

Vom Fachbereich VI (Geographie/Geowissenschaften) der Universität Trier
zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.) genehmigte Dissertation

**Untersuchung der genetischen Diversität ausgewählter
Populationen der Mauereidechse (*Podarcis muralis*,
Laurenti 1768) mit Hilfe der Mikrosatelliten-DNA-Analyse**

Vorgelegt von

Franz Gassert

Trier, 2005

Betreuer: Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Paul Müller

Berichterstattende: Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Paul Müller

PD Dr. Ralf Kautenburger

Datum der Disputation: 14.12.2005

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Modellorganismus	5
2.1 Die Mauereidechse - <i>Podarcis muralis</i> (LAURENTI, 1768)	5
2.2 Verbreitung	6
2.2.1 Rezente Verbreitung	6
2.2.2 Historische Besiedlung der nördlichen Verbreitungsgebiete	9
2.2.3 Unterartgliederung	12
2.2.3.1 <i>Podarcis muralis brogniardi</i> (DAUDIN, 1802)	12
2.2.3.2 <i>Podarcis muralis merremia</i> (RISSO, 1826).....	12
2.2.3.3 <i>Podarcis muralis nigriventris</i> (BONAPARTE, 1838).....	12
2.2.3.4 <i>Podarcis muralis maculiventris</i> (WERNER, 1891)	12
2.2.3.5 <i>Podarcis muralis muralis</i> (LAURENTI, 1768).....	13
2.2.3.6 <i>Podarcis muralis albanica</i> (BOLKAY, 1919)	13
2.2.3.7 <i>Podarcis muralis breviceps</i> (BOULENGER, 1905) und <i>Podarcis muralis colosii</i> (TADDEI, 1949).....	13
2.2.4 Habitatansprüche	13
2.3 Gefährdung.....	15
2.3.1.1 Fressfeinde und Ektoparasiten	15
2.3.1.2 Weitere Gefährdungsursachen.....	16
3 Untersuchungsgebiete	19
3.1 Italien	20
3.1.1 Abruzzen	20
3.2 Kroatien	20
3.2.1 Istrien	20
3.3 Frankreich.....	20
3.3.1 Provence	20
3.3.2 Lothringen	20
3.4 Deutschland.....	21

3.4.1 Rheinland-Pfalz.....	21
3.4.2 Nordrhein-Westfalen	21
3.5 Belgien.....	21
3.5.1 Anhée.....	21
4 Material und Methoden	22
4.1 Kartierung	22
4.1.1 Die Populationen von Alba fucens	22
4.1.2 Die Populationen der Stadt Pula	23
4.1.3 Die Populationen von St. Martin d´ Ardèche	24
4.1.4 Die Population von Bitche	26
4.1.5 Die Population der Stadt Trier	27
4.1.6 Die Population der Urft-Talsperre.....	29
4.1.7 Die Population von Anhée.....	30
5 Populationsgenetik	32
5.1 Stand der Forschung	44
5.2 Probenmaterial	46
5.3 RAPD-PCR.....	46
5.4 Submarine Agarose-Gelelektrophorese.....	48
5.4.1 Probegel.....	48
5.4.2 Elektrophoretische Auftrennung der PCR-Produkte	48
5.5 Molekulargenetische Methode, Mikrosatelliten-DNA-Analyse.....	49
5.5.1 DNA-Isolierung.....	55
5.5.2 Konzentrations- und Reinheitsbestimmung.....	55
5.6 Automatische DNA-Analyse.....	56
5.6.1 DNA-Sequenzierung nach SANGER.....	58
5.6.2 Taq Cycle Sequencing	59
5.7 Statistische Auswertemethoden.....	60
5.7.1 Heterozygotie (H)	61
5.7.1.1 Inzucht-Koeffizient F_{IS} (WEIR, 1990)	62
5.7.2 Genetische Diversität	63

5.7.2.1	Shannon-Information-Index (LEWONTIN 1972)	63
5.7.2.2	Gene-Diversity bzw. H_E nach NEI (1973)	63
5.7.3	F -Statistik	63
5.7.3.1	IAM basierte F -Statistik (NEI 1977)	65
5.7.4	Φ -Statistik	65
5.7.4.1	Die Φ -Statistik nach WEIR & COCKERHAM (1984).....	66
5.7.4.2	Genfluss (SLATKIN & BARTON 1989)	66
5.7.5	Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.....	69
5.7.6	Genetische Distanzen	70
5.7.7	Test auf „Isolation by distance“	71
5.8	Weitere statistische Auswertemethoden	71
5.8.1	Clusteranalyse und Berechnung von Dendrogrammen.....	71
5.8.2	Faktorenanalyse, Hauptkomponentenanalyse	73
5.8.3	Varianzanalyse.....	74
5.8.4	Diskriminanzanalyse	75
5.8.5	„Resampling“-Verfahren: Jackknife	77
6	Ergebnisse.....	79
6.1	Optimierung der Methoden	79
6.1.1	DNA-Isolierung und Reinheitsgrad	79
6.1.2	Optimierung der PCR	79
6.2	Primertest	81
6.3	Auswertung der Primer	84
6.3.1	Mikrosatelliten-Primer B3	84
6.3.2	Mikrosatelliten-Primer B4	88
6.3.3	Mikrosatelliten-Primer B7	91
6.3.4	Mikrosatelliten-Primer C9	95
6.3.5	Microsatelliten-Primer C24	99
6.3.6	Mikrosatelliten-Primer A7	103
6.3.7	Mikrosatelliten-Primer Lv 4-alpha	109
6.3.8	Mikrosatelliten-Primer Lv 3-19.....	112
6.4	Sequenzierung des Mikrosatelliten Locus A7	115

6.5 Statistische Auswertung.....	121
6.5.1 Heterozygotie-Statistik	121
6.5.2 Genetische Ähnlichkeit.....	122
6.5.3 Genetische Distanz und Genfluss	123
6.5.4 Genetische Diversität	127
6.5.5 Clusteranalyse	128
6.5.6 Diskriminanzanalyse	130
6.5.7 Faktorenanalyse.....	133
6.6 Diskussion	138
7 Zusammenfassung	158
8 Literaturverzeichnis	161

Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1:	Männliche Mauereidechse (fotografiert im Amphitheater in Trier).....	6
Abb. 2:	Alba fucens.....	22
Abb. 3:	Amphitheater der Stadt Pula	24
Abb. 4:	St. Martin d´Ardèche.....	25
Abb. 5:	Zitadelle von Bitche	26
Abb. 6:	Trockenmauer (Lebensraum der Mauereidechse) bei Igel.....	28
Abb. 7:	Uferbereich der Urfttalsperre	29
Abb. 8:	Anstehender Schiefer als Lebensraum der Mauereidechse an der Urfttalsperre.....	29
Abb. 9:	Burgruine Montaigne bei Anhée	30
Abb. 10:	Aufbau des Eukaryonten Genoms.....	35
Abb. 11:	Prinzip der PCR (Polymerase chain reaction).....	40
Abb. 12:	Prinzip der RAPD-PCR.....	42
Abb. 13:	Isolierung von molekularen Markern (aus Janning 2004).....	50
Abb. 14:	Prinzip der DNA-Mikrosatelliten-Analyse (verändert nach KRAWCZAK & SCHMIDTKE 1994).....	53
Abb. 15:	Beispiel für „stutter peaks“ bei der Mikrosatelliten-Analyse, Probe Bitche 32, Primer Lv 4-alpha.....	54
Abb. 16:	Funktionsweise des ABIPRISM 310 Genetic Analyser am Beispiel einer Multiplex-PCR zur simultanen Analyse mehrerer STR-Loci (ABIPRISM PROFILER KIT, APPLIED BIOSYSTEMS).....	57
Abb. 17:	Aufbau des ABIPRISM 310 Genetic Analyser (APPLIED BIOSYSTEMS)	58
Abb. 18:	DNA-Isolierung nach SANGER (1977) (aus JANNING/KNUST 2004)	58
Abb. 19:	Schematische Darstellung der Verbundung zwischen Besiedlungsquelle und „Vorposten“ nach dem Kontinent-Insel-Modell.....	67
Abb. 20:	Schematische Darstellung der Verbindung zwischen Populationen nach dem „Insel-Modell“	68
Abb. 21:	Schematische Darstellung der Verbindung zwischen Populationen nach dem „Sprungbrett-Modell“	68

Abb. 22:	Abnahme des Genflusses mit zunehmender geographischer Entfernung („isolation by distance“) und Variationen von <i>Ensatina spec.</i> in N-Amerika als Beispiel (THELANDER 1994).....	69
Abb. 23:	Prinzip der UPGMA-Methode (Additive Methode, OTUs ("operational taxonomic units") werden durch sequenzielles Clustern nach absteigender Ähnlichkeit gruppiert.....	72
Abb. 24:	Allelfrequenzen Locus B3	86
Abb. 25:	Markerzahl Locus B3	87
Abb. 26:	Allelfrequenzen Locus B4	89
Abb. 27:	Markerzahl Locus B4	91
Abb. 28:	Allelfrequenzen Locus B7	93
Abb. 29:	Markerzahl Locus B7	94
Abb. 30:	Allelfrequenzen Locus C9	96
Abb. 31:	Markerzahl Locus C9	97
Abb. 32:	Homozygoter Mikrosatellit, Multiplex PCR, Locus C9 (grün) und Locus C24 (blau), C9 bei 155 bp, Probe Bitche 34	98
Abb. 33:	Heterozygoter Mikrosatellit, Locus C9,Probe Pula 11 (154 bp, 166 bp)	99
Abb. 34:	Allelfrequenzen Locus C24	101
Abb. 35:	Markerzahl Locus C24	102
Abb. 36:	Gelelektrophorese Locus A7, homozygote und heterozygote Proben mit etwa 200 bp und 400 bp Länge	103
Abb. 37:	Allelfrequenzen Locus A7	105
Abb. 38:	Markerzahl Locus A7	106
Abb. 39:	Heterozygoter Mikrosatellit, Locus A7, 194 u. 400 bp Länge, Probe Pula 3..	107
Abb. 40:	Heterozygoter Mikrosatellit, Locus A7, 394 u. 400 bp Länge, Probe Pula 2..	107
Abb. 41:	Heterozygoter Mikrosatellit, Locus A7, 186 u. 198 bp Länge, Probe Urft 8 ...	108
Abb. 42:	Allelfrequenzen Locus Lv 4-alpha	110
Abb. 43:	Markerzahl Locus Lv 4-alpha	111
Abb. 44:	Allelfrequenzen Locus Lv 3-19.....	113
Abb. 45:	Markerzahl Locus Lv 3-19.....	114

Abb. 46:	Agarosegel mit zehn Proben, Locus A7, LS=Längenstandard	116
Abb. 47:	Basenfolge der Sequenz der Probe Pula 7, Primer A7, homozygot, 400 bp, Basenaustausch C-G, G-C bei 304, 305, angezeigt durch **	118
Abb. 48:	Elektropherogramm der Teilsequenz im Bereich des Mikrosatelliten-Locus (Probe Pula 7, Primer A7, homozygot, Gesamtlänge von 400 bp, Forward-Sequenzierung).....	120
Abb. 49:	Regressionsanalyse zur Überprüfung des Isolation by distance-Modells, Mantel-Test über genetische Distanzen (Nei 1972) und geographische Distanzen (Luftlinie in km).....	127
Abb. 50:	UPGMA-Dendrogramm der Clusteranalyse über alle Populationen (1-Pearsons r), ermittelt über genetische Distanzen (NEI 1972)	129
Abb. 51:	Diskriminanzanalyse über alle Loci und alle Tiere. Root 1 – Root 3, Root 1: 59,7 %; Root 3: 11,78 %	131
Abb. 52:	Diskriminanzanalyse über alle Loci und alle Tiere. Root 1 – Root 2; Root 1: 59,7 %; Root 2: 16,8 %	132
Abb. 53:	Faktorenanalyse mittels HKA über alle Tiere, unrotiert.....	134
Abb. 54:	Faktorenanalyse mittels HKA über alle Individuen (Ausschnitt aus Abb. 53, unten links, vergrößert), unrotiert.....	135
Abb. 55:	Faktorenanalyse mittels HKA über genetische Distanzen (NEI 1972), unrotiert.....	136
Abb. 56:	Faktorenanalyse, HKA über genetische Distanzen (NEI 1972) dreidimensionale Darstellung, Rotation Varimax	137
Abb. 57:	Gesamtmarkerzahl pro Standort, alle Loci	148

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1	Charakterisierung der Proben (Abruzzen)	23
Tabelle 2	Charakterisierung der Proben (Istrien).....	24
Tabelle 3	Charakterisierung der Proben (Ardèche)	26
Tabelle 4	Charakterisierung der Proben (Bitche).....	27
Tabelle 5	Charakterisierung der Proben (Igel bei Trier).....	28
Tabelle 6	Charakterisierung der Proben (Urft).....	30
Tabelle 7	Charakterisierung der Proben (Anhée in Belgien)	31
Tabelle 8	Unterteilung der DNA-Tandemwiederholungen (Satelliten-DNA)	36
Tabelle 9	Eigenschaften verschiedener genetischer Marker und ihre Eignung für populationsgenetische Untersuchungen (aus QUACK 2004); +++ sehr gut, ++ gut, + ausreichend, - ungeeignet	44
Tabelle 10	Erwartete Allel-Häufigkeit eines zwei-Allel-Systems (p und q) der Genotypen in Hardy-Weinberg-Gleichgewicht	70
Tabelle 11	Temperatur- und Zeitprogrammierung des Thermocyclers für die Mikrosatelliten-Primer C9, B3, B4	80
Tabelle 12	Ergebnisse der Mikrosatelliten-Primer Lv 4-alpha und Lv 3-19 für Podarcis muralis (ESTOUP et al. 1999).....	81
Tabelle 13	Ergebnisse der Mikrosatelliten-Primer B3, B4, B7, C9, C24, A7 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003).	82
Tabelle 14	Getestete und ausgewertete Mikrosatelliten-Primer	83
Tabelle 15	Getestete Mikrosatelliten-Primer die nicht ausgewertet wurden	83
Tabelle 16	Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer B3	85
Tabelle 17	Charakterisierung Locus B3 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)	88
Tabelle 18	Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer B4	88
Tabelle 19	Charakterisierung Locus B4 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)	91
Tabelle 20	Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer B7	92
Tabelle 21	Charakterisierung Locus B7 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)	95
Tabelle 22	Ergebnisse Mikrosatelliten-Primer C9	95
Tabelle 23	Charakterisierung Locus C9 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)	99

Tabelle 24	Ergebnisse Mikrosatelliten-Primer C24.....	100
Tabelle 25	Charakterisierung Locus C24 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003).....	103
Tabelle 26	Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer A7.....	104
Tabelle 27	Charakterisierung Locus A7 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003).....	108
Tabelle 28	Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer Lv 4-alpha.....	109
Tabelle 29	Charakterisierung Locus Lv 4-alpha (ESTOUP et al. 1999).....	112
Tabelle 30	Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer Lv 3-19.....	112
Tabelle 31	Charakterisierung Locus Lv 3-19 (ESTOUP et al. 1999).....	115
Tabelle 32	Temperatur- und Zeitprogrammierung des Thermocyclers für die Sequenzier-PCR (Cycle-Sequenzierung).....	117
Tabelle 33	Heterozygotie-Statistik (Populationen und Primer).....	121
Tabelle 34	Heterozygotie-Statistik (einzelne Loci).....	122
Tabelle 35	Genetische Ähnlichkeiten zwischen den Populationen (oberhalb der Diagonalen) NEI 1972.....	123
Tabelle 36	Genfluss (nach NEI 1987) innerhalb angenommener Gruppen.....	125
Tabelle 37	Genfluss (nach NEI 1987) innerhalb angenommener Gruppen.....	125
Tabelle 38	Genfluss (nach NEI 1987) zwischen Trier und Urft.....	126
Tabelle 39	Geographische Distanzen zwischen den Populationen (oberhalb der Diagonalen {Luftlinie in km}) und genetische Distanzen zwischen den Populationen (unterhalb der Diagonalen) NEI 1972.....	126
Tabelle 40	Ergebnisse der Varianzanalyse (AMOVA).....	128
Tabelle 41	Genetische Distanzen zwischen den Populationen (NEI 1972).....	128
Tabelle 42	Kummulatifwerte der Diskriminanzanalyse (Root 1-6).....	133
Tabelle 43	Faktoren der Faktorenanalyse, Hauptkomponenten, Datenbasis: Genetische Distanzen (NE 1972).....	137

Verzeichnis der Karten

Karte 1: Verbreitungsgebiet der Mauereidechse	8
Karte 2: Vorkommen der Mauereidechse an ihrer nördlichen Verbreitungsgrenze	9
Karte 3: Vorkommen der Mauereidechse in Deutschland (GÜNTHER 1996)	11
Karte 4: Übersichtskarte Probenstandorte	19
Karte 5: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus B3)	87
Karte 6: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus B4)	90
Karte 7: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus B7)	94
Karte 8: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus C9)	98
Karte 9: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus C24)	101
Karte 10: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus A7)	106
Karte 11: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus Lv 4-alpha)	111
Karte 12: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus Lv 3-19)	114

Abkürzungsverzeichnis

6-FAM	6-Carboxylfluorescein
A	Adenin
Abb.	Abbildung
Abr.	Abruzzen
AFLP	<i>amplified fragment length polymorphism</i>
Anh.	Anhée
AMOVA	Analysis of Molecular Variance
Ard.	Ardèche
bp	Basenpaare
Bel.	Belgien
Bit.	Bitche
BSR	Band-Sharing-Rate (n)
C	Cytosin
cDNA	<i>complementary DNA</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Desoxyribonukleotidtriphosphate
dsDNA	Doppelstrang-DNA (<i>double stranded</i>)
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetraessigsäure
Etbr.	Ethidiumbromid
FAM	6-Carboxyfluorescein
G	Guanin
GL	Gesamtlänge
HEX	6-Carboxyl-2',4',7',4',7'-Hexachlorfluorescein
HWG	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
HKA	Hauptkomponenten-Analyse
HVRs	<i>Hypervariable regions</i>
ISSR	<i>inter simple sequence repeat</i>
Kap.	Kapitel
kb	Kilobasen
KRL	Kopf-Rumpf-Länge
µl	Mikroliter
M	molar
mM	millimolar
mer	Nukleotidanzahl eines Primers
MgCl ₂	Magnesiumchlorid

mt	mitochondrial
mtDNA	mitochondriale DANN
n	Stichprobengröße
ng	Nanogramm
n.s.	nicht signifikant
NaCl	Natriumchlorid
nDNA	nukleäre DNA (Kern-DNA)
NJ	<i>Neighbour-Joining</i>
NN	Normalnull
OD	Optische Dichte
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (<i>polymerase chain reaction</i>)
PH	Negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
Pmol	Picomol
RAPD	zufällig amplifizierte polymorphe DNA (<i>random amplified polymorphic DNA</i>)
RFLP	Restriktions-Fragmentlängenpolymorphismus
ROX	6-Carboxy-X-Rhodamin
RT	Raumtemperatur
Sp	Spezies
ssDNA	Einzelstrang-DNA (<i>single stranded</i>)
STR	<i>Short tandem repeat</i>
STS	<i>Sequence tagged site</i>
SSR	<i>Single sequence repeat</i>
T	Thymin
Ta	Annealing Temperatur
TAMRA	6-Carboxymethylrhodamin
Tab.	Tabelle
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TSR	<i>Template suppression reagent</i>
UPGMA	Unweighted pair group method with arithmetic mean
UV	ultraviolett
VNTRs	variable Anzahl von Tandem-Wiederholungen (<i>variable number of tandem repeats</i>)

Danksagung

Eine genetisch orientierte Arbeit in Angriff zu nehmen ist ebenso reizvoll wie mühsam. Ohne intensive Betreuung wäre ein solches Unternehmen zum Scheitern verurteilt. Ich kann von Glück sagen, dass mir erfahrene Mitarbeiter mit Rat und Tat zur Seite standen. Der Teufel steckt im Detail und jeder, der sich die Methodik der SSR-Analyse und der Sequenzierung erarbeitet hat, weiß wovon ich spreche. Ohne immer währende Aufmunterung und Unterstützung hätte der Mut schon mal verloren gehen können. Deshalb möchte ich mich bei allen bedanken, die ein Zustandekommen der Arbeit ermöglichten.

