18	0,04	0,05	0,04	0,17	0,16	0,14	0,04	0,04

Fortsetzung Anhang 5

	H 13	OS 2	OS 3	OS 6	OS 7	OS 8	OS 10	HS 2	HS 4	HS 6	HS 8	HS 13	HST 3	HST 4	HST 5	HST 6	HST 7	HST 8	HST 9	HST 10
OD2	0,86	0,97	0,96	0,96	0,96	0,96	0,97	0,90	0,88	0,87	0,90	0,89	0,85	0,86	0,89	0,88	0,86	0,90	0,86	0,87
OD4	0,85	0,97	0,97	0,97	0,95	0,96	0,97	0,88	0,85	0,85	0,86	0,86	0,83	0,85	0,86	0,85	0,84	0,86	0,84	0,84
OD5	0,84	0,97	0,97	0,97	0,95	0,97	0,97	0,88	0,84	0,85	0,86	0,86	0,82	0,85	0,87	0,85	0,84	0,86	0,84	0,84
OD7	0,86	0,97	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97	0,89	0,86	0,86	0,87	0,88	0,86	0,86	0,88	0,87	0,85	0,88	0,85	0,86
OD8	0,85	0,96	0,97	0,97	0,96	0,96	0,97	0,88	0,84	0,85	0,85	0,86	0,84	0,84	0,86	0,85	0,83	0,86	0,84	0,84
OD9	0,85	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,88	0,85	0,85	0,87	0,86	0,84	0,85	0,87	0,85	0,84	0,87	0,84	0,84
OD10	0,85	0,96	0,97	0,96	0,95	0,97	0,96	0,87	0,83	0,84	0,84	0,85	0,83	0,83	0,84	0,83	0,83	0,84	0,83	0,83
OD12	0,88	0,96	0,97	0,96	0,95	0,96	0,97	0,91	0,88	0,89	0,89	0,89	0,86	0,87	0,88	0,88	0,87	0,89	0,87	0,87
OD14	0,86	0,97	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97	0,89	0,86	0,86	0,87	0,87	0,85	0,85	0,87	0,86	0,85	0,87	0,85	0,85
OH1	0,83	0,96	0,97	0,97	0,95	0,96	0,96	0,86	0,82	0,83	0,84	0,84	0,82	0,83	0,84	0,83	0,82	0,84	0,82	0,82
OH2	0,86	0,97	0,97	0,97	0,95	0,97	0,97	0,88	0,85	0,86	0,85	0,86	0,84	0,85	0,86	0,85	0,85	0,86	0,85	0,84
OH3	0,85	0,97	0,97	0,97	0,95	0,97	0,97	0,88	0,84	0,85	0,84	0,85	0,83	0,85	0,86	0,85	0,84	0,86	0,84	0,83
HO1	0,97	0,81	0,85	0,81	0,81	0,83	0,84	0,97	0,97	0,96	0,94	0,97	0,97	0,96	0,96	0,97	0,97	0,94	0,96	0,97
HO2	0,97	0,80	0,85	0,81	0,80	0,82	0,83	0,96	0,95	0,96	0,92	0,95	0,96	0,96	0,95	0,96	0,96	0,94	0,96	0,96
HO3	0,97	0,82	0,86	0,82	0,82	0,83	0,84	0,97	0,96	0,96	0,93	0,95	0,97	0,96	0,95	0,96	0,96	0,95	0,96	0,96
O2	0,86	0,97	0,97	0,97	0,96	0,96	0,97	0,89	0,85	0,86	0,86	0,86	0,85	0,85	0,86	0,86	0,85	0,87	0,85	0,84
O7	0,86	0,97	0,98	0,97	0,96	0,97	0,97	0,89	0,86	0,86	0,88	0,88	0,85	0,86	0,88	0,86	0,85	0,87	0,85	0,85
O11	0,88	0,97	0,97	0,97	0,95	0,96	0,97	0,90	0,87	0,88	0,88	0,88	0,86	0,88	0,88	0,88	0,87	0,89	0,87	0,87
H4	0,98	0,82	0,86	0,82	0,81	0,83	0,84	0,96	0,96	0,97	0,93	0,95	0,97	0,96	0,95	0,96	0,97	0,95	0,96	0,96
H9	0,98	0,81	0,86	0,82	0,81	0,84	0,84	0,97	0,96	0,96	0,93	0,96	0,97	0,96	0,95	0,96	0,97	0,94	0,96	0,96
H13		0,83	0,87	0,83	0,82	0,84	0,85	0,97	0,97	0,97	0,94	0,96	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97	0,95	0,97	0,97