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. Dr. hc. mult. Paul Müller für die freundliche Überlassung des Themas und die uneingeschränkte Unterstützung in jeder Hinsicht bedanken. Besonderer Dank gilt Priv. Doz. Dr. Ralf Kautenburger für seine kritische Durchsicht der Arbeit, seine Diskussionsbereitschaft, seinen unerschütterlichen Optimismus und für die Geduld die er mir entgegenbrachte. Großer Dank gebührt Georg Härer, der mich bei den Karten einfach klasse unterstützte. Es steht zwar alles geschrieben, doch mit einigen gezielten und treffenden Worten können ganze Nächte mühevoller Literaturarbeit gespart werden. Aus diesem Grunde bedanke ich mich für alle Tipps und Anregungen beim Team des FPP (Forschungsinstitut für Psychobiologie und Psychosomatik) und der Biogeographie. Namentlich sind dies Prof. Dr. Jobst Meyer, Dr. Andrea Gierens, Ulrike Schülter, Dirk Moser, ferner Marco Zimmermann, Joachim Kosuch, Dr. Xiaohua He, Dr. Dominik Eisenbarth, Dr. Markus Quack, Dr. Ortwin Elle und Junior Professor Dr. Thomas Schmitt. Alle, denen mein Dank gilt, namentlich aufzuzählen ist, meines nun arg strapazierten Gedächtnisse wegen, nicht möglich. Man möge mir verzeihen.

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei meinen Eltern bedanken, die immer hinter mir standen und mir alle nur erdenkliche Unterstützung gaben. Leider konnte mein Vater die Abgabe der Arbeit nicht mehr erleben. Ganz großer Dank gilt meiner Frau Linda. Ich verspreche so schnell nicht noch mal zu promovieren. Übrigens, wer Fehler findet darf sie behalten.

1 Einleitung

In vom Menschen überprägten Ökosystemen müssen sich Biota ständig wechselnden Umweltbedingungen anpassen. Grundlage für diese Anpassungsfähigkeit ist eine hohe genetische Variabilität und eine entsprechende ökologische Valenz. Jede Art, ja jede Population, besitzt ein ihr eigenes Arealssystem. Das Arealssystem wird durch verschiedene Faktoren beschrieben wie die ökologische Valenz, die genetische Variabilität und die Phylogenie von Populationen und Biozöosen, sowie der räumlichen und zeitlichen Wirkungsweise verschiedener abiotischer und biotischer Faktoren (MÜLLER 1980). Unter Arealssystem wird nur jener Teil des Verbreitungsgebietes einer Art verstanden, in dem sie sich ohne ständigen Zuzug von außen her dauerhaft fortpflanzen kann (MÜLLER 1980). Anpassungsprozesse können dazu führen, dass eine Population einer Art innerhalb eines suboptimalen Areals überleben kann, wohingegen eine andere Population der gleichen Art an einem anderen Ort erlischt. Je weiter eine Population von ihrem ökologischen Optimum entfernt lebt und je kleiner sie ist, desto unwahrscheinlicher wird ihr dauerhaftes Überleben. Zusammenbrüchen von Populationen stehen inselartige Refugialräume in anderen Regionen gegenüber die zu unterschiedlichen Bewertungen des Regenerationsvermögens führen (MÜLLER et al. 2002). In den dicht besiedelten Regionen Mittel- und Südeuropas können einerseits die Aktivitäten des Menschen durch Veränderungen der Landschaft zu einer Bedrohung von Tier- und Pflanzenpopulationen führen, andererseits können sie zu einer Verbreitung der Arten beitragen. So ist die Mauereidechse (*Podarcis muralis*) durch Aktivitäten des Menschen ursprünglich in ihrer Verbreitung gefördert worden. Sie profitierte von der Waldrodung, dem Terrassenweinbau mit Trockenmauern und dessen Ausbreitung durch die Römer, der Errichtung unverputzter Gebäude und weiterer Maßnahmen wie der Anlage von Steinbrüchen in historischer Zeit. Sie nutzt unter anderem die steinigen Ufer der Flüsse und die Eisenbahnschotter als Ausbreitungskorridor. In ihrem nördlichen Verbreitungsgebiet ist die Mauereidechse unter anderem auf landschaftspflegerische Maßnahmen des Menschen durch Zurückschneiden der Vegetation angewiesen. Wie wohl kein anderes Reptil ist die Mauereidechse in der Lage, menschliche Sekundärhabitats

zu besiedeln (von der Blindschleiche, *Anguis fragilis*, vielleicht abgesehen). Als Primärhabitats dienen der Mauereidechse Kiesbänke von Flüssen, Steilfelsen, Blockschuttfelder und vegetationsarme Geröllfelder. Da die Mauereidechse auf das Vorhandensein von Löchern, Spalten und Fugen als Versteck und als Winterquartier angewiesen ist, nimmt sie anthropogene Sekundärhabitats mit entsprechenden Strukturen als Lebensraum an. So besiedelt sie Steinbrüche, Trockenmauern in Weinbergen und unverputztes Mauerwerk in historischen Gebäuden. Die Mauereidechse ist eine typische Art der Weinanbauggebiete. Bis vor ca. 60 Jahren war sie in Deutschland noch häufig zu finden (JÄTZOLD 1990). Durch Flurbereinigung und Flächenversiegelung kam es zum Verlust vieler Habitats. Die ursprünglich großen Populationen wurden in verstreut liegende kleine Populationen unterteilt. In Rheinland-Pfalz hat diese Art ihr Hauptverbreitungsgebiet innerhalb Deutschlands und hier besiedelt sie hauptsächlich die großen Flusstäler von Rhein, Mosel und Lahn. Aber auch hier ist ihr Lebensraum durch die Aufgabe alter Weinberge in Steillage sowie durch das nahtlose Verputzen alter bewirtschafteter Weinbergsmauern und historischer Gebäude gefährdet. Viele Tiere leben in kleinen Populationen, deren dauerhaftes Fortbestehen fraglich ist. Aus diesem Grunde wurde die Mauereidechse als Modellobjekt für Populationsgefährdungs-Analysen ausgewählt (AMLER 1999, BENDER 1999). Hierbei wurden populationsökologische wie auch populationsgenetische Studien durchgeführt, um eine Überlebenswahrscheinlichkeit kleiner Populationen darstellbar zu machen. Durch Migrationsbarrieren kann es zu einer Verinselung des Gesamtareals und dadurch zu Verminderung bzw. Verlust des Genflusses kommen. Die Folge ist eine Populationsstrukturierung mit einem Verlust von genetischer Diversität. Das Erkennen von Migrationsbarrieren und die Vorhersage ihrer Auswirkungen sind ein wichtiger Forschungsgegenstand der Evolutionsbiologie (SLATKIN 1985, SETTLE 1996, SORK et al. 1999, BENDER 1999). Um entsprechende Maßnahmen für den Schutz von Populationen einleiten zu können, bedarf es der genauen Kenntnis der funktionalen Zusammenhänge von Populationsgenetik, der Migration, der ökologischen Valenz und des Einflusses des Menschen. Die effektive Populationsgröße (Anzahl der an der Fortpflanzung beteiligten Tiere) und der somit begründete genetische Austausch sind für die Fitness der Populationen

bedeutend. So führt eine starke Reduktion der Populationsgröße zu so genannten *bottlenecks* (Flaschenhalse) und auch *founder effects* (Gründersituationen) mit einem einhergehenden Verlust von Allelen, der durch genetische Drift und erhöhte Inzuchtrate noch verstärkt werden kann. Bei kleinen Populationsgrößen und zunehmender Inzucht werden als Folge erhöhte Jungtiersterblichkeit, erhöhte Anfälligkeit für Krankheiten und eine erniedrigte Reproduktionsrate beobachtet. Dieses Phänomen wird in seiner Auswirkung als Inzuchtdepression bezeichnet (FRANKEL & SOULÉ 1981).

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Mauereidechsen haben als Wärme liebende Art die letzte Eiszeit in verschiedenen südlichen Refugialräumen überdauert. Diese lagen in Zentralitalien und evtl. in Spanien (GRUSCHWITZ & BÖHME 1986). Im Lauf des trocken-warmen Postglazials nach der letzten Eiszeit (Würm- oder Weichselkaltzeit) besiedelte sie ihr rezentes Verbreitungsgebiet. Ihre historischen Einwanderungswege nach Mitteleuropa sind bisher nicht ausreichend geklärt (HECHT 1928, GRUSCHWITZ 1981, 1990, BAMMERLIN et al. 1996). Ausgehend von französischen Populationen werden verschiedene Einwanderungswege in ihr nördliches Verbreitungsgebiet diskutiert. Basierend auf den hypothetischen Einwanderungswegen stellt sich die Frage, ob die atlantische Unterart *Podarcis muralis brogniardi* über Westfrankreich, Belgien und die Niederlande auch die deutsche Nordeifel besiedelt hat, während die in geringer Entfernung vorkommenden Populationen der Mosel und des Rheins durch das Rhône-tal, die burgundische Pforte und das Rheintal einwanderten und als *Podarcis muralis merremia* unterschieden werden müssen (GRUSCHWITZ & BÖHME 1986). Die nördlichen, in dieser Arbeit untersuchten Populationen, wären somit zu den beiden oben erwähnten Unterarten zu zählen: die Populationen Belgiens und der Eifel zur Unterart *P. m. brogniardi*, die Populationen Triers und Bitchs zur Unterart *P. m. merremia*.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit besteht in der vergleichenden Untersuchung der genetischen Variabilität und Diversität ausgewählter Mauereidechsen-Populationen aus ihrem rezenten mitteleuropäischen Verbreitungsgebiet und ihren Refugialräumen südlich der Alpen. Weiterhin soll überprüft werden, ob aus den erhaltenen Daten Rückschlüsse auf eventuell unterschiedliche Einwanderungswege der nördlichen Populationen aus den Refugialräumen mittels molekular-

genetischer Methoden gezogen werden können. Als Untersuchungsmethode wurde die Mikrosatelliten-DNA Analyse gewählt. Gegenüber der in vorhergehenden Untersuchungen angewandten RAPD PCR-Methode (BENDER 1999, GASSERT 2000) besitzt die Analyse von DNA-Mikrosatelliten den großen Vorteil, über die direkte Bestimmung von Allelfrequenzen wichtige populationsgenetische Daten berechnen zu können.

2 Modellorganismus

2.1 Die Mauereidechse - *Podarcis muralis* (LAURENTI, 1768)

Die Mauereidechse ist eine kleine, schlanke und sehr bewegliche Lacertide mit kräftigen Beinen und langem Schwanz. Unversehrt erreicht der Schwanz das 1½ - 2 fache der Kopf-Rumpf-Länge (KRL). Ihre Gesamtlänge (GL) beträgt nach GRUSCHWITZ & BÖHME (1986) bis 225 mm, meist aber unter 200 mm. Ihre Kopf-Rumpf-Länge (KRL) beträgt maximal 75 mm (ARNOLD & BURTON 1978).

Klasse: Kriechtiere - *Reptilia*

Unterklasse: Schuppenkriechtiere - *Lepidosauria*

Ordnung: Eigentliche Schuppenkriechtiere - *Squamata*

Unterordnung: Echsen - *Sauria*

Familie: Echte Eidechsen - *Lacertidae*

Gattung: Halsbandeidechsen - *Lacerta*

Untergattung: Mauereidechsen - *Podarcis*

Art: Gewöhnliche Mauereidechse - *Podarcis muralis* (LAURENTI, 1768)

Vor der Zeit LINNÉ'S (1707-1773) ist die Mauereidechse von ALDROVANDI im Jahr 1663 als *Lacerta vulgaris* bezeichnet worden. Von LAURENTI (1768) wurde sie in der gültigen Erstbeschreibung der Gattung *Seps* zugeordnet. DAUDIN (1802) nannte sie *Lacerta maculata*. Der Gattung *Podarcis* wird sie erstmals 1830 von WAGLER zugeordnet, und zwar unter dem heute noch gültigen Artnamen *muralis*. ARNOLD (1973) versuchte die Sammelgattung *Lacerta*, deren Monophylie sehr unwahrscheinlich ist, aufzugliedern und ordnete die Mauereidechse wieder dem Genus *Podarcis* zu. Diese Klassifizierung wird von einigen Autoren angezweifelt, so z.B. von MAYER & TIEDEMANN (1982), BÖHME (1986). Der wissenschaftliche Namen *Podarcis* leitet sich von *podarkés-* gr.- schnellfüßig und *muralis-* lat.- an oder in Mauern lebend ab.

In ihrem Verbreitungsgebiet existieren zahlreiche Unterarten, besonders im Süden (s. Kap. 2.2.3.). In ihrem nördlichen Verbreitungsgebiet kommen nach

GRUSCHWITZ & BÖHME (1986) folgende Unterarten der Mauereidechse vor: *Podarcis muralis brogniardi* in der Nordeifel und dem Vennvorland, sowie *Podarcis muralis merremia* im Rheingebiet und Moseltal. Populationen bei Oberaudorf in Bayern könnten zur Nominatform *P. m. muralis* gehören (GÜNTHER, LAUFER & WAITZMANN 1996). Diese Unterarteinteilung ist bis heute nicht abschließend geklärt und muss offen bleiben (BAMMERLIN et al. 1996).

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Populationen wären den Unterarten *Podarcis muralis merremia*, (Moseltal, Südfrankreich, Bitche, evtl. Urft in der Eifel), *Podarcis muralis brogniardi* (Belgien, evtl. Urft in der Eifel), *Podarcis muralis muralis* (Abruzzen, Istrien) oder *Podarcis muralis maculiventris* (Abruzzen, Istrien) zuzuordnen.



Abb. 1: Männliche Mauereidechse (fotografiert im Amphitheater in Trier)

2.2 Verbreitung

2.2.1 Rezente Verbreitung

Innerhalb der Gattung *Podarcis* besitzt *P. muralis* das größte Verbreitungsareal. Es erstreckt sich im Süden bis nach Kalabrien, im Westen bis Mittelspanien, im Osten bis Rumänien und im Südosten bis nahe Nordwestanatolien. Die nördliche

Verbreitungsgrenze verläuft von der französischen Kanalküste über den südlichen Teil von Belgien und den Niederlanden (bis Maastricht) bis in den Bereich der südwestdeutschen Mittelgebirge (GRUSCHWITZ & BÖHME 1986, vgl. Karte 1).

Im nördlichen Teil des Verbreitungsgebietes ist die ursprünglich pontisch-mediterrane Art auf mikroklimatisch begünstigte, meist durch den Weinbau gekennzeichnete Täler von Rhein, Mosel, Lahn und Nahe beschränkt (GRUSCHWITZ & BÖHME 1986; BAMMERLIN et al. 1996).

So liegt ihr Verbreitungsschwerpunkt in Deutschland in Rheinland-Pfalz (Karte 3). Einige Vorkommen existieren im nördlich angrenzenden Rheinland (HAESE 1983, 1990; GRUSCHWITZ & BÖHME 1986) sowie in klimatisch begünstigten Teillandschaften des Saarlandes (MÜLLER 1976). Die nördlichen Vorkommen in Deutschland lassen sich laut GRUSCHWITZ & BÖHME in zwei geographisch getrennte Bereiche trennen, denen vermutlich unterschiedliche Einwanderungswege zugrunde liegen. Einerseits wird das Rheintal bis oberhalb Bonn besiedelt (GEIGER und NIEKISCH 1983), andererseits bestehen isolierte Vorkommen im Bereich der Nordeifel und des Vennvorlandes in Nordrhein-Westfalen (HAESE in GEIGER und NIEKISCH 1983).

In Belgien ist die Mauereidechse im südlichen, mittleren und östlichen Landesteil längs der Maas einschließlich einiger Nebentäler verbreitet. Als Fundorte gelten Namur, Dinant und als nördlichstes Vorkommen Visé. Alle außerhalb des Stromgebietes der Maas gemeldeten belgischen Vorkommen müssen nach PARENT (1974) als nicht autochton angesehen werden und dürften auf Aussetzungen zurückzuführen sein. Die weitgehend isolierten Vorkommen in den Niederlanden (Maastricht) standen früher mit Sicherheit über die Maas in Verbindung, zumal die Entfernung Maastricht-Visé nur 15 km beträgt. Die Besiedlung dieser, zum Teil isolierten Standorte, erfolgte wahrscheinlich von den Flüssen und ihrer Seitentäler aus (GRUSCHWITZ & BÖHME 1986). Im nördlichen und mittleren Europa besiedelt die Art vorwiegend die Ebene bis hin zu den Mittelgebirgslagen, während im südlichen Arealbereich auch höhere Gebirgszonen bewohnt werden.

Die nördlichste Population lebt in den Überresten alter Befestigungsanlagen der niederländischen Stadt Maastricht (STRIJBOSCH et al. 1980 a,b,c).

Verbreitungsgebiet Mauereidechse



Karte 1: Verbreitungsgebiet der Mauereidechse

In Frankreich kommt die Art, die hier die häufigste Reptilienart überhaupt darstellt, über die gesamte Landesfläche vor. Im Norden und der Mitte des Landes bestehen Verbreitungslücken, die aber auch Kenntnislücken widerspiegeln könnten (FRETEY 1975).

In Karte 2 ist die Verbreitung der Mauereidechse an ihrer nördlichen Arealgrenze dargestellt. Die Fundpunkte in Luxemburg werden zurzeit im Rahmen der Neubearbeitung des Verbreitungsatlas der Reptilien Luxemburgs überarbeitet. Da dem Autor die Kartierungspunkte vorliegen, konnten die aktuellen Fundpunkte eingetragen werden. Die Fundpunkte in Belgien wurden den Angaben des Atlas herpétologique en Wallonie (2001) und aus GRUSCHWITZ & BÖHME (1986) entnommen.



Karte 2: Vorkommen der Mauereidechse an ihrer nördlichen Verbreitungsgrenze

2.2.2 Historische Besiedlung der nördlichen Verbreitungsgebiete

Die historischen Einwanderungswege der Mauereidechse in ihr nördliches Verbreitungsgebiet sind bisher nicht vollständig geklärt. Eine Besiedlung der

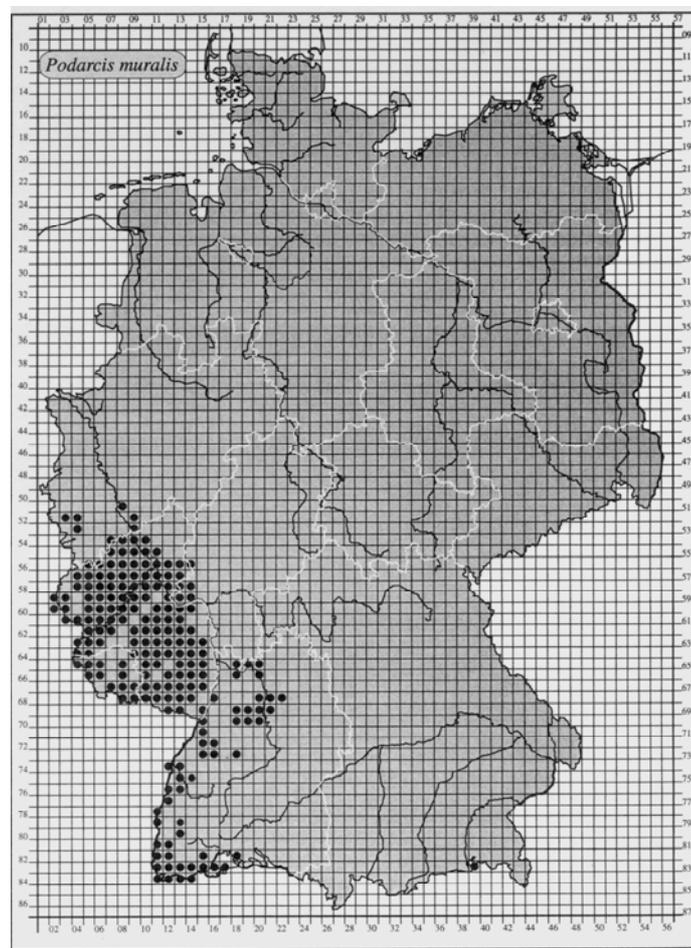
nördlichen Vorkommen dürfte im Zuge der Ausbreitung aus zentralitalienischen oder evtl. spanischen bzw. südwestmediterranen, in Südfrankreich gelegenen Refugialräumen im Laufe des trocken-warmen Postglazial (beginnend ca. 6000-5000 v. Chr., Littorina-Zeit) erfolgt sein (BAMMERLIN et al. 1996). Im Subboreal (ab ca. 2500 v. Chr.) dürfte eine Aufsplitterung und Arealregression thermophiler Arten an der nördl. Verbreitungsgrenze aufgrund des Vordringens der Buche erfolgt sein. Jedoch wurden die klimatisch begünstigten Lagen von Rheinland-Pfalz als alte menschliche Siedlungsgebiete bereits im Neolithikum gerodet, was eine Wiederbesiedlung aus relikttären oder geschlossenen Vorkommen ermöglichte. Im 13.-16. Jhdt. drang die Mauereidechse aufgrund der Klimagunst in weitaus höhere, heute nicht mehr genutzte Lagen, vor (Zusammenstellung in: BAMMERLIN et al. 1996). Eine Besiedlung des Mittelrheingebietes von Südosten her über Donau und Main kann wegen fehlender Vorkommen in Mainfranken und an der Donau oberhalb des Passauer Raumes ausgeschlossen werden (GRUSCHWITZ 1990a, GRUSCHWITZ & BÖHME 1986). Ausgehend von südwestfranzösischen Refugialräumen lassen sich drei Einwanderungswege annehmen:

1. Über die Burgundische Pforte in den Oberrheingraben, möglicherweise über das untere Nahetal, den Ober- und Mittelrhein bis in die Gegend von Bonn.
2. Über den Saar-, Sauer- und Oberrheinraum kann die Mauereidechse die Untermosel und den Mittelrhein erreicht haben, ggf. auch über das Blietal das Obere Nahebergland. Eine Besiedlung von der lothringischen Oberrhein her (BEDRIAGA 1878) wird durch die benachbarten deutschen anknüpfenden Vorkommen (GUILLAUME 1982) unterstrichen.
3. Über die Maas-Rur-Ebene bis zu den auf nordrhein-westfälischem Gebiet gelegenen Vorkommen in der Rureifel und dem Vennvorland (HAESE in GEIGER & NIEKISCH 1983). Die von JAHNKE et al. (1980) diskutierte Einwanderung in diese Bereiche aus dem Ahrtal wird von GRUSCHWITZ (1986, 1990) abgelehnt, zumal die Waldgebiete an der Wasserscheide Urft/Ahr bzw. Kyll bis heute möglicherweise zwei Unterarten trennen (HAESE 1990).

(übernommen aus: BAMMERLIN et al. 1996)

Laut BAMMERLIN et al. (1996) sind die isolierten Vorkommen am Nordrand des Areals als Relikte einer ursprünglich (17. Jhdt.) wesentlich ausgedehnteren Verbreitung zu werten. Folglich wäre das Auftreten der zwei Unterarten *P. m. brogniardi* und *P. m. merremia* wenig plausibel.

Eine Besiedlung durch die Mauereidechse dürfte im nördlichen Verbreitungsgebiet seit ca. 6000-7000 Jahren bestehen. Durch die Lage, die Geologie, sowie den Terrassenweinanbau mit Trockenmauern seit der Römerzeit, wurde die Mauereidechse an Mosel, Rhein und Maas gefördert. Erst Mitte dieses Jahrhunderts gingen durch die Flurbereinigung und die damit verbundene Beseitigung der Trockenmauern viele Habitate der Mauereidechse verloren.



Karte 3: Vorkommen der Mauereidechse in Deutschland (GÜNTHER 1996)

2.2.3 Unterartgliederung

2.2.3.1 *Podarcis muralis brogniardi* (DAUDIN, 1802)

Es handelt sich um eine großwüchsige, atlantisch adaptierte Form mit gut entwickelter Dunkelpigmentierung der Zeichnungselemente. Mitunter ist sie grünrückig. Das Verbreitungsgebiet von *P. m. brogniardi* ist das Kantabrische Gebirge mit den vorgelagerten Inseln, die Pyrenäen (Hochlagen), das atlantisch geprägte West- und Mittelfrankreich, Belgien, die Niederlande sowie der äußerste Nordwesten der Bundesrepublik Deutschland (Nordeifel, Vennvorland). Als Synonyme gelten: *rasquinetii*, *sebastiani*, *calbia*, *oyensis* und *occidentalis*.

2.2.3.2 *Podarcis muralis merremia* (RISSO, 1826)

Hierbei handelt es sich um eine eher kleinwüchsige, meist fahl gefärbte mediterran adaptierte Form, mit oft reduzierten Zeichnungselementen, unterseits schwach gefleckt, aber häufig bunt gefärbt. Ihr Verbreitungsgebiet besteht aus montanrelikten in Zentral-und Mittelspanien, das mediterrane Südfrankreich, West-Ligurien, das östliche Frankreich entlang des Rhônetales, die Westschweiz, das Rheintal bis Bonn, sowie vom Rhein aus in verschiedenen Nebenflusstäler wie Nahe, Neckar, Mosel, Lahn, Ahr eindringend. Als Synonym wird vermutlich *guadarramae* gebraucht.

2.2.3.3 *Podarcis muralis nigriventris* (BONAPARTE, 1838)

Es handelt sich um eine grünrückige, kräftige Form mit nach Süden hin klinal zunehmender Schwarzfleckung der Unterseite. Das Verbreitungsgebiet ist in Italien Ligurien, die Toskana und der Küstenstreifen nach Süden bis Neapel. Als Synonym wird vermutlich *brueggemanni* genutzt.

2.2.3.4 *Podarcis muralis maculiventris* (WERNER, 1891)

Sie ist eine unterseits stark gefleckte, braunrückige Form, die vielleicht mit voriger in näherer Beziehung steht. Sie ist in Ober-Italien, der Südschweiz (Tessin) und Nordwest-Kroatien (auch Istrien) beheimatet.

2.2.3.5 Podarcis muralis muralis (LAURENTI, 1768)

Hierbei handelt es sich um eine morphologisch auch heute noch unbefriedigend definierbare Form. Sie ist östlich, kontinental adaptiert. Sie kommt in Österreich, der Tschechoslowakei, in Ungarn, Rumänien (Karpaten), in den höheren Lagen der Dinarischen Gebirge (?) sowie in Italien in den Alpen und dem Apennin vor.

2.2.3.6 Podarcis muralis albanica (BOLKAY, 1919)

Diese Unterart, mit eigenem Euryözie-Zentrum im mittleren Balkan, ist morphologisch nicht klar zu definieren. Ihr Verbreitungsgebiet ist NO-Kroatien (Slawonien), Albanien, Rumänien (hier der äußerste Südwesten und Dobrudscha), Bulgarien, die Türkei (NW-Anatolien einschließlich vorgelagerter Inseln der Schwarzmeerküste). Vermutlich gebrauchtes Synonym ist *kefkensis*.

2.2.3.7 Podarcis muralis breviceps (BOULENGER, 1905) und Podarcis muralis colosii (TADDEI, 1949)

In ihrer Bewertung zweifelhaft ist *P. m. breviceps* (BOULENGER, 1905)

Es handelt sich um eine kleinwüchsige, braunrückige Form mit stumpf gerundetem Kopf und Tendenz zu gesägtem Halsband. Bei ihr handelt es sich entweder um den südlichsten Abschluss der Nominatform, oder um ein Relikt aus früherer Besiedlungswelle. Sie kommt in Kalabrien im Gebirge vor.

Genauso zweifelhaft in ihrer Bewertung ist *P. m. colosii* (TADDEI, 1949)

Sie kommt auf der Insel Elba und festländisch auf den Halbinseln Monte Argentario und Monte Massoncello vor. Sie steht wahrscheinlich der ligurisch-toskanischen Küstenform nahe (*nigriventris/bruegmanni*).

Übernommen und leicht verändert aus GRUSCHWITZ & BÖHME 1986.

2.2.4 Habitatansprüche

Ursprüngliche Lebensräume der Mauereidechse in ihrem nördlichen Verbreitungsgebiet sind sonnenexponierte Felsen, Abbruchkanten, Geröllhalden, Trockenrasen, lichte Steppenheidewälder sowie die randlichen Kiesbänke und das

Hochgestade der großen Flüsse (FRITZ 1987). Durch Überbauung, Umwandlung in landwirtschaftliche Nutzfläche, Flussregulierung etc. wurden viele dieser Gebiete stark eingeengt (BLAB et al. 1994, FRITZ 1987). Im nördlichen Verbreitungsgebiet besiedeln Mauereidechsen als typische Bewohner der Weinberge vor allem Felswände und Trockensteinmauern, aber auch Steinbrüche und Geröllhalden (DEXEL 1986a,b), Stützmauern von Ufer- und Straßenböschungen (JAHNKE et al. 1980), Bahngleise (GRUSCHWITZ & BÖHME 1986; MÜLLER 1976) sowie historische Gebäude und Ruinen mit unverputztem Mauerwerk (HAESE 1981; FRITZ 1987). Die Mauereidechse dringt wie kein anderes Reptil, von der Blindschleiche (*Anguis fragilis*) vielleicht abgesehen, in den städtischen Siedlungsbereich vor (MÜLLER 1976; FRITZ 1987). Somit kann man die Mauereidechse als Kulturfolger bezeichnen. Es werden Friedhöfe, Hauswände, Gartenanlagen, Trümmergrundstücke und Brachflächen inmitten geschlossener Ortschaften und Städte oft in hoher Populationsdichte bewohnt (SOCHUREK 1957). So lebt z.B. die nördlichste Population in den Überresten alter Befestigungsanlagen der niederländischen Stadt Maastricht (STRIJBOSCH et al. 1980 a,b,c).

Die Habitate der Mauereidechse im nördlichen Verbreitungsgebiet müssen einigen Anforderungen genügen. Die Fundorte weisen Gemeinsamkeiten auf, wie z.B.:

- Felsig-steiniges Substrat (natürlich oder künstlich, großflächig, trocken)
- Exposition bevorzugt SW, SO oder S, niemals N (HABERBOSCH & MAY-STÜRMER 1985)
- Geringe Vegetationsbedeckung (Mauerspaltbewohner, Moose)
Am günstigsten sind Flächen mit sowohl vegetationsfreien als auch dicht bewachsenen Partien (Insektenreichtum). Mauern, die zu 70 % der Fläche von Pflanzen bedeckt sind, werden nach HABERBOSCH & MAY-STÜRMER (1985) nicht von Mauereidechse besiedelt, auch zu 40-70% bewachsene Mauern sind für eine optimale Besiedlung schon zu stark bedeckt. In den frühen Morgenstunden und im Frühjahr wärmen sich die Mauereidechsen bevorzugt auf Moos und Laub, da das Gestein noch kühl ist

- Zahlreiche Spalten als Versteckplätze, Nachtschlupfwinkel und als Schutz vor zu starker Sonneneinstrahlung
In den Spalten bleibt die Temperatur im Tagesverlauf relativ konstant und ausgeglichen (DEXEL 1984; HABERBOSCH & MAY-STÜRMER 1985)
- Kleine Ritzen als Schutz für die Jungtiere
Adulte Exemplare neigen zu Kannibalismus
- Tiefe frostsichere Überwinterungsspalten
- Sandige, warme Eiablageplätze ohne Vegetationsbedeckung
- Jagdgebiet mit einer Vielzahl an Insekten, Spinnen etc.
- Wahrscheinlich spielt auch das Vorhandensein von Wasser in der Nähe des Mauereidechsen-Habitats eine Rolle
- Nur bei Ost- oder Südost-Exposition ist die Eidechse durch die Wärmestrahlung der aufgehenden Morgensonne bereits aktiv, bevor der Tau verdunstet ist, so dass sie ihren Flüssigkeitsbedarf durch Taulecken decken kann
(übernommen und verändert aus: FRITZ 1987)

Im nördlichen Verbreitungsgebiet werden des Regionalklimas wegen eher tiefere Lagen bevorzugt, in ihrem südlichen Verbreitungsgebiet werden auch höhere Lagen besiedelt. So kommt die Art in Italien von Meeresniveau bis in Höhenlagen zwischen 1800 und 2000 m, in Kalabrien nur in Höhen über 700 m ü. NN, in den Pyrenäen bis in 2700 m ü. NN vor (GRUSCHWITZ & BÖHME 1986).

2.3 Gefährdung

2.3.1.1 Fressfeinde und Ektoparasiten

Als natürliche Fressfeinde werden Steinmarder (*Martes foina*), Wiesel (*Mustella nivalis*), Spitzmäuse (*Sorex spec.*) sowie Greifvögel wie Turmfalke (*Falco tinnunculus*) und Mäusebussard (*Buteo buteo*), aber auch Neuntöter (*Lanius collurio*) und Waldkauz (*Strix aluco*) genannt. Von den Reptilien ist die Schlingnatter (*Coronella austriaca*) die Art, die sich am häufigsten von

Mauereidechsen ernährt. Weitere Fressfeinde unter den Reptilien sind Äskulapnatter (*Elaphe longissima*), Eidechsenatter (*Malpolon monospessulanus*) und Aspispiper (*Vipera aspis*). Auch die Hauskatze wurde als Fressfeind nachgewiesen (DEXEL 1984, 1986a, GRUSCHWITZ & BÖHME 1986, 1989).

Als Ektoparasiten sind bisher Milben der Art *Ophionyssus lacertinus* und Zecken der Art *Ixodes ricinus* bekannt (GRUSCHWITZ & BÖHME 1986). Der Befall mit Zecken kann sehr massiv sein, so hat beispielsweise FROESCH-FRAZON (1982), bei in der Schweiz untersuchten Mauereidechsen pro Tier drei bis vierzehn Zecken gezählt. Hierbei handelte es sich um einen „feuchteren“ Standort. Alle Tiere waren befallen. In den trockeneren Biotopen war der Befall deutlich geringer. Entweder waren die Tiere nicht befallen oder mit maximal vier Zecken. DEXEL (1984, 1986a) stellte bei Untersuchungen im Siebengebirge einen Befall mit Zecken fest. Hier betrug der Maximalbefall bei Männchen bis zu 20 und bei Weibchen bis zu 8 Zecken. Keiner der Autoren konnte eine Schädigung des Wirtes feststellen.

2.3.1.2 Weitere Gefährdungsursachen

Nach GRUSCHWITZ & BÖHME (1986) ist der Bestand der Mauereidechse in ihrem Gesamtverbreitungsgebiet nicht gefährdet. Dagegen unterliegen die isolierten und oft individuenschwachen Populationen am Nordrand ihres Areals einer Vielzahl von Gefährdungen, die zur Auslöschung von Teilpopulationen und damit zur Arealregression beitragen können. In allen Bundesländern, in denen die Mauereidechse vorkommt, gilt sie als „stark gefährdet“ bzw. „vom Aussterben bedroht“, mit Ausnahme von Rheinland-Pfalz. Hier hat sie ihren Verbreitungsschwerpunkt innerhalb Deutschlands und wird als nicht im Bestand gefährdete Reptilienart eingestuft (GRUSCHWITZ 1987). Dies schließt jedoch eine regionale Gefährdung von individuenschwachen, isolierten Teilpopulationen nicht aus.

Die wichtigsten Gefährdungsursachen bzw. Gefährdungsfaktoren lassen sich wie folgt zusammenfassen (nach GRUSCHWITZ & BÖHME 1986):

1. Beeinträchtigung oder Zerstörung wichtiger Habitatstrukturen durch

- Sanierungs- und Baumaßnahmen einschl. der Neuanlage von Straßen und

Wegen,

- Aufforstung im Bereich von Steinbrüchen, Abraumhalden und Steinschüttungen,
- Bewirtschaftung einschließlich Biozid-Spritzung, vor allem in Weinanbaugebieten,
- Flurbereinigung,
- Ersatz von Mauerwerk mit Bruchsteinstruktur durch fugenlosen Beton bzw. vollständigen Abriss oder ständige Ausbesserungsarbeiten am Mauerwerk
- Rebflurbereinigungen und dem vermehrten Einsatz von Bioziden im Weinbau ist die Mauereidechse als Charakterart der Weinberge Süddeutschlands seit den 50er Jahren betroffen. Besonders nachteilig wirkte sich der mit der Rebflurbereinigung verbundene Abriss vieler Trockenmauern aus (LfU 1993)

2. Gezieltes Abfangen zum Zwecke des Tierhandels einschließlich der Nutzung als „Futtereidechsen“

Zwei weitere Faktoren müssen hier noch erwähnt werden, die zu Bestandsrückgängen führen können (DEXEL 1984):

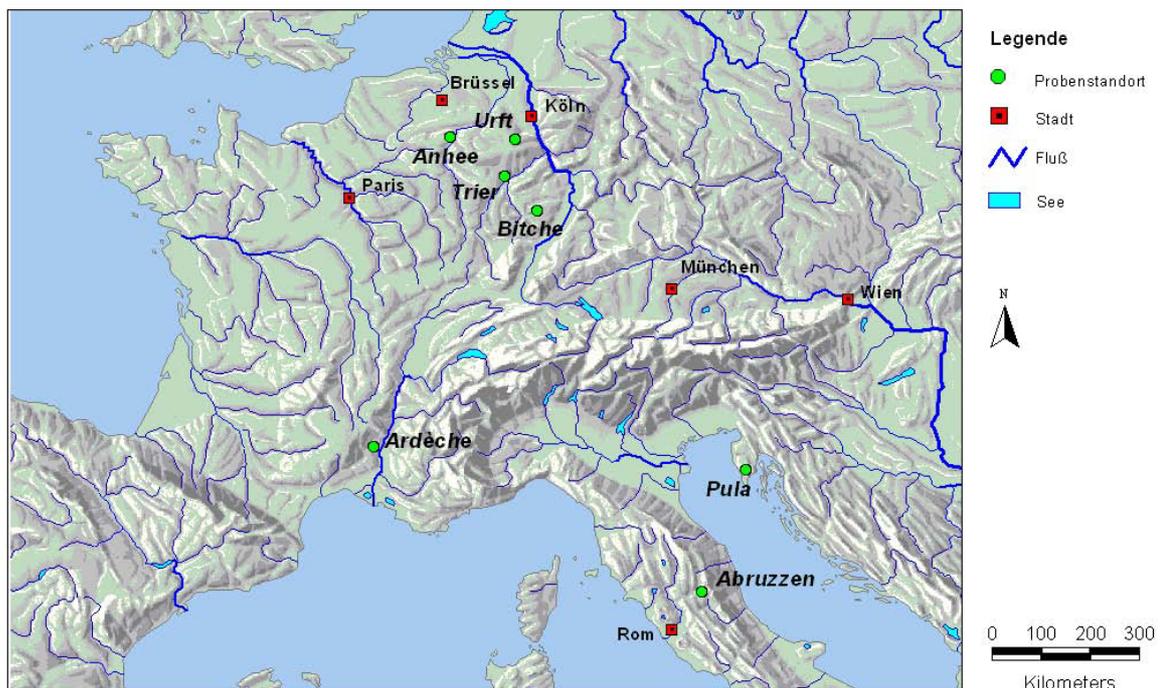
- Es gibt Hinweise darauf, dass die Klimasituation, die über die Zahl der Sonnentage die Schlüpfrate der Jungtiere beeinflusst, als primäre Gefährdungsursache in Mitteleuropa betrachtet werden kann. Dies könnte bei den meisten ursprünglich mediterranen Reptilienarten wie Mauereidechse, Smaragdeidechse, Würfelnatter und Äskulapnatter der Fall sein (GRUSCHWITZ & BÖHME 1986). W. BÖHME (1989) schließt aus dem eurytopen Verhalten der Mauereidechse an den nördlichen Fundpunkten und aus den Untersuchungsergebnissen von DEXEL (1984) im Siebengebirge bei Bonn, dass es sich bei den Isolaten der Mauereidechse an der nördlichen Arealgrenze nicht um Relikte, sondern vielmehr um Vorposten einer Expansion handeln könnte.