OS2	0,19		0,97	0,98	0,96	0,97	0,97	0,87	0,83	0,83	0,85	0,85	0,82	0,83	0,85	0,84	0,82	0,85	0,82	0,83
OS3	0,14	0,03		0,97	0,96	0,97	0,97	0,89	0,86	0,87	0,88	0,88	0,85	0,86	0,88	0,87	0,86	0,88	0,86	0,86
OS6	0,19	0,02	0,03		0,96	0,97	0,97	0,87	0,83	0,83	0,85	0,85	0,82	0,83	0,85	0,84	0,82	0,85	0,83	0,83
OS7	0,20	0,04	0,04	0,04		0,95	0,96	0,86	0,82	0,82	0,84	0,84	0,81	0,82	0,84	0,83	0,81	0,84	0,81	0,82
OS8	0,17	0,04	0,03	0,03	0,05		0,97	0,87	0,84	0,84	0,85	0,87	0,83	0,83	0,86	0,84	0,83	0,85	0,83	0,83
OS10	0,16	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03		0,89	0,86	0,86	0,87	0,87	0,83	0,85	0,87	0,86	0,84	0,87	0,85	0,85
HS2	0,03	0,14	0,11	0,14	0,15	0,14	0,12		0,97	0,97	0,95	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97
HS4	0,03	0,18	0,15	0,18	0,19	0,18	0,16	0,03		0,97	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,98	0,97	0,97	0,97	0,97
HS6	0,03	0,18	0,14	0,18	0,19	0,17	0,15	0,03	0,03		0,96	0,96	0,96	0,97	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97
HS8	0,06	0,16	0,13	0,17	0,18	0,16	0,14	0,05	0,04	0,04		0,96	0,94	0,95	0,96	0,96	0,95	0,97	0,94	0,96
HS13	0,05	0,16	0,13	0,17	0,17	0,14	0,14	0,04	0,04	0,04	0,04		0,95	0,95	0,97	0,97	0,96	0,95	0,95	0,96
HST3	0,03	0,20	0,16	0,20	0,21	0,19	0,18	0,04	0,03	0,04	0,06	0,05		0,96	0,95	0,97	0,97	0,96	0,96	0,97
HST4	0,03	0,18	0,15	0,18	0,20	0,18	0,16	0,03	0,03	0,03	0,06	0,05	0,04		0,97	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97
HST5	0,04	0,16	0,12	0,16	0,17	0,15	0,13	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,05	0,03		0,97	0,96	0,95	0,96	0,97
HST6	0,03	0,18	0,14	0,18	0,19	0,17	0,15	0,03	0,02	0,03	0,05	0,04	0,03	0,03	0,03		0,97	0,96	0,97	0,98
HST7	0,03	0,20	0,15	0,20	0,21	0,18	0,17	0,03	0,03	0,03	0,05	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03		0,96	0,97	0,97
HST8	0,05	0,16	0,13	0,16	0,17	0,17	0,14	0,04	0,03	0,03	0,03	0,05	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05		0,95	0,96
HST9	0,03	0,19	0,15	0,19	0,20	0,19	0,16	0,03	0,03	0,03	0,06	0,05	0,04	0,03	0,04	0,03	0,03	0,05		0,97
HST10	0,03	0,19	0,15	0,19	0,20	0,18	0,17	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03	0,04	0,03	

Anhang 6. Graphische Übersicht der *Structure*-Klassifikation. Jeder Teilstrich auf der X-Achse entspricht einem Individuum. Für jedes Individuum wurde aufgetragen, mit welcher Wahrscheinlichkeit es zur *Oleraceum*-Wirtsrasse (weiß) bzw. *Heterophyllum*-Wirtsrasse (grau) gehört.