- Beeinträchtigung bzw. Verlust wichtiger Habitatstrukturen durch zunehmende Beschattung als Folge zunehmenden Pflanzenwuchses im Rahmen natürlicher Sukzession, besonders nach Aufgabe traditioneller Bewirtschaftung im Bereich von Weinbergen und Trockenmauern.

3 Untersuchungsgebiete

Die für die vorliegende Arbeit verwendeten Individuen von *Podarcis muralis* wurden während mehrerer Reisen in den Jahren 2001 bis 2004 vom Autor selbst gesammelt. Folgende Länder wurden beprobt:

- Italien: Hier wurde in den Abruzzen zwischen Rom und Pescara der Standort Alba fucens beprobt.
- Kroatien: Hier wurden 11 Tiere im Amphitheater der Stadt Pula gefangen.
- Frankreich: In Süd-Frankreich wurden in St. Martin d’Ardèche und ca. 600 km weiter nördlich in Bitche (Lothringen) Tiere gefangen.
- Deutschland: Als Standort wurde Igel bei Trier (Rheinland-Pfalz), sowie in der Nordeifel die Urft-Talsperre bei Gemünd (Nordrhein-Westfalen) beprobt.
- Belgien: An der Maas wurde als Untersuchungsgebiet eine Burgruine bei der Stadt Anhee, in der Nähe der Stadt Dinant ausgewählt.



Karte 4: Übersichtskarte Probenstandorte

3.1 Italien

3.1.1 Abruzzen

Im Rahmen einer Reise in die Abruzzen vom 01.05.2002 – 14.05.2002 wurde die Ausgrabungsstätte Alba fucens beprobt. Im Folgenden wird der Standort „Abruzzen“ genannt.

3.2 Kroatien

3.2.1 Istrien

In Pula wurden Individuen von *Podarcis muralis* im Amphitheater der Stadt im Juni 2003 gefangen. Im Folgenden wird der Standort „Pula“ genannt.

3.3 Frankreich

3.3.1 Provence

In den Jahren 2001 und 2002 wurden jeweils 9 Tiere in St. Martin d’Ardèche, in der Region Provence Côte-d’Azur, gefangen. Im Folgenden wird der Standort „Ardèche“ genannt.

3.3.2 Lothringen

Im Jahre 2002 wurden 20 Tiere in Bitche, Lothringen, gefangen. Im Folgenden wird der Standort „Bitche“ genannt.

3.4 Deutschland

3.4.1 Rheinland-Pfalz

Im Jahr 2002 wurden 13 Tiere in Igel an der Mosel gefangen. Igel liegt ca. 7 km von Trier entfernt. Der Einfachheit halber wird im Folgenden der Standort der größeren Bekanntheit wegen „Trier“ genannt.

3.4.2 Nordrhein-Westfalen

Im April 2003 wurden 12 Proben an der Urft-Talsperre bei der Stadt Gemünd gesammelt. Gemünd liegt in der Nord-Eifel, in Nordrhein-Westfalen. Im Folgenden wird der Standort „Urft“ genannt.

3.5 Belgien

3.5.1 Anhée

Im Juni 2004 wurden 21 Tiere in Süd-Belgien in der Burgruine Montaigne bei dem Ort Anhée gefangen. Anhée liegt bei der Stadt Dinant an der Meuse (Maas) und ca. 18 km südlich der Stadt Namur. Im Folgenden wird der Standort „Anhée“ genannt.

4 Material und Methoden

4.1 Kartierung

Die Tiere wurden mit einer 2 m langen Angel, an der ein ca. 10 cm langer weißer Bindfaden mit Schlinge befestigt war, gefangen. Die Schlinge wurde den Tieren über den Kopf gezogen, was sich wegen der Vegetation und des Windes als Geduldsspiel erwies. Nach Entfernen der Schlinge wurden die Tiere am Schwanzende festgehalten, was dazu führte, dass sie die Schwanzenden autotomierten, und zwar so weit hinten, wie man sie festhielt. Die Größe des Probenmaterials konnte auf diese Weise beeinflusst werden. Wurden die Tiere zu lange untersucht ließ die Bereitschaft der Tiere ihre Schwanzenden zu autotomieren schnell nach, d.h. von einigen Tieren konnte kein Probenmaterial entnommen werden. Einige Tiere wurden direkt mit der Hand gefangen.

4.1.1 Die Populationen von *Alba fucens*

Im Rahmen einer Reise in die Abruzzen vom 01.05.2002 – 14.05.2002 wurden 14 Tiere in der Ausgrabungsstätte *Alba fucens* gesammelt. *Alba fucens* liegt auf 1016 m ü. NN in der Provinz L'Aquila, ganz in der Nähe der Stadt l'Aquila. Es handelt sich um eine historische Ausgrabungsstätte einer von den Equeern errichteten Stadt.

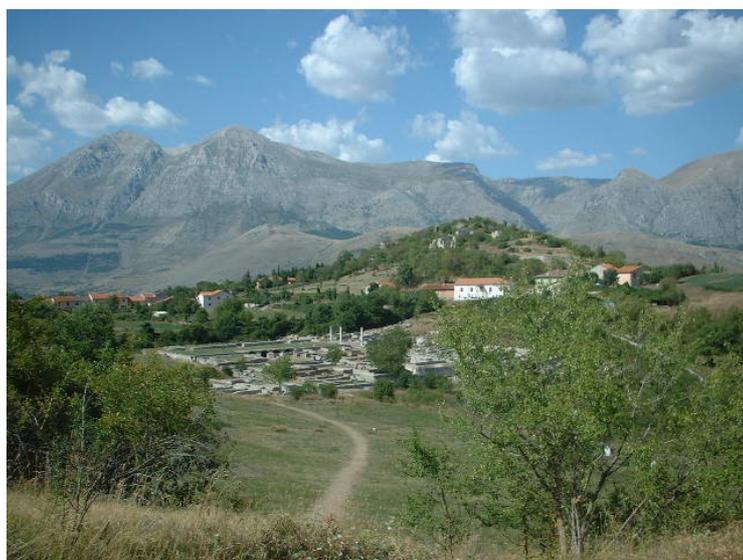


Abb. 2: *Alba fucens*

In den zum Großteil unverfugten Mauerspalten wurden zahlreiche Mauereidechsen beobachtet. Auch außerhalb der eigentlichen Ausgrabungsstätte konnten viele Tiere beobachtet werden. So kamen Tiere im angrenzenden Ort, sowie im oberhalb der Ruinen gelegenen Amphitheater und der kleinen Kirche vor. Die Populationsstärke dürfte mehr als einhundert Tiere betragen.

Bei mehreren Wanderungen in der weiteren Umgebung von Alba fucens wurden immer wieder zahlreiche Mauereidechsen beobachtet.

Tabelle 1 Charakterisierung der Proben (Abruzzen)

Nr.	Datum	Taxon	Ort	G.	K-R-L (mm)	S-L (mm)	Gesamt-L (mm)	Besonderes
1	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	w.	55	79	134	Regenerat
2	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	m.	59	108	167	
3	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	w.	53	86	139	
4	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	w.	51	45	96	Regenerat
5	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	m.	62	112	174	
6	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	m.	56	111	167	
7	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	m.	52	97	149	
8	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	w.	54	89	143	
9	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	w.	57	87	144	Regenerat
10	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	m.	60	109	169	
11	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	w.	57	89	146	
12	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	m.	59	110	169	
13	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	w.	55	82	137	Regenerat
14	13.05.2002	<i>P. muralis</i>	Alba fucens	w.	52	91	143	

G. = Geschlecht, K-R-L = Kopf-Rumpf-Länge, S-L = Schwanzlänge, Gesamt-L = Gesamtlänge
Regenerat = Schwanzregenerat

4.1.2 Die Populationen der Stadt Pula

Im Rahmen einer Reise nach Kroatien wurden im Amphitheater von Pula am 03.06.2003 und dem 04.06.2003 14 Mauereidechsen gefangen. Pula liegt an der Südspitze von Istrien auf Meeresniveau. Im Amphitheater treten Mauereidechsen sehr zahlreich auf. Auch außerhalb des Amphitheaters ist die Mauereidechse in der Stadt an geeigneten Stellen zahlreich anzutreffen.



Abb. 3: Amphitheater der Stadt Pula

Die Populationsstärke in der Stadt dürfte mehrere hundert Tiere betragen.

Bei den Tieren handelt es sich höchstwahrscheinlich um *Podarcis muralis maculiventris* (WERNER, 1891).

Tabelle 2 Charakterisierung der Proben (Istrien)

Nr.	Datum	Taxon	Ort	G.	K-R-L (mm)	S-L (mm)	Gesamt-L (mm)	Besonderes
1	03.06.2003	P. muralis	Pula	m.	64	70	134	Regenerat
2	03.06.2003	P. muralis	Pula	w.	60	109	167	
3	03.06.2003	P. muralis	Pula	w.	56	92	148	
4	03.06.2003	P. muralis	Pula	m.	63	111	174	
5	03.06.2003	P. muralis	Pula	m.	61	105	166	
6	03.06.2003	P. muralis	Pula	w.	53	67	120	Regenerat
7	03.06.2003	P. muralis	Pula	m.	63	113	176	
8	03.06.2003	P. muralis	Pula	w.	57	72	129	Regenerat
9	04.06.2003	P. muralis	Pula	m.	65	90	155	Regenerat
10	04.06.2003	P. muralis	Pula	w.	58	70	128	Regenerat
11	04.06.2003	P. muralis	Pula	m.	63	100	163	

G. = Geschlecht, K-R-L = Kopf-Rumpf-Länge, S-L = Schwanzlänge, Gesamt-L = Gesamtlänge
Regenerat = Schwanzregenerat

4.1.3 Die Populationen von St. Martin d' Ardèche

St. Martin d'Ardèche liegt in der Region Provence Côte d'Azur, ca. 8 km nordwestlich der Mündung des Flusses Ardèche in die Rhône und ca. 30 km nördlich der Stadt Orange. Die Entfernung zum Mittelmeer beträgt ca. 90 km. Die Höhe

über dem Meeresniveau beträgt nur wenige Meter. Die 18 Tiere wurden bei zwei Reisen in die Region in den Jahren 2001 und 2002 gefangen. Die gefangenen Tiere leben in Röhren und Spalten in einer Mauer direkt am Ufer der Ardèche. Bei der zweiten Probenahme im Jahre 2002 wurden nur Tiere beprobt, die kein Schwanzregenerat hatten, um eine Doppelbeprobung mit dem Jahr 2001 zu vermeiden. Die Populationsgröße ist sehr groß. Ein Gen-Austausch mit Tieren aus der Umgebung ist leicht möglich. Im gesamten Bereich der Ardèche und der Rhône ist die Mauereidechse verbreitet. Vermutlich handelt es sich bei dieser Region um ein Refugialzentrum der Mauereidechse während der letzten Eiszeit (BAMMERLIN et al. 1996). Eine Ausbreitung von hier aus nach Norden entlang der Rhône ist sehr wahrscheinlich.



Abb. 4: St. Martin d´Ardèche

Tabelle 3 Charakterisierung der Proben (Ardèche)

Nr.	Datum	Taxon	Ort	G.	K-R-L (mm)	S-L (mm)	Gesamt-L (mm)	Besonderes
1	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	58	84	142	Regenerat
2	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	61	82	143	Regenerat
3	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	w	48	85	133	
4	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	59	99	158	
5	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	w.	52	68	120	Regenerat
6	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	w.	55	99	154	
7	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	62	105	167	
8	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	w.	57	72	129	Regenerat
9	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	w.	57	94	151	
10	23.04.2001	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	59	71	130	Regenerat
11	02.08.2002	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	62	106	168	
12	02.08.2002	<i>P. muralis</i>	St. Martin	w.	55	107	162	
13	02.08.2002	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	62	112	174	
14	02.08.2002	<i>P. muralis</i>	St. Martin	w.	59	100	159	
15	02.08.2002	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	58	102	160	
16	02.08.2002	<i>P. muralis</i>	St. Martin	w.	57	105	162	
17	02.08.2002	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	60	108	168	
18	02.08.2002	<i>P. muralis</i>	St. Martin	m.	59	109	168	

G. = Geschlecht, K-R-L = Kopf-Rumpf-Länge, S-L = Schwanzlänge, Gesamt-L = Gesamtlänge
Regenerat = Schwanzregenerat

4.1.4 Die Population von Bitche

Bitche liegt ca. 600 km nördlich von St. Martin d' Ardèche in Lothringen. Die Entfernung nach Saarbrücken im Saarland beträgt ca. 35 km, zum Rhein (Wörth) im Osten hin ca. 64 km. Die 20 Tiere wurden an den Befestigungsmauern der Zitadelle der Stadt Bitche im Jahr 2002 gefangen.



Abb. 5: Zitadelle von Bitche

Tabelle 4 Charakterisierung der Proben (Bitche)

Nr.	Datum	Taxon	Ort	G.	K-R-L (mm)	S-L (mm)	Gesamt-L (mm)	Besonderes
1	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	w.	53	63	116	Regenerat
2	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	w.	56	96	152	
3	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	60	107	167	
4	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	w.	57	98	155	
5	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	59	74	133	Regenerat
6	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	62	113	175	
7	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	w.	55	93	148	
8	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	61	84	145	Regenerat
9	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	62	112	174	
10	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	w.	56	89	145	
11	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	w.	57	69	126	Regenerat
12	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	61	108	169	
13	14.06.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	w.	59	107	166	
14	12.07.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	60	110	170	
15	12.07.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	61	81	142	Regenerat
16	12.07.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	w.	52	90	142	
17	12.07.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	62	111	173	
18	12.07.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	60	83	143	Regenerat
19	12.07.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	w.	54	66	120	Regenerat
20	12.07.2002	<i>P. muralis</i>	Bitche	m.	61	109	170	

G. = Geschlecht, K-R-L = Kopf-Rumpf-Länge, S-L = Schwanzlänge, Gesamt-L = Gesamtlänge
Regenerat = Schwanzregenerat

Naturräumlich liegt Bitche in den Nordvogesen. Im gesamten Umland ist die Mauereidechse verbreitet (eigene Beobachtungen). So findet man sie an natürlichen Felsen, wie auch an mehreren Burgruinen in der Umgebung (eigene Beobachtung). Die Populationsstärke beträgt mehrer hundert Tiere direkt in Bitche. An der Zitadelle leben die Tiere in zahlreichen Mauerspalten.

4.1.5 Die Population der Stadt Trier

Die Tiere leben in historischen Ausgrabungsstätten in der Stadt, sowie an Trockenmauern in Weinbergen im Moseltal und den Tälern der Nebenflüsse wie Ruwer, Kyll und Saar. Bei den historischen Ausgrabungsstätten handelt es sich um die Kaiserthermen, die Barbarathermen und das Amphitheater (GASSERT 2000). Die Mauereidechsen-Populationen außerhalb der Stadt Trier haben die Möglichkeit, untereinander in Verbindung zu treten. Ein Austausch an genetischem Material ist bis in heutige Zeit möglich. Rechts und links der Mosel auf den Radwegen und an der Uferböschung, sowie an fast allen Weinbergen

konnten Tiere nachwiesen werden. Nach JAKOBS (1976, 1981) ist die Mauereidechse die häufigste Reptilienart im Trierer Raum. Für die vorliegende Arbeit wurden Mauereidechsen in der Nähe des Ortes „Igel“ gefangen. Die Tiere befanden sich moselaufwärts an Trockenmauern in den Weinbergen. Die Populationsstärke wird auf mehr als einhundert Tiere geschätzt (eigene Schätzung).



Abb. 6: Trockenmauer (Lebensraum der Mauereidechse) bei Igel

Tabelle 5 Charakterisierung der Proben (Igel bei Trier)

Nr.	Datum	Taxon	Ort	G.	K-R-L (mm)	S-L (mm)	Gesamt-L (mm)	Besonderes
1	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	w.	52	52	104	Regenerat
2	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	w.	55	69	124	Regenerat
3	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	m.	60	100	160	
4	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	m.	61	102	163	
5	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	m.	59	98	157	
6	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	w.	55	70	125	Regenerat
7	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	w.	60	93	153	
8	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	m.	62	80	142	
9	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	m.	61	99	160	
10	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	w.	58	78	136	Regenerat
11	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	w.	59	93	152	
12	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	m.	62	88	150	Regenerat
13	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Igel	m.	63	90	153	

G. = Geschlecht, K-R-L = Kopf-Rumpf-Länge, S-L = Schwanzlänge, Gesamt-L = Gesamtlänge
Regenerat = Schwanzregenerat

4.1.6 Die Population der Urft-Talsperre

Die Urft-Talsperre liegt bei der Stadt Gemünd, ca. 16 km von der Belgischen Grenze, ca. 32 km von Aachen, sowie ca. 44 km von Bonn entfernt.



Abb. 7: Uferbereich der Urfttalsperre

Die Tiere leben in anstehenden Schieferhängen in einem militärischen Sperrgebiet einer belgischen Garnison. Die Tiere wurden im Mai 2003 gefangen. Sie kommen entlang des Ufers des Urft-Sees und des anstehenden Schiefergesteins in großer Zahl vor.



Abb. 8: Anstehender Schiefer als Lebensraum der Mauereidechse an der Urfttalsperre

Tabelle 6 Charakterisierung der Proben (Urft)

Nr.	Datum	Taxon	Ort	G.	K-R-L (mm)	S-L (mm)	Gesamt-L (mm)	Besonderes
1	28.08.2001	<i>P. muralis</i>	Urft	w.	56	97	153	
2	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	m.	61	102	163	
3	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	w.	58	99	157	
4	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	m.	59	78	137	Regenerat
5	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	m.	62	108	170	
6	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	w.	56	77	133	Regenerat
7	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	w.	58	106	164	
8	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	w.	54	76	130	Regenerat
9	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	m.	62	103	165	
10	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	m.	60	106	166	
11	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	m.	60	72	132	Regenerat
12	18.04.2003	<i>P. muralis</i>	Urft	m.	62	100	162	

G. = Geschlecht, K-R-L = Kopf-Rumpf-Länge, S-L = Schwanzlänge, Gesamt-L = Gesamtlänge
Regenerat = Schwanzregenerat

4.1.7 Die Population von Anhée

Im Juni 2004 wurden 21 Tiere in Süd-Belgien, in der Burgruine Montaigne bei dem Ort Anhée gefangen. Anhée liegt nahe der Stadt Dinant an der Meuse (Maas), ca. 18 km südlich der Stadt Namur.