Anhang 7. Basenunterschiede zwischen den Haplotypen des Locus CO I/II. Für H1 sind die Sites aller Basen angegeben, die zwischen Haplotypen variieren, für die anderen Haplotypen nur jene, die von H1 abweichen.

	17	26	44	170	179	185	192	253	278	283	290	351	364-366	365	377	386	389	396	524	Σ
H1	C	T	A	C	A	T	A	-	A	C	T	-	TAA	A	T	T	T	C	T	198
H2				T					C											8
H3				T			G		C											6
H4																	C			10
H5																C	C			1
H6														G			C			1
H7					G					T						C				1
H8																		T		2
H9															C					1
H10															C		C			1
H11																			C	2
H12		C																		1
H13	T																			2
H14			G							T										1
H15						C														1
H16											C									2
H17												CAT	-							1
H18								A												2

Anhang 8. Basenunterschiede zwischen den Haplotypen des Locus 16S/ND1. Ansonsten siehe Anhang 6.

	105	117	134	174	201	249	392	425	430	462-464	494	500
	C	G	T	A	A	A	T	A	-	ATC	G	C
	T											
		A				G					A	
											A	
		A										
		C										
			G									
							C					
			C									
			C							-		
								T				
												-
					G				AT			

Anhang 9. Zusammensetzung der Gesamthaplotypen.

Gesamthaplotyp	Haplotyp CO I/II	Haplotyp 16S/ND1	N
H1	H1	H1	129
H2	H1	H2	23
H3	H2	H2	1
H4	H1	H3	1
H5	H2	H3	7
H6	H3	H3	6
H7	H1	H4	29
H8	H16	H4	1
H9	H4	H1	9
H10	H5	H1	1
H11	H4	H4	1
H12	H6	H4	1
H13	H8	H1	2
H14	H7	H13	1
H15	H1	H8	2
H16	H9	H1	1
H17	H10	H1	1
H18	H11	H1	2
H19	H1	H6	2
H20	H12	H6	1
H21	H1	H7	1
H22	H1	H12	2
H23	H1	H10	3
H24	H1	H11	1
H25	H14	H1	1
H26	H15	H1	1
H27	H1	H9	2
H28	H16	H1	1
H29	H13	H1	2
H30	H1	H5	3
H31	H17	H1	1
H32	H18	H14	2

Anhang 10. Haplotypenverteilung und Diversitätsparameter für alle Populationen. Pop. = Populationen; N_i = Anzahl Individuen; N_H = Anzahl gefundener Haplotypen; MNPD = mittlere Anzahl paarweiser Unterschiede; π = Nukleotiddiversität.

Pop.	N_i	Haplotypenverteilung	N_H	MNPD	π
HSc2	4	H1	1	-	-
HSc6	4	H1 H30	2	0,50	0,046
HST11	3	H1 H7 H9	3	2,00	0,185
HST10	4	H1 H7 H9 H11	4	2,00	0,185
HST9	4	H1 H7	2	1,00	0,093
HST8	4	H1	1	-	-
HST7	4	H1 H7 H9	3	1,67	0,154
HST6	4	H7 H9	2	1,50	0,139
HST5	4	H1 H7	2	1,33	0,123
HST4	4	H1 H7	2	1,00	0,093
HST3	4	H1 H7	2	1,00	0,093
HS2	4	H7	1	-	-
HS4	4	H1 H7 H13	3	1,50	0,139
HS6	4	H1 H7 H13	3	1,50	0,139
HS8	4	H7 H12	2	1,00	0,093
HS13	4	H1 H7 H8	3	1,50	0,139
OS2	4	H1 H15	2	0,50	0,046
OS3	4	H1	1	-	-
OS6	4	H1 H15 H19	3	1,00	0,093
OS7	4	H1	1	-	-
OS8	4	H1 H16	2	0,50	0,046
OS10	4	H1 H17 H20	3	2,00	0,185
HF2	4	H1 H9 H10	3	1,17	0,108
HF4	1	H1	1	-	-
HF6	5	H1 H9	2	0,60	0,056
OD2	4	H1	1	-	-
OD4	4	H1	1	-	-
OD5	4	H1	1	-	-
OD7	4	H1	1	-	-
OD8	3	H1	1	-	-
OD9	3	H1 H22	2	0,67	0,062

Fortsetzung Anhang 10

Pop.	N_i	Haplotypenverteilung				N_H	MNPD	π
OD10	4	H1				1	-	-
OD12	4	H1		H23	2	0,50	0,046	
OD14	4	H1				1	-	-
OD15	2	H1			1	-	-	
HE2	3	H2	H5		2	2,67	0,247	
HE3	4	H2	H5		2	2,67	0,247	
HE4	4	H2	H3	H4	3	2,00	0,185	
HE5	4	H1	H2	H5	3	2,17	0,200	
H4	4	H2		H6	2	2,50	0,231	
H9	4	H2		H6	2	2,50	0,231	
H13	4	H2		H6	2	2,50	0,231	
HO1	4	H2	H5	H6	3	2,67	0,247	
HO2	4	H2				1	-	-
HO3	4	H2	H5	H6	3	2,50	0,231	
OH1	4	H1				1	-	-
OH2	4	H1				1	-	-
OH3	4	H1		H21	2	0,50	0,046	
O2	3	H1			1	-	-	
O7	4	H1				1	-	-
O11	4	H1				1	-	-
HA1	4	H1	H18	H19	3	1,00	0,093	
HA2	4	H1		H18	2	0,50	0,046	
OA1	4	H1	H26	H30	3	1,00	0,093	
OA2	4	H23	H24	H25	3	2,00	0,185	
OA3	4	H1	H27	H28	3	1,17	0,108	
OK1	6	H1			H31	2	0,33	0,031
OR1	3	H1				1	-	-
OR3	9	5x H1	H7	H29	H30	4	1,00	0,093
HR2	4	H1		H7		2	1,33	0,123
HR3	4	H9	H32	H14		3	4,50	0,416

Anhang 11. Ergebnisse der Nested Clade Analysis (alle Populationen). Grau unterlegte Kladen sind Interior-Kladen; signifikant kleine Distanzparameter sind blau gefärbt, signifikant große Distanzparameter sind rot gefärbt; $D_C(X)$ = durchschnittliche Distanz aller Individuen der Klade X vom geographischen Zentrum der Klade X; $D_N(X)$ = durchschnittliche Entfernung der Individuen der Klade X zur nächst höheren gelegenen Klade Y; $(I-T)_C$ = Distanzunterschiede zwischen den inneren und äußeren Kladen innerhalb der Klade X; $(I-T)_N$ = Distanzunterschiede zwischen den inneren und den äußeren Kladen von Klade X und Y.

0-step		H1	H2	H13	H15	H18	H21	H22	H26	H27	H28	H29	H30	H31	H23	H24	H16	H17	H9	H10	H19	H20	H3
D_C		700,07	52,71	294,16	24,91	30,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1117,9	0,00	111,51	0,00	0,00	0,00	432,69	0,00	520,09	0,00	
D_N		697,46	350,67	327,36	324,65	731,99	394,51	547,38	640,69	548,43	548,43	2171,4	1150,5	827,14	104,53	63,03	28,20	28,19	434,59	139,84	520,12	331,47	
$(I-T)_C$							550,06								111,51		0,00	0,00	432,69		520,09		
$(I-T)_N$							-63,56								41,50		0,00	0,00	294,75		188,65		
1-step		1-1																					
D_C		653,08																					
D_N		663,46																					
$(I-T)_C$		353,14																					
$(I-T)_N$		-208,37																					