Abb. 9: Burgruine Montaigne bei Anhée

Die Tiere leben in den unverputzten Mauerspaltten der Burgruine. Über das gesamt Gelände wurden Tiere beobachtet. Die Populationsstärke ist schwer zu schätzen. An einem Tag wurden 42 Tiere gezählt.

Tabelle 7 Charakterisierung der Proben (Anhée in Belgien)

Nr.	Datum	Taxon	Ort	G.	K-R-L (mm)	S-L (mm)	Gesamt-L (mm)	Besonderes
1	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	60	108	168	
2	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	62	69	131	Regenerat
3	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	55	69	124	
4	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	58	107	165	
5	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	47	67	114	
6	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	54	67	121	Regenerat
7	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	52	71	123	
8	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	47	70	117	
9	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	63	90	153	
10	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	60	97	157	
11	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	53	82	135	
12	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	52	72	124	Regenerat
13	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	56	85	141	
14	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	58	81	139	
15	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	55	71	126	Regenerat
16	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	45	75	120	Juvenil
17	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	52	82	134	
18	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	60	55	115	Regenerat
19	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	53	70	123	
20	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	62	74	136	Regenerat
21	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	60	111	171	

G. = Geschlecht, K-R-L = Kopf-Rumpf-Länge, S-L = Schwanzlänge, Gesamt-L = Gesamtlänge
Regenerat = Schwanzregenerat

5 Populationsgenetik

Genetische Untersuchungsmethoden gewinnen in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung. Mit ihrer Hilfe ist es möglich über die morphologische, verhaltensbiologische oder biochemische Ebene hinaus Populationen zu differenzieren. Die Genetik stellt ein wichtiges Instrument beim Verständnis Biogeographischer Fragen dar. Durch die Entwicklung neuerer genetischer Verfahren besteht seit den achtziger Jahren die Möglichkeit zur Überprüfung der genetischen Variabilität und Variation von Populationen. Die genetische Variation ist in natürlichen Populationen teilweise überraschend hoch und es gibt immer noch keine absolute Klarheit darüber, wie genetische Variation zustande kommt (ORR 1998, COMERON et al. 1999, HEY 1999, QUESADA et al 1999). Nach Ansicht der so genannten Neutralisten werden instabile Polymorphismen überwiegend durch genetische Drift hervorgerufen (KIMURA 1983, NEI 1988). Im Gegensatz dazu sehen die so genannten Selektionisten Polymorphismen als stabil an, da durch balancierende Selektion verschiedene Allele in verschiedenen Mikrohabitaten erhalten werden (SILVA & RUSSO 2000). Die Begriffe genetische Variation und genetische Variabilität werden oftmals synonym verwendet, in der Evolutionsbiologie werden sie jedoch unterschiedlich definiert. Genetische Variation bedeutet aktuell beobachtete Unterschiede zwischen Individuen, während Variabilität die potenzielle Differenzierung beschreibt. Variabilität ist die Fähigkeit, sich an wechselnde Umweltbedingungen anzupassen. Wenn an einem Genort genetische Variation beobachtet wird, muss er natürlich variabel sein. Der Umkehrschluss hingegen kann nicht getroffen werden. Das Auftreten von genetischer Variation kann viele Ursachen haben. Als Ursachen kommen Mutationen, Rekombination der Allele bei zweigeschlechtlicher Paarung, Zufallsprozesse wie genetische Drift, lokale Muster von Genfluss, Austauschprozesse zwischen Teilpopulationen und verschiedene Selektionsbedingungen aufgrund lokal unterschiedlicher abiotischer und biotischer Faktoren in Frage. Als Mutation wird das Auftreten von vererbaren Veränderungen der Basensequenz eines bestimmten Genabschnitts bezeichnet. Diese Sequenzveränderungen können nur während der Replikation der DNA entstehen. Wirkt sich diese Veränderung phänotypisch aus, wird diese neue

Eigenschaft durch Selektion auf ihre Fitness getestet. Mutation und Selektion sind die wesentlichen Faktoren der Evolution. Genetische Variabilität bildet die Basis für natürliche und künstliche Selektion und stellt damit eine wichtige Voraussetzung für das Überleben der Populationen dar. Auch die effektive Populationsgröße (N_e) spielt bei der Erhaltung genetischer Variation eine große Rolle. Die effektive Populationsgröße umfasst alle Tiere einer Population, die fortpflanzungsfähig sind und auch tatsächlich am Fortpflanzungsgeschehen teilnehmen (EWENS 1982). Die effektive Populationsgröße ist deshalb meist kleiner als die Zahl der Individuen einer Population.

Offenbar können auch kleinräumige Unterschiede der Habitatbedingungen genetische Variation hervorrufen (LINHART 1974, MENGES 1991, TURKINGTON & AARSON 1984). Genetische Differenzierung ist jedoch nur durch einen lokal eingeschränkten Genfluss möglich. Neben den ständig auf eine Population einwirkenden Faktoren wie Genfluss und Gendrift, Selektion und Mutation gibt es einige historische Faktoren, die die genetische Zusammensetzung von Populationen beeinflussen. Solche historischen Ereignisse können Habitatfragmentierungen sein, die den Genfluss zwischen Teilpopulationen verringern und zu erhöhter Inzucht führen können, oder die Arealausdehnung, die gegenläufige Auswirkungen hat. Ebenso bedeutsam wie die vorher genannten Faktoren sind historische Ereignisse bei der Neubesiedlung eines Areals (founder effect) oder ein genetischer Flaschenhals (bottleneck), der durch extreme Verkleinerung der Populationsgröße hervorgerufen werden kann.

Vor Entwicklung der molekulargenetischen Methoden konnten Mutationen nur morphologisch, ethologisch oder aufgrund der Leistungsfähigkeit der Individuen erkannt werden. Da sich nicht alle Mutationen auf die Expression der Aminosäuresequenzen auswirken und diese sich nicht in jedem Fall durchsetzen können, ist auf der Ebene der DNA eine größere genetische Variation vorhanden, als bei der Untersuchung phänotypischer Merkmale erkennbar ist. Hinzu kommt, dass der größte Teil (> 95 %) der genomischen DNA neben diesen kodierenden Bereichen aus nichtkodierenden Sequenzen besteht, deren Mutationen, soweit heute bekannt ist, keine Wirkung auf den Phänotyp ausüben. Außerdem sind innerhalb von Genen die ursächlichen Mutationen oft nicht bekannt, so dass insbesondere die Variabilität nichtkodierender Bereiche in Form von

molekulargenetischen Markern als Informationsquelle genutzt wird. Die molekulare Populationsgenetik untersucht die genetische Struktur von Populationen mit den Methoden der Molekularbiologie. Es gibt nur wenige Bereiche in der Biologie, die im gleichen Maße von mathematischer Theorie beeinflusst und geleitet wurden, wie die Populationsgenetik. Um die mathematischen Schwierigkeiten beherrschbar zu machen, werden viele Vereinfachungen verwendet, die allerdings die Komplexität natürlicher Populationen ignorieren. Dennoch haben sowohl empirische als auch theoretische Methoden in der Populationsgenetik große Erfolge erzielt. Genetische Variation ist als direkt beobachtbare Eigenschaft vergleichsweise einfach zu messen. Auf der Individuenebene wird sie als Heterozygotie angegeben. Im Gegensatz dazu ist die genetische Variabilität schwieriger zu messen, sie wird oftmals als Mutationsrate angegeben.

Auf der Populationsebene kann die Verteilung genetischer Variation mit dem Inzuchtkoeffizienten F_{IS} als Maß genotypischer Diversität angegeben werden. Inzucht bedeutet, dass zwei Individuen sich kreuzen, die näher miteinander verwandt sind als zwei zufällig ausgewählte Individuen der Population (HEDRICK 2000). Der Inzuchtkoeffizient F_{IS} drückt die Wahrscheinlichkeit aus, dass zwei homologe Allele eines Individuums von gleicher Abstammung sind (identity by descent). Das bedeutet, dass beide Kopien eines Allels einen gemeinsamen Ursprung haben. Daneben können jedoch auch Allele vorkommen, die zwar die gleiche Größe aufweisen, jedoch nicht von gleicher Abstammung sind (identity in state). Beim Vergleich verschiedener Populationen wird die Verteilung der Allelfrequenzen als F_{ST} -Wert angegeben. Im Zusammenhang mit verringerter genetischer Variation wird bei einigen Arten eine verringerte Fitness beobachtet (inbreeding depression). Fruchtbarkeit und Anpassungsfähigkeit können reduziert werden (BIJLSMA et al. 1994, BRAKEFIELD 1992).

Aufgrund theoretischer Modelle wird ein erheblicher Verlust genetischer Variation in kleinen Populationen als Folge von Inzucht und genetischer Drift erwartet (NEI et al. 1975, WRIGHT 1978). So treten bei in Gefangenschaft gehaltenen Populationen häufig inzuchtbedingte nachteilige „Fitnesskonsequenzen“ auf. Die erniedrigte Lebensfähigkeit kann sich bei gezüchteten Populationen in Form von höherer Mortalität, reduzierter Fertilität und zunehmender Anfälligkeit für Krankheiten äußern. Für wildlebende Tierarten stellt der Gepard (*Acinonyx*

jubatus) das wohl bekannteste Beispiel dafür dar, dass eine sehr geringe genetische Variation als Ursache für erhöhte Jungtiersterblichkeit und erniedrigte Reproduktionsraten angeführt wird (O' BRIAN et al. 1983, 1985, 1986). Im Gegensatz dazu gibt es Beispiele für Arten, die trotz geringer genetischer Variation aufgrund geringer Individuenzahlen keine nachteiligen Folgen bzgl. demografischer Merkmale, wie Mortalität oder Fertilität haben. Als Beispiele hierfür gelten der nördliche See-Elefant (*Mirounga angustirostris*) der schwarze Fliegenschnäpper (*Petroica traversi*) und die Hawaiiigans (*Branta sandvicensis*). Im Gegensatz zur Inzuchtdepression wird als „genetische Drift“ eine Änderung von Allelfrequenzen bezeichnet, die als Konsequenz stochastischer Fluktuationen in der Vererbung der jeweiligen Allele von Generation zu Generation auftritt. Das Verständnis der Abläufe innerhalb des Genoms ist von fundamentaler Bedeutung für die Anwendung genetischer Methoden in der Populationsbiologie.

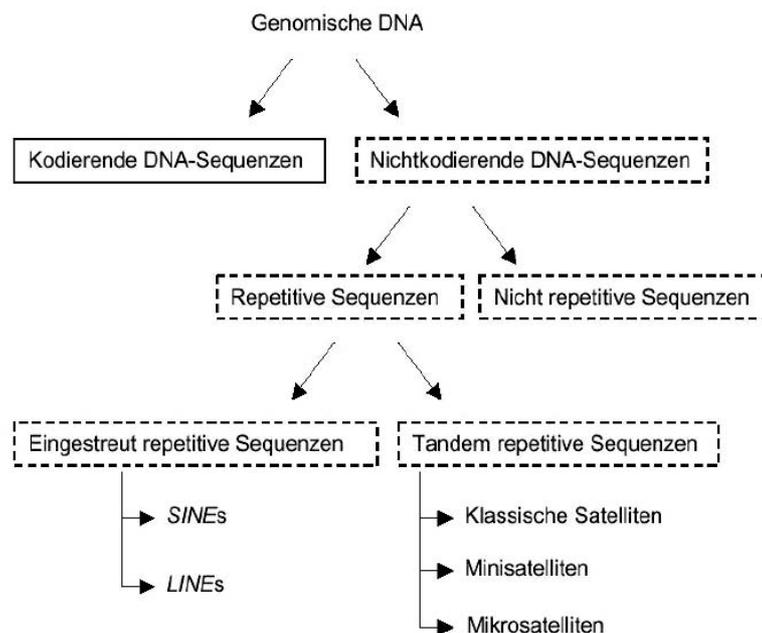


Abb. 10: Aufbau des Eukaryonten Genoms

In höheren Genomen sind die Gene in der Regel aus codierender DNA (Exons) und nicht codierender DNA (Introns) zusammengesetzt. Anhand von Basensequenzen, die in verschiedenen Häufigkeitsklassen vorkommen, nämlich Einzelkopiesequenzen, mittelrepetitiven (1000 bis über 10.000 Kopien) und

hochrepetitiven Sequenzen (1 Million Kopien und darüber), lässt sich die DNA weiter einteilen. Innerhalb eines diploiden Wirbeltiergenoms (Größe eines Genoms ca. 3×10^9 bp, Hennig 1998) besteht etwa 1/3 aus repetitiven Abschnitten, die nicht für Proteine codieren und deren Funktion bisher noch nicht geklärt ist. Von diesen mäßig bis hochrepetitiven Abschnitten liegen 60% als Tandemwiederholungen und 40 % als verstreut liegende Wiederholungen vor (KRAWCZAK & SCHMIDTKE 1994).

Tabelle 8 Unterteilung der DNA-Tandemwiederholungen (Satelliten-DNA)

Typ	Wiederholungsgrad pro Locus	Anzahl der Loci	Länge der wiederholten Einheiten in Basenpaaren (bp)
Satelliten	$10^3 - 10^7$	1 - 2 pro Chromosom	ein bis einige tausend bp
Minisatelliten	$10^0 - 10^3$	viele tausend pro Genom	9 - 100 bp
Mikrosatelliten	$10^0 - 10^2$	bis zu 10^5 pro Genom, je nach Wiederholungsmotiv	1 - 6 bp

Da der Austausch oder der Wegfall eines Nukleotids bzw. die Umlagerung ganzer Sequenzteile im Gegensatz zu den codierenden Bereichen vermutlich nicht zu einer Fehlfunktion im Organismus führt, zeichnet sich dieser nicht codierende Teil der DNA auf Populationsniveau durch eine wesentlich höhere Variabilität aus. Diese erhöhte Variabilität im nicht codierenden Bereich macht diesen für Variabilitätsuntersuchungen interessant. Häufig sind gerade die tandemartig angeordneten repetitiven Sequenzen besonders reich an genetischer Variation, daher auch ihre Bezeichnung als HVRs (hypervariable regions) (KRAWCZAK & SCHMIDTKE 1994). Jede Veränderung der genetischen Konstitution einer Zelle, die nicht mit sexueller Fortpflanzung oder Rekombination in Zusammenhang steht und erblich manifestiert ist, wird als Mutation bezeichnet. Mutationen sind ein Grundphänomen in allen biologischen Systemen. Dieses Entstehen von Erbgutveränderungen ist in allen biologischen Systemen programmiert, da allein sie im Stande sind, das notwendige genetische Material für evolutionäre Prozesse

zur Verfügung zu stellen. Mutation und Selektion sind die Hauptkräfte, welche die Genpool- Zusammensetzung einer Population bestimmen. Die Mutation ist eine ungerichtete Kraft, die neue Variabilität in eine Population bringt. Im Gegensatz zu Veränderungen am Erbgut von Keimzellen erfolgt keine Weitergabe an die folgenden Generationen. Die Vorgänge um die Verdopplung des Erbguts (Replikation) und die Realisierung der genetischen Information (Transkription, Translation) sind alle höchst kompliziert und bedürfen eines großen Aufwandes an Energie und Material in der Zelle. Dabei geschehen spontan Fehler. Spontane oder induzierte Änderungen des Erbgutes werden als Mutationen bezeichnet.

Mutationen sind allgemein genetische Änderungen der Basensequenzen in der Desoxyribonukleinsäure (DNA). Sie treten prinzipiell spontan, bzw. durch spezifische chemische oder physikalische Schädigungen auf. Im Gegensatz zu Veränderungen am Erbgut von Keimzellen erfolgt keine Weitergabe an die folgenden Generationen.

Es wird allgemein zwischen 3 Mutationstypen unterschieden:

- Genommutationen
- Chromosomenmutationen
- Punktmutationen (= Genmutation)

Mutationen im codierenden Bereich sind wegen der damit verbundenen Struktur- und Funktionsänderung der entsprechenden Proteine, sofern eine Mutation überhaupt zu einer Codon- Änderung führt, meist zum Nachteil des Organismus und unterliegen damit einer direkten Selektion. Da die repetitiven, nicht codierenden Bereiche offenbar keiner gerichteten Selektion unterliegen, häufen sich hier Mutationen und Umlagerungen an. Gerade deshalb sind diese Bereiche zur Untersuchung der Variabilität besonders interessant. Genetische Untersuchungen auf Proteinebene decken diese Polymorphismen nicht auf, was dazu führt, dass bei Iso- und Allozymuntersuchungen meist eine geringere genetische Variabilität festgestellt wird (u. a. BARLOW & RIDGEWAY in HARDING et al. 1997, MACARANAS et al. 1995). Bisherige Allozymanalysen von Mauereidechsen-Populationen zeigten, dass 18 (86%) der 21 untersuchten Allozyme fixierte Allele auf Artebene aufweisen (MAYER & TIEDEMANN 1980,

1982). So betragen die genetischen Distanzen (NEI 1971) verschiedener *Podarcis muralis*-Unterarten im Mittel nur 0.002, während Populationen der verwandten Art *P. tiliguerta* mittlere Distanzen von 0.079 aufwiesen (MAYER 1981; GUILLAUME & LANZA 1982). Untersuchungen von CAPULA (1997) bei Insel- und Festlandspopulationen von *Podarcis muralis* zeigten genetische Distanzen von 0,001 bis 0,086. Der heutige Kenntnisstand beweist jedoch, dass in natürlichen Populationen eine größere genetische Variation vorhanden ist, als durch Untersuchungen auf Proteinebene festgestellt wurde (MACARANAS et al. 1995). In Studien am menschlichen Genom hat man nachgewiesen, dass eines von 100 Basenpaaren polymorph ist, und dass eines von 100 dieser polymorphen Basenpaare nachweisbar ist. An bestimmten Genorten ist ein Heterozygotiegrad von 90 % nicht ungewöhnlich (JEFFREYS et al. 1985a).

Innerhalb der letzten 20 Jahre hat das Interesse an genetischen Markern und die Entwicklung von neuen Methoden stark zugenommen, so dass es inzwischen eine Vielzahl von verschiedenen Verfahren gibt, um geeignete Indikatoren für die genetische Variation in natürlichen Populationen zu erhalten (LESSA 1992). Die Abschätzung des genetischen Potentials kann über die Analyse von Genen (DNA) bzw. deren Produkte (Allozymelektrophorese erfolgen). Wie oben schon erwähnt sind Allozym-Analysen wegen des geringen Grads an nachweisbaren Polymorphismen nur begrenzt einsatzfähig. Der Aufwand derartiger Untersuchungen ist meist enorm, da für einzelne Loci die Notwendigkeit unterschiedlicher Untersuchungsverfahren besteht. Die schwache statistische Aussagekraft ist ein weiterer Nachteil dieser Methode. DNA-Moleküle haben sich im Vergleich zu Proteinen als langlebiger und während technologischer Prozesse als stabiler erwiesen. Die genannten Probleme der Allozym- oder Isoenzymanalysen wurden u. a. mit der Entwicklung des DNA-Fingerprinting durch JEFFREYS et al. (1985a) gelöst. Die Untersuchungen auf DNA- Ebene sind im Vergleich zu Untersuchungen auf Proteinebene teurer. Jedoch ermöglicht diese Methode den Nachweis einer wesentlich höheren genetischen Variabilität in natürlichen Populationen. Nachteile dieser Methode sind jedoch, dass sie eine relativ große Menge an DNA benötigt und sehr arbeits-, zeit- und kostenintensiv ist. Der Einsatz dieser Methode ist für die Anwendung an kleinen, geschützten Individuen wegen der benötigten großen DNA- Menge ungeeignet. Um eine

entsprechenden Menge an DNA pro Individuum zu erhalten, müssten die Tiere getötet werden.