0-step		H5	H6	H4	H32	H25	H14	H11	H12	H7	H8
D_C		54,39	4,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	475,50	0,00
D_N		64,96	48,89	466,96	472,52	475,82	412,75				
$(I-T)_C$		49,77		0,00							
$(I-T)_N$		16,07		-5,56							
1-step		1-7		1-8		1-9		1-10		1-11	
D_C		57,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	469,73	473,71		
D_N		58,44	30,04	1463,0	1343,4	493,67	470,88				
$(I-T)_C$		-57,96		0,00	0,00	3,97					
$(I-T)_N$		-28,40		119,66	-22,78						
2-step		2-1		2-2		2-3		2-4		2-5	
D_C		684,81	55,93	0,00	1403,19	472,32					
D_N		705,29	468,96	2115,83	1480,39	685,04					
$(I-T)_C$				310,74							
$(I-T)_N$				-8,29							

Anhang 12. Ergebnisse der Nested Clade Analysis (Heterophyllum-Populationen). Grau unterlegte Klade sind Interior-Kladen; signifikant kleine Distanzparameter sind blau gefärbt, signifikant große Distanzparameter sind rot gefärbt; $D_C(X)$ = durchschnittliche Distanz aller Individuen der Klade X vom geographischen Zentrum der Klade X; $D_N(X)$ = durchschnittliche Entfernung der Individuen der Klade X zur nächst höheren gelegenen Klade Y; $(I-T)_C$ = Distanzunterschiede zwischen den inneren und äußeren Klade innerhalb der Klade X; $(I-T)_N$ = Distanzunterschiede zwischen den inneren und den äußeren Klade von Klade X und Y.

0-step	H1	H2	H13	H18	H19	H30	H3	H9	H10	H11	H12	H7	H8	H5	H6	H4	H14	H32
D_C	767,93	50,74	7,45	30,18	0,00	0,00		432,69	0,00	0,00	0,00	450,18	0,00	60,45	4,88			
D_N	875,79	521,01	112,94	894,83	880,76	1114,99		434,59	139,84	466,96	472,52	451,12	396,30	64,73	37,95			
$(I-T)_C$				725,10				432,69		0,00		450,18		55,57				
$(I-T)_N$				324,26				294,75		-5,56		54,82		26,77				
1-step	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6	1-7	1-8	1-9									
D_C	742,64	0,00	432,69	469,74	449,25	52,68	0,00											
D_N	754,83	582,59	1042,99	486,91	447,23	53,76	41,63											
$(I-T)_C$		353,22																
$(I-T)_N$		-242,12																
2-step	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5													
D_C	784,00	478,18	52,92	0,00	0,00													
D_N	797,12	562,06	675,69	2010,24	2010,24													
$(I-T)_C$		459,744																
$(I-T)_N$		111,40																

Anhang 13. Ergebnisse der Nested Clade Analysis (Oleraceum-Populationen). Grau unterlegte Kladen sind Interior-Kladen; signifikant kleine Distanzparameter sind blau gefärbt, signifikant große Distanzparameter sind rot gefärbt; $D_C(X)$ = durchschnittliche Distanz aller Individuen der Klade X vom geographischen Zentrum der Klade X; $D_N(X)$ = durchschnittliche Entfernung der Individuen der Klade X zur nächst höheren gelegenen Klade Y; $(I-T)_C$ = Distanzunterschiede zwischen den inneren und äußeren Kladen innerhalb der Klade X; $(I-T)_N$ = Distanzunterschiede zwischen den inneren und den äußeren Kladen von Klade X und Y.