Eine revolutionäre Entwicklung im Bereich der Molekulargenetik ist die PCR (polymerase chain reaction). Diese Methode wurde von K. MULIES 1983 entwickelt. Sie imitiert als *in vitro*-Methode das Zellreparatursystem im lebenden System. Sie beruht auf einer zyklischen Replikation, bei der in jedem Zyklus die vorhandene DNA verdoppelt wird. Somit werden DNA-Fragmente von der Größe eines einzigen Moleküls bis zu 10 kb in Abhängigkeit der Zyklenzahl tausend- bis millionenfach vervielfältigt. Seit ihrer Entwicklung hat die PCR auf dem Gebiet der Molekularbiologie für viel Aufsehen gesorgt (u. a. ERLICH et al. 1991, FRITSCH 1996, HOELZEL et al. 1998). Bedeutend hierbei war die Entdeckung von thermostabilen Polymerasen, was zu einem hohen Grad der Automatisierung der Methode führte. In einem Thermozykler laufen die Arbeitsschritte Denaturierung, Annealing und Amplifikation mit verschiedenen Temperaturzyklen automatisch hintereinander ab, wodurch mögliche Fehlerquellen reduziert werden konnten (SAIKI et al. 1988, WHITE et al. 1989). Die Popularität der PCR kommt u. a. von der Fähigkeit dieser Methode beim Einsatz kleinster DNA-Mengen schnell und einfach Polymorphismen an verschiedenen Genorten nachzuweisen (MICHELI et al. 1993). Weiterhin ist die PCR weniger zeit-, arbeits- und kostenintensiv als traditionelle Methoden wie z. B. das DNA-Fingerprinting. Ein Nachteil der Methode besteht darin, dass zu Versuchsbeginn Vorkenntnisse über das Genom des Probenmaterials vorhanden sein müssen, um einen bzw. zwei spezifische Primer auswählen zu können, welche die gesuchte Sequenz flankieren (WILLIAMS et al. 1993).

Eine weitere Methode, die RAPD (random amplified polymorphic DNA)-PCR wurde erstmals von WILLIAMS et al. 1990 beschrieben. Das Prinzip dieser Methode besteht darin, dass ein Primer mit beliebiger Sequenz eingesetzt wird, der an komplementären Genorten bindet (WILLIAMS et al. 1990). Die Methode ist gekennzeichnet durch den Einsatz eines meist decameren (10 bp) willkürlich gewählten Primers und durch eine relativ geringe Annealingtemperatur (ALLEGRUCCI et al. 1995). Sie gehört, wie das DNA-Fingerprinting, zu den multi-locus-Verfahren (multi-locus = viele Sequenzblöcke aus verschiedenen Bereichen des Genoms (= Genorte) gleichzeitig darstellend). Primer für die RAPD-

PCR sind meist durch 3 Eigenschaften charakterisiert: ein GC- Gehalt von 50-80 %, keine Palindrome größer als 6 Basen und keine komplementären Sequenzen am 3- Ende.

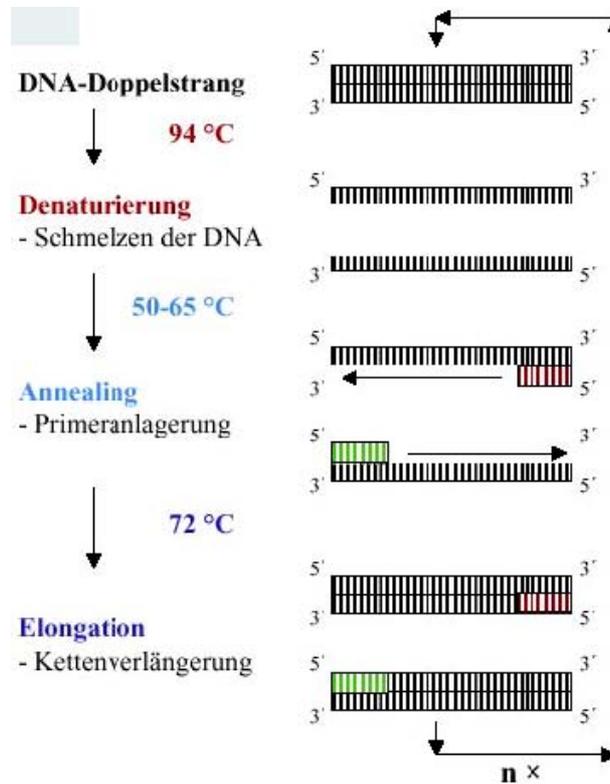


Abb. 11: Prinzip der PCR (Polymerase chain reaction)

Grundlegend für die RAPD-PCR ist die Tatsache, dass sich Polymorphismen auch dann nachweisen lassen, wenn die Basensequenz unbekannt ist. Durch den Einsatz willkürlich gewählter Primer deren Sequenz bekannt ist, ermöglicht diese Methode den einfachen und schnellen Nachweis von Polymorphismen. Damit ist die RAPD-PCR für populationsgenetische Studien besonders geeignet (HARDING et al. 1997). Der Einsatz willkürlich gewählter Primer führt zu einem wesentlichen Vorteil der RAPD-PCR, da so auch an Organismen RAPD-Analysen durchgeführt werden können, von deren Genom wenig oder noch nichts bekannt ist. Weitere Vorteile der Methode sind, dass aufwendige und teure Schritte wie Clonen, Sequenzierung und Hybridisierung nicht mehr notwendig sind. (NADEAU et al. 1992). Ähnlich wie DNA- Fingerprints zeigen auch PCR- Fingerprints einen hohen Grad an individueller Spezifität auf. Ein Fingerprint ist ein mit

molekulargenetischen Methoden erstelltes Bandenmuster aus meist informationsfreien DNA-Abschnitten, welche hochspezifisch für das entsprechende Individuum sind (LUBJUHN et al. 1994).

Nachteile der Methode liegen darin begründet, dass im Gegensatz zur RFLP-Analyse, die ermittelten Marker nur als „Dominante“ angesprochen werden können. Deshalb geht mit der RAPD-PCR ein Informationsverlust einher, da nicht zwischen heterozygoten und homozygoten Markern unterschieden werden kann (vgl. CLARK & LANIGAN 1993, LYNCH & MILLIGAN 1994). Ein weiterer Nachteil der Methode ist die Empfindlichkeit auf Störgrößen. Diese können mit exakt gleichen Versuchsbedingungen auf ein Minimum reduziert, jedoch nicht völlig eliminiert werden.

HARDYS et al. (1992) weisen darauf hin, dass mit der RAPD-PCR-Analyse verschiedene taxonomische Niveaus untersucht werden können.

Die Variationen der Amplifikationsmuster werden einzig auf "Bande vorhanden" (1) oder "Bande nicht vorhanden" (0) untersucht.

Unterschiede in der Sequenz der DNA zwischen Individuen werden als Polymorphismen bezeichnet und nach KRAWCZAK & SCHMIDTKE (1994) wie folgt definiert: "Als genetischen Polymorphismus im klassischen Sinne bezeichnet man das gleichzeitige Vorkommen von zwei oder mehreren voneinander unterscheidbaren Varianten oder Genotypen innerhalb einer Population." DNA-Polymorphismen eignen sich u. a. zur Feststellung von Verwandtschaftsbeziehungen von Individuen. Betrachtet man die durch die RAPD-PCR und Gel-Elektrophorese ermittelten Banden (RAPD-Marker), so erkennt man ebensolche Polymorphismen zwischen Individuen. Diese RAPD-Polymorphismen äußern sich derart, dass im Amplifikationsmuster eines Individuums ein Marker vorhanden ist, und in einem Anderen fehlt. Diese Abwesenheit eines Markers kann durch das Fehlen der zugehörigen Primer-Bindungsstelle erklärt werden. Bei nahe verwandten Individuen kann das Fehlen einer Primer-Bindungsstelle auf Mutationen, Deletion oder Insertion zurückgeführt werden (MURALIDHARAN & WAKELAND 1993). Für einen RAPD-Polymorphismus ist eine Mutation am wahrscheinlichsten, bei der es zu einem Nukleotidwechsel an einer Primer-Bindungsstelle kommt (WILLIAMS et al. 1990).

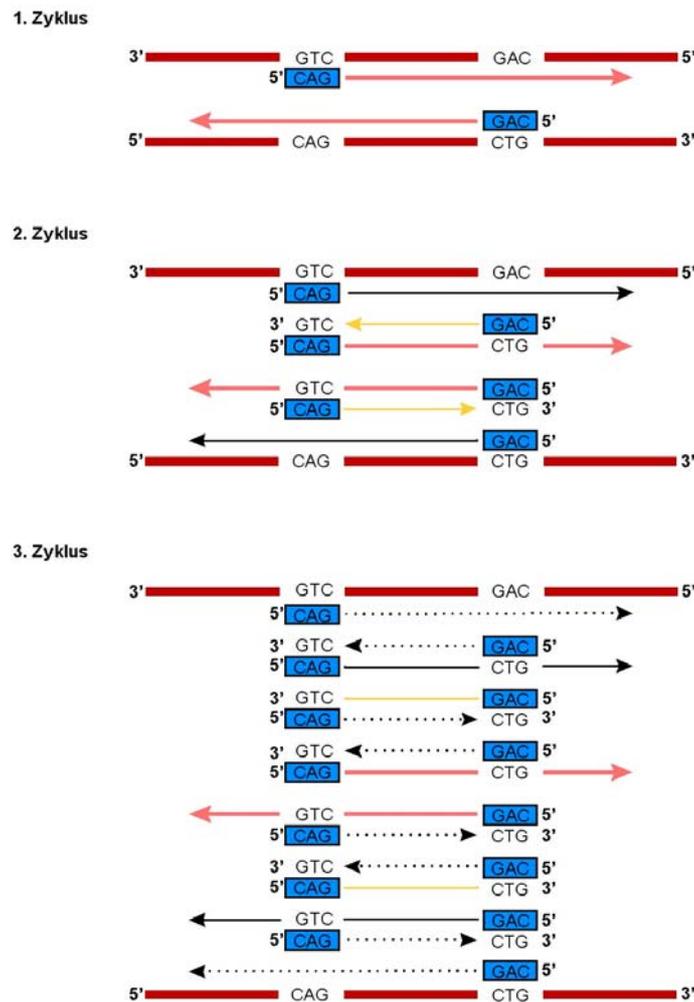


Abb. 12: Prinzip der RAPD-PCR

Es gibt drei grundlegende Methoden, genetische Variation auf der DNA-Sequenzebene zu untersuchen. Eine Methode ist die Analyse von so genannten Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP's). Das Prinzip der RFLP's ist die Untersuchung von Sequenzpolymorphismen, die in der Schnittstelle von Restriktionsenzymen liegen. Eine der beiden (oder mehreren) Sequenzvarianten führt zum Verlust einer Schnittstelle eines Restriktionsenzym, so dass ein Verdau mit dem entsprechenden Restriktionsenzym ein unterschiedliches Bandenmuster ergibt. Zusätzlich können mit dieser Methode Insertionen und Deletionen detektiert werden. Eine weitere Methode beruht auf der Analyse so genannter Mikrosatelliten DNA. Mikrosatelliten sind kurze, repetitive Abschnitte eines

Sequenzmotifs von zwei bis vier Nukleotiden. Diese Abschnitte sind im Genom sehr häufig und können mit PCR-Primern amplifiziert werden. Da sie eine hohe Mutationsrate aufweisen, ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass sich zwei Individuen in der Anzahl der Wiederholungseinheiten unterscheiden. Mikrosatelliten variieren in der Zahl ihrer Wiederholungseinheiten und können auf einem Gel oder mittels Kapillarelektrophorese der Größe nach aufgetrennt und unterschieden werden. Die dritte Methode besteht in der DNA-Sequenzierung. Aufgrund der technischen Revolution in der Molekularbiologie hat die Analyse von DNA-Sequenzen natürlicher Populationen sehr stark an Bedeutung gewonnen. Die Sequenzierung von DNA ist mittlerweile relativ kostengünstig und kann im großen Umfang durchgeführt werden, weswegen sie wohl mittelfristig die wichtigste Methode zur Untersuchung genetischer Variation sein wird. DNA-Sequenzierung ist theoretisch in der Lage, jegliche Art von genetischen Unterschieden zu finden. Von besonderem Interesse sind dabei die Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP, single nucleotide polymorphism). SNP's im engeren Sinne sind genetische Polymorphismen, die auf eine Mutation eines einzelnen Basenpaares zurückgeführt werden können.

Tabelle 9 Eigenschaften verschiedener genetischer Marker und ihre Eignung für populationsgenetische Untersuchungen (aus QUACK 2004); +++ sehr gut, ++ gut, + ausreichend, - ungeeignet

		Isoenzyme	STS, ESTs	RAPDs, AFLPs	SSRs	cpSSR
Eigenschaften	Anzahl Loci pro Reaktion	1 oder mehr	1 oder mehr	1-80	1 oder mehr	1
	Vererbung	codominant	codominant	dominant	codominant	uniparental
	Variabilität	niedrig- mittel	niedrig- mittel	sehr hoch	hoch	mittel
	Genexpression	Unterschied zw. Allelen möglich	Unterschied zw. Allelen möglich	unbekannt	nicht codierend	nicht codierend
	Entwicklungsaufwand	Niedrig	sehr hoch	niedrig	sehr hoch	hoch
Eignung	Genetische Diversität	+	+	++	+++	+
	Populationsdifferenzierung	+	+	++	++	++
	Genotypische Struktur	++	++	-	++	-
	Adaptive Variation	+	++	-	-	+

5.1 Stand der Forschung

Zur genetischen Diversität bei Mauereidechsen liegen verschiedene Voruntersuchungen vor. Der Karyotyp wird mit $2n = 38$, $NF = 38$ angegeben (BÖHME 1986). Bisherige Allozymanalysen von Mauereidechsen-Populationen zeigten, dass 18 (86%) der 21 untersuchten Allozyme fixierte Allele auf Artebene aufweisen (MAYER & TIEDEMANN 1980, 1982). So betragen die genetischen Distanzen (nach NEI 1971) verschiedener *Podarcis muralis*-Unterarten im Mittel nur 0.002, während Populationen der verwandten Art *P. tiliguerta* mittlere Distanzen von 0.079 aufwiesen (Mayer 1981; Guillaume & Lanza 1982). CAPULA (1997) untersuchte mittels Allozymelektrophorese die genetische Variabilität einiger Insel- und Festlandspopulationen von *Podarcis muralis*. Dabei erwiesen sich 13 von 20 Enzym-Loci als polymorph. Die genetischen Distanzen betragen zwischen 0,001 und 0,086. Der heutige Kenntnisstand beweist jedoch, dass in natürlichen Populationen eine größere genetische Variation vorhanden ist, als durch Untersuchungen auf Proteinebene festgestellt wurde (MACARANAS et al.

1995). BENDER (1999) untersuchte in ihrer Arbeit sechs deutsche Mauereidechsen-Populationen (Rüdesheim, Kaub am Rhein, Offenburg, Heilbronn, Marienthal an der Ahr und Zell an der Mosel) und eine italienische Referenz-Population (Gardasee). Ein Hauptinteresse galt der Analyse der genetischen Struktur der Populationen, insbesondere hinsichtlich der Auswirkungen anthropogener Habitatveränderungen. Die AMOVA der deutschen Populationen zeigte, dass der mit Abstand höchste Varianzanteil (fast 94 %) innerhalb der Populationen zu finden war. Selbst bei Hinzunahme der italienischen Population vom Gardasee erhöhte sich der Varianzanteil zwischen den Populationen nur von etwa 6 auf 16 %, was auf eine eher nur geringe genetische Strukturierung der Populationen hindeutete. Vor allem die deutschen Eidechsen-Populationen zeigten eine hohe genetische Homogenität bei relativ hohem Genfluss zwischen den analysierten Populationen. Dies wurde als Hinweis auf einen gemeinsamen Genpool und damit einen regen Austausch von Migranten angesehen. GASSERT (2000) untersuchte isolierte Populationen der Mauereidechse (*Podarcis muralis*) in Trier mittels der RAPD-PCR Methode. Die AMOVA aller vier Populationen ergab, dass der ermittelte Varianzanteil zwischen den Populationen 36 % betrug, also ca. doppelt so hoch als bei BENDER (1999), sogar zwischen den isolierten Trierer Populationen betrug der Varianzanteil noch 23 %. Von 59 getesteten RAPD-PCR-Primern erwies sich nur einer als aussagekräftig.

NEMBRINI & OPPLIGER (2003) entdeckten für *P. muralis* neun STR Marker, die sich alle als polymorph erwiesen, was auf einen hohen potentiellen Informationsgehalt schließen lässt. Neben diesen, erstmals für *P. muralis* entwickelten STR Markern, wurden auch schon für andere Echsenarten (z.B. für die Waldeidechse *Lacerta vivipara* (ESTOUP 1999), den Zaunleguan *Sceloporus jarrovi* (ZAMUDIO & WIECZOREK 2000), für die Kanarische Echse *Gallotia galloti* (RICHARD & THORPE 2000) und die Drachenechse *Ctenophorus ornatus*, (LEBAS & SPENCER 2000) polymorphe STR Marker entwickelt. ESTOUP et al. (1999) entwickelte sieben STR-Marker für die Waldeidechse *Lacerta vivipara* welche auch für die Mauereidechse getestet wurden, vier davon erwiesen sich als genetische STR-Marker für *P. muralis* geeignet.

5.2 Probenmaterial

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Schwanzenden von Mauereidechsen als Probenmaterial verarbeitet. Das Probenmaterial (die autotomierten Schwanzenden) wurde schnellstmöglich in 80% igen unvergällten Alkohol eingelegt und frühestmöglich (innerhalb einiger Tage) bei -20° C gelagert. Alternative Konservierungsmethoden für das Probenmaterial von Mauereidechsen werden bei BENDER (1999) beschrieben.

5.3 RAPD-PCR

Die Polymerase-Ketten-Reaktion ist eine in *vitro*-Methode, welche das natürliche DNA-Replikationssystem der Zelle imitiert. Pro Zyklus wird die Template-DNA durch folgende Reaktionsschritte jeweils verdoppelt :

- Denaturierung der DNA,
- Annealing (Hybridisieren des Primers an der Template-DNA,
- Polymerisation (DNA-Synthese durch Primerverlängerung, Replikation).

Die RAPD-PCR stelle eine Sonderform der PCR dar, da beliebige Primer bekannter Sequenz ausgewählt werden und die Primerbindungsstellen zufällig (randomly) über das Genom verteilt sind. Primer unterschiedlicher Sequenz und unterschiedlicher Länge haben folglich unterschiedliche komplementäre Bindungsstellen, deren Anzahl ebenfalls primerabhängig ist.

Durch Erhitzen wird die Doppelstrang- Template DNA denaturiert und in zwei Einzelstränge zerlegt, wobei ein rasches Abkühlen ein Reassoziieren der Stränge verhindert. An für den Primer komplementären Basensequenzen der Einzelstränge kann sich dieser bei geeigneten Temperaturen anlagern (Annealing). Voraussetzung ist das Vorhandensein zweier Bindungsstellen innerhalb einer bestimmten Distanz an den gegenüberliegenden Einzelsträngen. Vom freien 3`-OH-Ende des Primers beginnt die Polymerase unter Anwesenheit der vier Desoxyribunucleosidtriphosphate (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) die Synthese eines zur Template-DNA komplementären Stranges (extension, Polymerisation). Dies führt zur Bildung eines neuen Doppelstranges und somit zur

Verdopplung der ursprünglichen Template-DNA pro Zyklus. Die erhaltenen Stränge gehen als Matrize in den nächsten Zyklus ein, was abhängig von der Zyklenzahl zu einer millionenfachen Zyklenzahl führt. Die Besonderheit bei diesem Verfahren besteht darin, dass ab dem dritten Zyklus sich die diskreten Zielsequenzen, die Sequenzen zwischen zwei Primerbindungsstellen plus der beiden begrenzenden Primer, exponentiell vervielfältigen. Von der Anzahl der zwischen zwei Bindungsstellen liegenden Basenpaaren ist es abhängig, ob es zu einer Amplifikation kommt. Nur wenn innerhalb der zur Verfügung stehenden Zeit die DNA von einer Bindungsstelle zur nächsten synthetisiert, erhält man ein Amplifikationsprodukt. Für eine erfolgreiche Amplifikation müssen die Bindungsstellen innerhalb von 4000 bp liegen, wobei generell 120 Sekunden für eine Synthese von Fragmenten bis zu einer Größe von 5000 bp als ausreichend gelten.

Die Kopienzahl der Zielsequenz lässt sich wie folgt berechnen:

$$\text{Kopienzahl} = (2^n - 2 \cdot n) \cdot x$$

n = Anzahl der Vermehrungsprodukte

2^n = Produkte der ersten beiden Vermehrungszyklen, deren Länge nicht definiert ist.

x = Anzahl der Kopien der ursprünglichen DNA-Matrize

Die Reaktion verläuft jedoch nicht beliebig lange exponentiell. Eine vollständige Ausbeute wird durch einige Faktoren, meist die Enzymmenge, verhindert.

Die wesentlichen Komponenten zur Durchführung der PCR sind:

- DNA-Matrize (Template-DNA)
- DNA-Polymerase
- dNTPs
- Primer
- Puffer

(Chemikalien und Geräte s. Anhang)

Da es keine allgemeingültigen Protokolle für die Anwendung der RAPD-PCR gibt, muss für jede Anwendung ein optimiertes Protokoll beschrieben werden.

5.4 Submarine Agarose-Gelelektrophorese

Das Prinzip der Submarinen Agarose-Gelelektrophorese beruht darauf, dass geladene Teilchen in einem elektrischen Spannungsfeld (bei TBE-Puffer, pH 8,3) zu dem ihrer Ladung gegensätzlichen Pol wandern. Die in dissoziierter Form als Anion vorliegende DNA wandert, ihrer negativen Ladung entsprechend, im elektrischen Feld von der Kathode zur Anode. Wanderungsgeschwindigkeit und -strecke sind u.a. von der Ladungsstärke abhängig. Da das Gel kleinen Molekülen geringeren Widerstand bietet als großen, werden diese nach verschiedenen Fragmentlängen aufgetrennt.

5.4.1 Probegel

Zur Überprüfung der Qualität der isolierten DNA wurde die submarine Agarose-Gelelektrophorese verwendet. Zur Herstellung eines 0,7 % igen Geles wurde 1.05 g Agarose (SERVA, Heidelberg) mit 150 ml TBE-Puffer versetzt und unter Hitzezufuhr (Mikrowelle) gelöst. Nach Abkühlung auf ca. 60°C wurden 250 µl Bisbenzimid zupipettiert. Die Lösung wurde luftblasenfrei in einen Trog mit Slotkamm gegossen. Dem erkalteten Gel wurde in der Elektrophoresekammer pro Tasche je 17 ml Stammlösung der Probe mit 3µl Stop-Lade-Mix zupipettiert. Die Elektrophorese wurde bei 60 V Spannung für 2 Stunden durchgeführt. Danach wurde das Gel auf dem UV-Tisch fotografiert und die Qualität der DNA beurteilt.

5.4.2 Elektrophoretische Auftrennung der PCR-Produkte

Zur probeweise elektrophoretischen Auftrennung der Amplifikationsprodukte wurde ein 2,8 % iges Agarose-Gel hergestellt. Es wurde ein 20 x 20 cm großes Tray und zwei Slotkämme mit je 22 Zähnen verwendet. So konnten pro Gel 42 Proben untersucht werden. Unter Hitzezufuhr (Mikrowelle) wurden 4.98 g Agarose I (AMRESCO Inc, Solon, Ohio, USA) in 320 ml TBE-Puffer gelöst. Nach Abkühlung der Lösung auf 60°C wurden 10 µl Ethidiumbromid (1%) zupipettiert. Dadurch konnte eine nach der Elektrophorese notwendige Färbung vermieden

werden. 25 µl der PCR-Proben wurden mit 4µl Stop-Lade-Mix versetzt und in die Gel-Taschen einpipettiert. Zur elektrophoretischen Auftrennung wurde eine Spannung von 120 V (140 mA) für die Dauer von 3 Stunden angelegt, was zu einer Laufstrecke von ca. 8 cm führte. Die Gele wurden nach der Elektrophorese auf dem UV-Tisch fotografiert. Diese Auftrennungsweise wurde im Vorfeld der kapillarelektrophoretischen Auftrennung gewählt. Erst nachdem die Proben hierbei auswertbare Bandenmuster zeigten, wurden sie mittels ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer von Perkin Elmer/Applied Biosystem ausgewertet.

5.5 Molekulargenetische Methode, Mikrosatelliten-DNA-Analyse

Als molekulargenetische Methode wurde die Mikrosatelliten-DNA-Analyse gewählt. Für Populationsanalysen auf Artebene werden verschiedene verhaltensbiologische Merkmale, morphologische Merkmale und biochemische Merkmale (DNA, Proteine) herangezogen. Man unterscheidet verschiedene genetische Marker. Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen (RFLPs) waren lange Zeit die wichtigste Klasse der DNA-Polymorphismen. RFLPs sind meist das Ergebnis einzelner Basenaustausche, sie können jedoch auch auf DNA-Umlagerungen wie Insertionen oder Deletionen zurückgehen. RFLPs sind immer dann zu beobachten, wenn durch die Veränderung in der DNA die Erkennungsstelle einer Restriktionsendonuklease betroffen ist. Auch wenn die Sequenzvariation meist nicht mit einer phänotypischen Veränderung des Organismus verbunden ist, verhalten sie sich aber dennoch wie mendelsche Gene. Ende der 80er Jahre wurde das Konzept der sequenzmarkierten Stellen STS (sequence tagged sites) entwickelt. STS sind 100-300 bp lange DNA-Sequenzen die im Genom nur einmal vorkommen. Die Sequenzstücke werden durch die PCR amplifiziert und als Marker zur physikalischen Kartierung eingesetzt. Das PCR-Produkt beschreibt dabei einen eindeutigen Locus im Genom. Hierbei kann jede genomische Sequenz herangezogen werden. Die Region, in denen die Primer gewählt werden, muss allerdings frei von repetitiven DNA-Sequenzen sein. Der Bereich zwischen dem Primerpaar darf aber durchaus repetitiv sein.

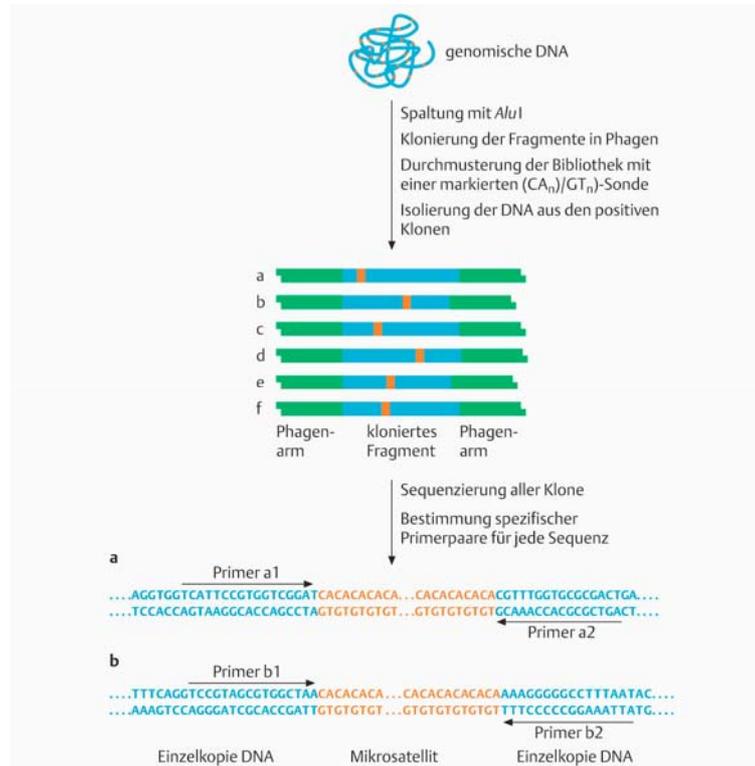


Abb. 13: Isolierung von molekularen Markern (aus JANNING 2004)

Mikrosatelliten sind ein Spezialfall der sequenzmarkierten Stellen. Bei STSs wird die Kenntnis einer locuspezifischen Sequenz vorausgesetzt. Im Falle der Mikrosatelliten sind die Primersequenzen in der Gesamtpopulation konserviert wie bei den konventionellen STSs, die dazwischenliegende Sequenz variiert jedoch in der Länge. Man kann davon ausgehen, dass ein STS ein identisches PCR-Produkt bei allen Individuen einer Spezies erzeugt, während man bei der Amplifikation von Mikrosatelliten ein Allelspezifisches PCR-Produkt erhält. Diese allelischen Unterschiede werden nach den Mendelschen Gesetzen vererbt. Für biogeographische Analysen auf innerartlichem Niveau sind die Allozympolymorphismen oder DNA-Mikrosatellitenpolymorphismen als geeignete Markersysteme erkannt worden (ASHLEY 1999, HAIG 1998). Mikrosatelliten werden als STRPs (= Short Tandem Repeat Polymorphism) oder auch als VNTR (= Variable Number of Tandem Repeats) bezeichnet. Mikrosatelliten sind so genannte repetitive Sequenzen. Die Anzahl der Sequenzwiederholungen und somit die totale Länge des Mikrosatelliten, ist je nach Allel variabel in einer Population, und eignet sich somit als polymorpher DNA-Marker. Mikrosatelliten

haben den RFLPs gegenüber den Vorteil, dass sie eine größere Variabilität und somit einen höheren Anteil von Heterozygoten in einer Population besitzen, außerdem ist die Nachweismethode leichter. Man erhält die Länge der Mikrosatelliten durch eine PCR-Amplifikation (**polymerase chain reaction**) mit zwei den Repeat flankierenden Primern. Mikrosatelliten-DNA besteht aus bis zu 50 Kopien von Folgen aus einem Kernmotiv von 1-6 Basenpaaren. Beispiele für solche Wiederholungen sind A, AC, AAAN oder AG (hierbei ist N irgendein Nucleotid). Mikrosatelliten können in drei verschiedenen Formen auftreten, wobei Zwischenformen möglich sind (nach JARNE & LAGODA 1996):

Reiner Mikrosatellit:	5'...CACACACACACACACACA...3'
Zusammengesetzter Mikrosatellit:	5'...CACACACACAGAGAGAGAGA...3'
Unterbrochener Mikrosatellit:	5'...CACATTCACACATTCATTCA...3'

Solche Sequenzstrukturen kommen in eukaryotischen Genomen weit verbreitet vor, z.T. auch in der Kontrollregion der Mitochondrien und in Chloroplasten. Am häufigsten treten Di-, Tri-, und Tetranucleotide auf. Mikrosatelliten mit AC-Dinucleotid-Folgen kommen, im Genom verteilt, durchschnittlich einmal pro 30 kb Genom-Abschnitt vor, auch direkt vor oder hinter Genen oder im Intron-Bereich. Tri- oder Tetranucleotid-Wiederholungen sind seltener. Sie kommen etwa einmal unter einigen hunderttausend Basenpaaren vor. Aufgrund der Basenzusammensetzung der Mikrosatelliten-Sequenzen kann angenommen werden, dass diese nicht an der Codierung von Polypeptiden beteiligt sind. Für das menschliche Genom weiß man, dass Mikrosatelliten etwa 0,5 Prozent des Gesamtgenoms ausmachen. Dinucleotid-Repeats treten, wie schon erwähnt, am häufigsten auf (im menschlichen Genom in 21 % der gesamten Mikrosatelliten), wobei AC-Wiederholungen zu 50 %, AT-Wiederholungen zu 35 %, AG-Wiederholungen zu 15 % und GC-Wiederholungen zu 0,1 % vorkommen. Tri-Nucleotid-Repeats treten im menschlichen Genom in 6 % aller Mikrosatelliten auf, Tetra-Nucleotid-Repeats in 16 % aller Mikrosatelliten. Für genetische Arbeiten ist interessant, dass die Zahl von AC-Dinucleotiden in einem Mikrosatelliten hoch polymorph ist, d.h. zwei Allele unterscheiden sich mit hoher Wahrscheinlichkeit in der Zahl der Dinucleotide eines gegebenen Mikrosatelliten.

Mikrosatelliten haben im Vergleich zu anderen Markersystemen einige entscheidende Vorteile:

Direktsequenzierungen haben im Allgemeinen das höchstmögliche Maß an Information, da hier die genaue Basenzusammensetzung direkt in einem automatischen Sequenzierer bestimmt wird. Diese Methode hat allerdings den Nachteil, dass sie sehr zeitaufwendig und teuer ist.

Allozymuntersuchungen haben den Nachteil, dass Probematerial von frisch toten Tieren verwendet werden muss, da Enzyme sich gewöhnlich rasch zersetzen, außerdem sind Enzyme in Bezug auf pH-Wert und Temperatur relativ empfindlich.

Die wichtigsten Vorteile für Mikrosatelliten zur Analyse von Populationsstrukturen sind (nach JARNE & LAGODA 1996):

- Mikrosatelliten gelten als kodominante Marker, d.h. es können zwei allele Formen parallel in einem Individuum präsentiert sein. Dadurch ist es möglich, den Heterozygotiegrad einer Population zu bestimmen. Diese Eigenschaft teilen sich Mikrosatelliten mit Allozymen, nicht jedoch mit anderen genetischen Markersystemen wie RAPDs und RFLPs. Bei den RAPDs und RFLPs wird methodisch bedingt nicht ein einziger Genort analysiert, dadurch keine allelen Zustände untersucht.
- Mikrosatelliten gelten als selektionsneutral und sind somit ideale genetische Marker.
- Da die DNA ihre Genloci in der Ontogenese nicht verändert, können Mikrosatelliten aus genetischem Material verschieden alter Individuen gewonnen werden.
- Die Anzahl von Allelen pro Locus ist evtl. sehr hoch.
- Mikrosatelliten zeigen daher oft eine große Anzahl an Allelen.
- Bei der Analyse mit Mikrosatelliten besteht ein großer Vorteil in der Verfügbarkeit einer großen Anzahl an zu verwendenden Loci.

Voraussetzung für die Verfügbarkeit von Mikrosatelliten ist die Kenntnis der DNA-Sequenzen beiderseits des Mikrosatelliten. Hierfür ist die Anlage einer speziellen Genbank nötig. Dieser Prozess ist recht zeit- und kostenintensiv.

Mikrosatelliten-Sequenzen werden über Fragmentlängen-Analysen ausgewertet. Im vorliegenden Fall wurden fluoreszenzmarkierte PCR mit anschließender Detektion der Längenpolymorphismen auf einem automatischen Sequenzer durchgeführt. Eine weitere übliche Methode ist die radioaktive Markierung der PCR-Produkte mit anschließender denaturierender Polyacrylamid-Gelelektrophorese und Autoradiografie des Gels.

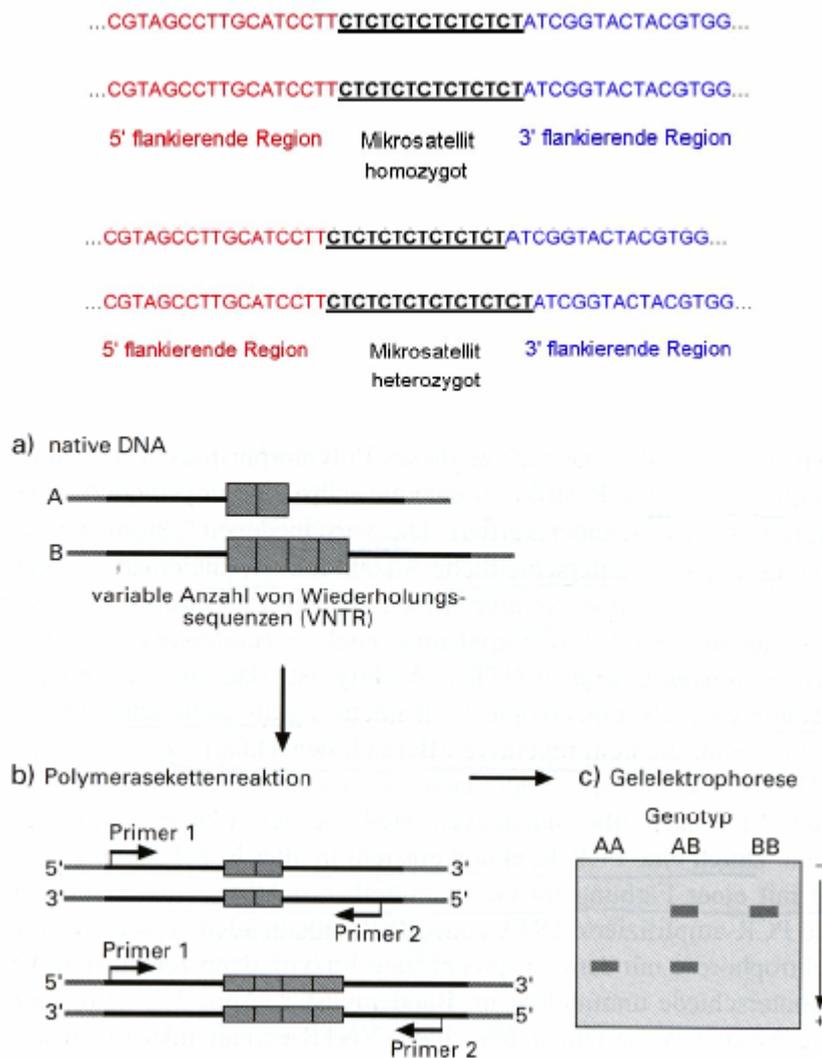


Abb. 14: Prinzip der DNA-Mikrosatelliten-Analyse (verändert nach KRAWCZAK & SCHMIDTKE 1994)

Bei Untersuchungen von Dinukleotid STR kann häufig ein „enzymatischer Slippage“ während der Amplifikation beobachtet werden. Dieser stellt sich in Form artifizieller Peaks oder so genannten Stotterbanden („stutter peaks“) im

Elektropherogramm dar (LITT et al. 1993, SCHLÖTTERER & TAUTZ 1992). Diese Peaks sind um ein oder mehrere Repeateinheiten kürzer als das Hauptallel und machen manchmal eine eindeutige Bestimmung schwierig. Aufgrund des größeren Abstandes zwischen den einzelnen Allelen neigen Tri- und Tetranukleotid-Repeats offensichtlich weniger zum „Slippage“ und sind sicherer zu identifizieren (EDWARDS et al. 1991, URQUHART et al. 1995).