0-step		H1	H15	H21	H22	H26	H27	H28	H29	H31	H25	H23	H24	H19	H20	H7	H30	H16	H17
D_C		508,47	24,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		42,67	0,00	0,00	0,00	0,00	1154,14	0,00	0,00
D_N		512,26	497,43	242,74	452,76	468,41	380,29	380,29	2269,20	658,31		40,01	24,02	11,29	11,29	1342,58	1325,51	28,20	28,19
$(I-T)_C$						504,322						42,67		0,00		1154,14		0,00	
$(I-T)_N$						-233,50						15,99		0,00		-17,06		0,00	
1-step		1-1	1-2								1-3	1-4	1-5	1-6					
D_C		523,23	0,00								36,01	11,29	1329,53	28,20					
D_N		523,07	561,15								589,57	508,41	1316,15	499,89					
$(I-T)_C$			172,26																
$(I-T)_N$			-217,30																

Anhang 14. Mittlere Flügellänge \pm Standardabweichung (N) aller Populationen, bei denen Männchen und Weibchen analysiert wurden (Datensatz A).

Population	Wirt	Flügellänge [mm]			
		Männchen		Weibchen	
HST10	<i>hetero</i>	3,600 \pm 0,110	(11)	3,775 \pm 0,119	(11)
HST9	<i>hetero</i>	3,585 \pm 0,123	(12)	3,706 \pm 0,113	(4)
HST8	<i>hetero</i>	3,626 \pm 0,067	(11)	3,812 \pm 0,107	(11)
HST7	<i>hetero</i>	3,549 \pm 0,094	(12)	3,658 \pm 0,172	(11)
HST6	<i>hetero</i>	3,586 \pm 0,092	(12)	3,792 \pm 0,091	(12)
HST5	<i>hetero</i>	3,536 \pm 0,102	(12)	3,674 \pm 0,200	(11)
HST4	<i>hetero</i>	3,601 \pm 0,100	(9)	3,806 \pm 0,145	(11)
HST3	<i>hetero</i>	3,610 \pm 0,220	(10)	3,799 \pm 0,105	(11)
HS2	<i>hetero</i>	3,394 \pm 0,083	(11)	3,365 \pm 0,184	(10)
HS4	<i>hetero</i>	3,493 \pm 0,149	(12)	3,754 \pm 0,095	(11)
HS6	<i>hetero</i>	3,579 \pm 0,090	(11)	3,751 \pm 0,102	(12)
HS8	<i>hetero</i>	3,571 \pm 0,057	(12)	3,752 \pm 0,111	(9)
HS13	<i>hetero</i>	3,475 \pm 0,096	(11)	3,614 \pm 0,195	(12)
OS2	<i>olera</i>	3,475 \pm 0,098	(9)	3,673 \pm 0,077	(13)
OS3	<i>olera</i>	3,595 \pm 0,098	(12)	3,773 \pm 0,163	(11)
OS6	<i>olera</i>	3,556 \pm 0,091	(11)	3,720 \pm 0,090	(10)
OS7	<i>olera</i>	3,520 \pm 0,073	(13)	3,715 \pm 0,079	(7)
OS8	<i>olera</i>	3,604 \pm 0,088	(12)	3,797 \pm 0,089	(12)
OS10	<i>olera</i>	3,553 \pm 0,073	(12)	3,667 \pm 0,111	(11)
OD2	<i>olera</i>	3,443 \pm 0,194	(9)	3,666 \pm 0,147	(10)
OD4	<i>olera</i>	3,580 \pm 0,110	(4)	3,776 \pm 0,102	(16)
OD5	<i>olera</i>	3,601 \pm 0,081	(11)	3,801 \pm 0,101	(12)
OD7	<i>olera</i>	3,555 \pm 0,134	(12)	3,806 \pm 0,120	(12)
OD8	<i>olera</i>	3,612 \pm 0,094	(11)	3,922 \pm 0,077	(12)
OD9	<i>olera</i>	3,542 \pm 0,106	(12)	3,656 \pm 0,231	(10)
OD10	<i>olera</i>	3,487 \pm 0,139	(10)	3,730 \pm 0,150	(10)
OD12	<i>olera</i>	3,529 \pm 0,239	(12)	3,778 \pm 0,121	(10)
OD14	<i>olera</i>	3,350 \pm 0,157	(12)	3,591 \pm 0,214	(11)
H4	<i>hetero</i>	3,526 \pm 0,070	(11)	3,720 \pm 0,113	(12)
H9	<i>hetero</i>	3,516 \pm 0,096	(10)	3,847 \pm 0,077	(11)
H13	<i>hetero</i>	3,543 \pm 0,091	(12)	3,753 \pm 0,066	(12)
HO1	<i>hetero</i>	3,587 \pm 0,092	(12)	3,788 \pm 0,108	(11)
HO2	<i>hetero</i>	3,445 \pm 0,138	(12)	3,758 \pm 0,103	(10)
HO3	<i>hetero</i>	3,543 \pm 0,078	(11)	3,758 \pm 0,171	(10)
OH1	<i>olera</i>	3,526 \pm 0,073	(7)	3,668 \pm 0,137	(10)
OH2	<i>olera</i>	3,554 \pm 0,086	(11)	3,729 \pm 0,204	(11)
OH3	<i>olera</i>	3,470 \pm 0,248	(12)	3,781 \pm 0,226	(12)
O2	<i>olera</i>	3,647 \pm 0,075	(10)	3,726 \pm 0,196	(12)
O7	<i>olera</i>	3,503 \pm 0,120	(12)	3,658 \pm 0,185	(11)
O11	<i>olera</i>	3,512 \pm 0,108	(12)	3,710 \pm 0,082	(12)

Fortsetzung Anhang 15

Ind.	Einstiche	Befallspuren	nicht geschlüpfte Puppen	F1	F1 ♂	F1 ♀	Flügel [mm]	Ovipositor [mm]
H37								
H38								
H39								
H40	ja	ja					3,69	1,495
H41								
H42								
H43	ja	ja						1,674
H44	ja	?					3,68	1,671
H45								
O1	ja	ja	0	6	3	3	3,65	1,729
O2	ja	ja	0	2	2	0		
O3	ja	?					3,82	1,632
O4	ja	ja	0	11	5	6	3,73	1,465
O5	ja	ja	0	10	7	3	3,90	
O6	ja	ja	0	10	5	5	3,86	1,664
O7	ja	ja	0	7	3	4	3,77	1,534
O8	ja	ja						1,660
O9	ja	ja	8	4	3	1		1,743
O10	ja	ja	16	0	0	0	4,13	1,652
O11	ja	ja	0	8	3	5	3,80	1,609
O12	ja	ja	0	1	0	1	3,46	
O13	ja						3,75	1,459
O14	ja	ja	0	17	5	12		1,638
O15	ja						3,92	1,507
O16	ja	ja	0	1	1	0	-	-
O17	ja	ja	0	10	3	7	3,64	1,495
O18								
O19	ja	ja	1	6	4	2		1,584
O20	ja	ja	0	2	0	2		1,481
O21	ja	ja	0	4	1	3		1,454
O22	ja	ja	0	4	3	1	3,84	1,669
O23	ja	ja	0	2	1	1		1,501
O24	ja	ja	1	0	0	0	3,56	1,522
O25								
O26								
O27	ja	ja	0	6	4	2		1,557
O28	ja	ja	0	2	1	1		1,373

Anhang 16. Allelfrequenzen der Parentalpopulationen am Hybridstandort. HOE = Heterophyllum-Fliegen, OHE = Oleraceum-Fliegen.

	HOE	OHE		HOE	OHE
Got 65	0,01	0,06	Idh 92		0,03
100	0,98	0,87	100	1,00	0,96
125		0,08	108		0,01
145	0,01		<i>N</i>	54	37
<i>N</i>	44	26			
			Pgd 100	1,00	0,99
Hbdh -100	0,53	0,35	110		0,01
00	0,47	0,65	<i>N</i>	44	37
<i>N</i>	32	27			
			PepD 80		0,03
Hex 100	0,91	0,34	88	0,02	0,01
107	0,09	0,66	92	0,02	0,88
<i>N</i>	44	37	100	0,95	0,03
			108		0,05
			<i>N</i>	43	37

Anhang 17. Übersicht der Blütenköpfe von Hybridpflanzen, aus denen *T. conura* geschlüpft sind. BK = Blütenkopf (die erste Ziffer bezeichnet die Hybridpflanze), H = Heterophyllum-Paarung, O = Oleraceum-Paarung, HY = Hybridpaarung. In der Spalte "Eltern" wurden nur Angaben gemacht, wenn im entsprechenden Blütenkopf Fliegen waren, deren Genotypen die Wirtsrassenzugehörigkeit der Eltern zu mindestens 95% wahrscheinlich machten.

BK	Schlüpfdatum	F1 ♂	F1 ♀	F1	BK [mm]	Eltern
1.1	22.07.2004	4	7	11	1,91	H
1.2	25.07.2004	2	2	4	1,20	H
2.1	25.07.2004	2	1	3	1,46	H
2.2	25.07.2004	1	0	1	1,65	
2.3	21.07.2004	2	3	5	1,63	O
2.4	22.07.2004	7	2	9	1,60	O
2.5	25.07.2004	2	1	3	1,51	O
2.6	25.07.2004	0	2	2	1,39	O
2.7	27.07.2004	2	1	3	1,18	O
2.8	26.07.2004	1	3	4		O
2.9	23.07.2004	2	2	4	1,54	H/HY
3.1	25.07.2004	1	0	1		O
3.2	27.07.2004	1	4	5	1,49	O/H
3.3	22.07.2004	12	12	24	2,10	H/H/O/HY
3.4	25.07.2004	1	4	5		HY
3.5	25.07.2004	7	4	11	1,78	H/HY
3.6	25.07.2004	2	1	3	1,64	O/H
3.7	26.07.2004	7	6	13	1,85	O/H
3.8	25.07.2004	7	6	13	1,93	H
3.9	24.07.2004	4	3	7	1,80	HY/O
4.1	23.07.2004	1	4	5	1,63	HY
4.2		1	0	1	1,35	
4.3	25.07.2004	3	6	9	1,71	H
4.4	26.07.2004	1	0	1	1,48	O
4.5	18.07.2004	6	0	6	2,48	H
4.6	18.07.2004	5	5	10	2,75	H
4.7	27.07.2004	0	2	2	1,72	H
4.8	25.07.2004	0	2	2	1,40	O
4.9	18.07.2004	7	2	9	2,15	H
4.10	18.07.2004	8	5	13	2,40	H
4.11	27.07.2004	1	3	4	1,60	H
4.12	25.07.2004	1	0	1	1,59	
4.13	23.07.2004	3	3	6	2,06	H
5.1	23.07.2004	6	1	7	1,88	H
5.2	25.07.2004	5	1	6	1,46	H
6.1	27.07.2004	3	1	4	1,58	H
6.2	23.07.2004	8	5	13	1,75	H/O/HY
6.3	25.07.2004	2	4	6	1,60	O/H
6.4	25.07.2004	0	1	1	1,60	O
6.5	25.07.2004	12	4	16	2,00	O/H
6.6	27.07.2004	1	2	3	1,64	O
6.7		2	1	3	1,30	
6.8	21.07.2004	3	1	4	2,00	H
6.9	21.07.2004	1	0	1	2,25	
7.1	29.07.2004	0	4	4	1,71	O
8.1	27.07.2004	0	1	1	1,39	O
9.1	26.07.2004	4	2	6	1,59	H
9.2	29.07.2004	1	2	3	1,50	O/H
9.3	23.07.2004	3	0	3	1,80	H
9.4	23.07.2004	4	9	13	1,70	H
9.5	25.07.2004	6	4	10		H
9.6	23.07.2004	4	2	6	1,83	H
9.7	21.07.2004	0	1	1		H
9.8	25.07.2004	4	0	4	1,49	H