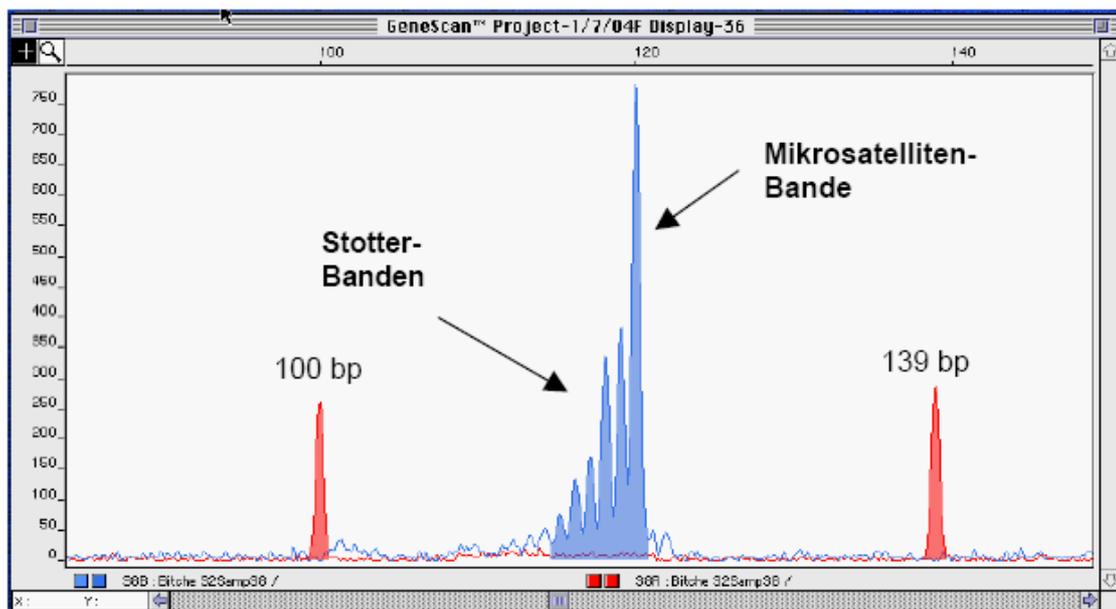


Abb. 15: Beispiel für „stutter peaks“ bei der Mikrosatelliten-Analyse, Probe Bitche 32, Primer Lv 4-alpha

Die Repeatstruktur von STR-Allelen kann in unterschiedlicher Weise variieren. Es können Variationen in der Länge der individuellen Repeateinheit, in der Anzahl der Repeateinheit und durch Unterschiede im Repeatmuster einzelner Allele auftreten (PUERS et al. 1993, MÖLLER & BRINKMANN 1994).

Simple repeats enthalten Einheiten identischer Länge und Sequenz, compound repeats dagegen bestehen aus einem oder mehreren zusammengesetzten einfachen (simple) repeats und complex repeats sind durch unterschiedliche Blöcke von variabler Länge, die zusätzlich noch durch mehr oder weniger variable Sequenzen unterbrochen werden können, charakterisiert (URQUHART et al. 1994). Die Voraussetzung zur genauen Allelbestimmung ist die Kenntnis der Sequenz-Struktur der STR-Loci.

5.5.1 DNA-Isolierung

Zur DNA-Isolierung wurde die Mikro-Salz-Chloroform Methode ausgewählt.

Ca. 80 mg des Probenmaterials wurden unter flüssigem Stickstoff in einem Mörser pulverisiert. Falls das Probematerial einen entsprechenden Durchmesser hatte wurde die Reptilienhaut mittels Skalpell entfernt. Das Gewebe wurde in einem zweiten Schritt in SE-Puffer, dem 30 µl Proteinase K-Lösung zugegeben wurden, über Nacht bei 55°C inkubiert. Der Verdau wurde bei 6000 U/min für 10 min abzentrifugiert, da die Eidechsenhaut nur sehr unzureichend verdaut wurde und deutlich als feste Bestandteile zu sehen war. Dem Verdau wurden 180 µl 6M NaCl-Lösung und 0,5 ml Phenol-Chloroform zugegeben und 10 min bei 4° C auf dem Überkopfschüttler gemischt. Danach wurden die Proben bei 8000 U/min 10 min abzentrifugiert. Die wässrige Phase wurde abgehoben, und nun mit 180 µl 6M NaCl-Lösung, sowie 0,5 ml Chloroform versetzt. Chloroform, Phenol-Chloroform und die hohe Salzkonzentration bewirken ein Befreien der Nukleinsäuren von Verunreinigungen (Proteinresten, RNA usw.). Die Proben wurden wieder 10 min bei 4° C auf dem Überkopfschüttler gemischt und danach bei 8000 U/min 10 min abzentrifugiert. Die wässrige Phase wurde abpipettiert und mit ca. 1,2 ml eisgekühltem (-20° C) absolutem Ethanol versetzt (der Alkohol zerstört die Hydrathülle der DNA). Durch leichtes Schwenken fiel die DNA aus. Die DNA wurde bei 14000 U/min 20 min abzentrifugiert. Der Alkohol wurde dekantiert und nachdem die DNA angetrocknet war, wurden jeder Probe 200 µl H₂O_{bidest} zugegeben um die DNA zu lösen. Damit sich die DNA vollständig lösen konnte, wurde sie für mindestens 12 h bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

5.5.2 Konzentrations- und Reinheitsbestimmung

Alle Proben wurden der Standardisierung wegen gleich behandelt. So wurde nach der DNA-Isolierung ein Probegel angefertigt um Verunreinigungen in den Proben sowie DNA-Degradierung zu erkennen. Die Proben mit degradierter DNA wurden verworfen. Die DNA-Konzentration wurde am Photometer bestimmt. Zur Konzentrationsbestimmung wurde die Stammlösung 1:20 mit H₂O_{bidest} verdünnt und die Extinktion bei 260 nm gemessen. Zusätzlich wird die Extinktion der verdünnten Stammlösung bei 280 nm gemessen. Der Quotient der beiden Exktinktionswerte

(260/280) gibt die Reinheit der DNA an. Der Wert des Quotienten sollte bei 1.85 liegen. Werte größer 1.85 lassen auf Verunreinigung mit RNA, Werte kleiner 1.85 auf Verunreinigung mit Chloroform oder Proteinen schließen.

5.6 Automatische DNA-Analyse

Die erzielten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden auf dem ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer von Perkin Elmer/Applied Biosystem ermittelt. Bei dem verwendeten Gerät handelt es sich um ein vollautomatisches Kapillarelektrophorese-System für die Multi-Color DNA-Sequenzierung (bis zu 12 kb/Tag), sowie für die DNA-Fragmentanalyse. Es ermöglicht eine semiquantitative und ein-Basenpaar-genaue Fragmentgrößenbestimmung, STR-Analysen, AFLP-Analysen, SSCP-Analysen, etc.. Die Verwendung der Kapillarelektrophorestechnik ermöglicht einen unbeaufsichtigten 24 Stunden-Betrieb. Bei einer Sitzung wurden bis zu 48 Proben (0,5 ml Reaktionsgefäße) abgearbeitet. Die Elektrophorese erfolgt in einer mit Polymer als Geläquivalent gefüllten Kapillare. Zur Trennung der DNA-Fragmente werden anfangs der Untersuchungen verschiedene speziell entwickelte Polymere (GENESCAN Polymer, POP 4, POP 6) verwendet, die sowohl native als auch denaturierende Analysen erlauben. Zu den endgültigen Fragmentlängenanalysen, sowie auch die DNA-Sequenzierungen wurde GENESCAN POP 6 verwendet. Das eingesetzte Polymer beruht auf Cellulose- und Harnstoffbasis und ist je nach Anwendung unterschiedlich dicht (Pop: performance optimized polymer). Zur Analyse wird die Kapillare jeweils neu mit Polymer gefüllt. Die Kapillare wird wenige Sekunden (ca. 5 sec.) unter Anlegen einer Spannung (elektrokinetische Probeninjektion) in das jeweilige Probengefäß eingeführt, dann in Aqua bidest. gewaschen und anschließend in den Kathodenpuffer getaucht. Nach Anlegen der Betriebsspannung (ca. 10-15 kV) erfolgt die Auftrennung der DNA ihrer Größe nach in der Kapillare. Die Detektion der Fragmentlängen erfolgt durch einen Laser und eine CCD-Einheit.

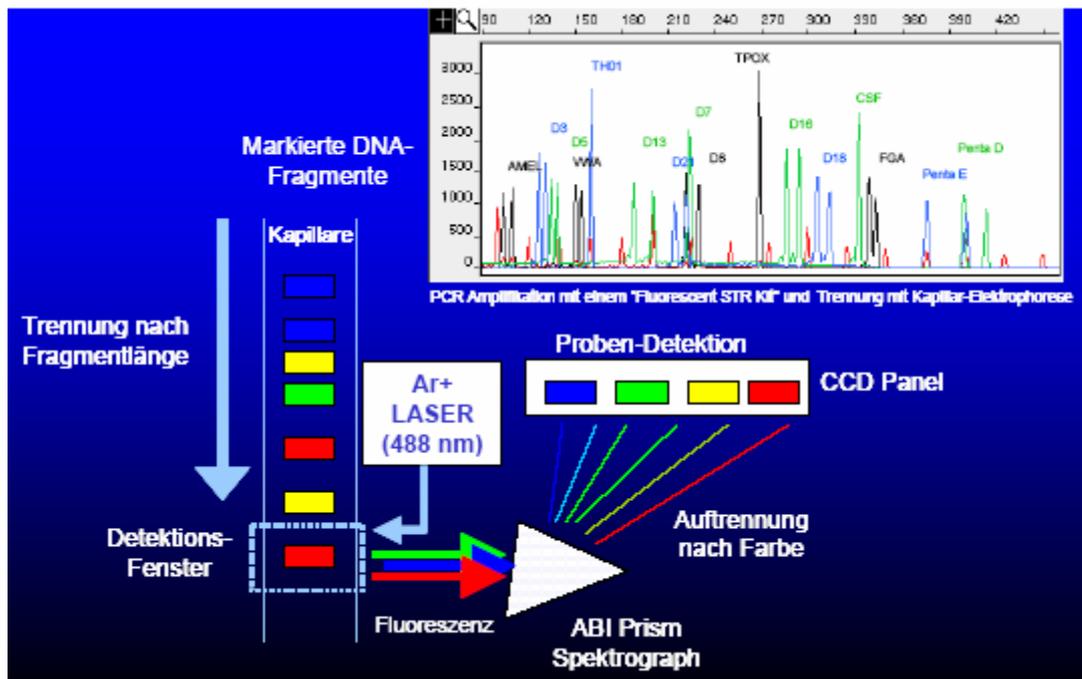


Abb. 16: Funktionsweise des ABIPRISM 310 Genetic Analyser am Beispiel einer Multiplex-PCR zur simultanen Analyse mehrerer STR-Loci (ABIPRISM PROFILER KIT, APPLIED BIOSYSTEMS)

Durch ein durchsichtiges Teilstück kurz vor dem Ende der Kapillare regt der Laser die im elektrischen Feld vorbeiwandernden DNA-Fragmente optisch an und die daran gebundenen Fluoreszenzfarbstoffe emittieren ihrerseits Licht zurück, welches von den Fotozellen der CCD-Einheit aufgenommen und als Signal an den angeschlossenen Computer weitergegeben wird.

Grundlage hierfür ist, dass für die Fragmentlängenanalyse farbmarkierte Primer eingesetzt werden, so dass auch die resultierenden STR-Fragmente eine entsprechende Markierung tragen. Zur DNA-Sequenzierung werden fluoreszenzmarkierte Nukleotide eingesetzt. Bei der Fragmentanalyse muss zu jeder Probe zusätzlich ein in der Regel rot markierter Längenstandard (ROX) zugegeben werden. So ist für jede Fragmentbande eine Größenzuordnung möglich.

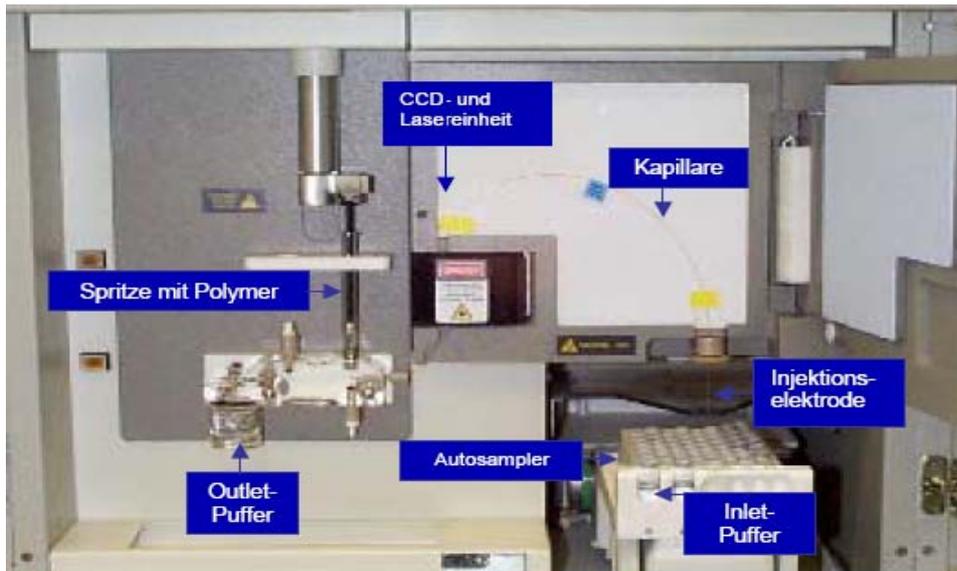


Abb. 17: Aufbau des ABIPRISM 310 Genetic Analyser (APPLIED BIOSYSTEMS)

5.6.1 DNA-Sequenzierung nach SANGER

Mit der Methode nach SANGER (SANGER et al. 1977, Abb. 18) kann die Basenabfolge des Amplifikats bestimmt werden. Diese Methode beruht auf dem Prinzip der Didesoxymethode, bei der eine DNA-Polymerase die Primer mit den vorhandenen vier dNTP-Molekülen (dATP, dCTP, dGTP und dTTP) entlang einer einzelsträngigen Matrize verlängert. Angewendet wird die T7-DNA-Polymerase (TABOR & RICHARDSON 1987).

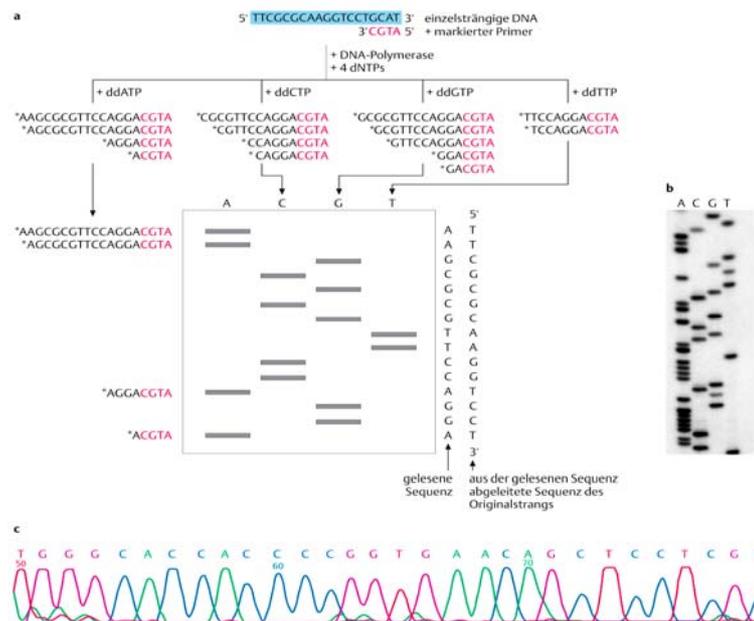


Abb. 18: DNA-Isolierung nach SANGER (1977) (aus JANNING/KNUST 2004)

Vor der Sequenzierreaktion muss der DNA-Doppelstrang durch Hitzebehandlung denaturiert werden. Der Einbau von einem Didesoxynukleosidtriphosphat (ddNTP), einem dNTP-Analogen, führt zu einem zufälligen Abbruch bei der Sequenzierreaktion. Somit entstehen unterschiedlich lange DNA-Ketten, die alle mit einem Didesoxynukleosidtriphosphat enden. In einer hochauflösenden Polyacrylamid-Gelelektrophorese oder einer Kapillarelektrophorese werden die DNA-Stränge aufgetrennt.

5.6.2 Taq Cycle Sequencing

Zur Sequenzierung von DNA nach der Sanger-Methode gibt es neben der oben beschriebenen T7-Polymerase (Sequenase) auch noch die Taq-Polymerase (INNIS et al. 1988), welche die Grundlage zum Taq Cycle Sequencing darstellt. Die Taq-Polymerase ist ein hitzestabiles Enzym aus dem Bakterium *Thermus aquaticus*. Der Vorteil des Taq Cycle Sequencing gegenüber der Sequenzierung mit Sequenase liegt in den geringeren DNA Mengen, die erforderlich sind. Anstatt einer alkalischen Denaturierung, bei der viele einzelne Pipettierschritte mit eventuellen Probenverlusten nötig sind, wird bei der Taq Cycle Sequencing thermisch vorgegangen.

Die Vorgehensweise bei der Taq Cycle Sequencing geschieht folgendermaßen: Zum DNA-Template werden dNTPs, farbmarkierte Terminatoren (ddNTPs), AMPLITAQ[®] DNA-Polymerase und Primer zugegeben. Ebenso wie sich Primer mit Fluoreszenzfarbstoffen markieren lassen, können die Farbstoffe (JOE, ROX, FAM und TAMRA) mit einer speziellen patentrechtlich geschützten Technik an die ddNTP-Moleküle (DyeDesoxy-Terminatoren[™], APPLIED BIOSYSTEMS) gekoppelt werden. Hierbei signalisiert die Farbe des Fluoreszenzfarbstoffes je eine der vier Didesoxyreaktionen, so dass man jede Base anhand ihrer Fluoreszenz-Farbe identifizieren kann. Die Terminatoren ermöglichen es, mit jedem Primer zu sequenzieren, ohne diesen extra mit einem Farbstoff markieren zu müssen. Jede der vier Basen hat ihren eigenen Farbstoff, der jeweils bei einer anderen Wellenlänge fluoresziert. Das hat den großen Vorteil, dass alle Reaktionen in einem Gefäß durchgeführt werden können und für jede Probe nur ein Lauf bei der Kapillarelektrophorese benötigt wird. Fragmente, die ein Didesoxynukleotid an ihrem 3'-Ende eingebaut haben, können von dem

Laserstrahl, der die Kapillare abtastet, einzeln erfasst werden. Der Reaktionsansatz wird in einem Thermocycler gegeben in dem eine erneute PCR durchgeführt wird. Hierbei entstehen unter Anwesenheit von ddNTPs markierte Sequenzierungsprodukte unterschiedlicher Länge. Nach einem initialen Denaturierungsschritt folgen in mehreren Zyklen Anlagerungs-, Verlängerungs- und Denaturierungsschritten. Im Anschluss an die PCR muss das Produkt von überflüssigen farbmarkierten Terminatoren gereinigt werden. Diese Reinigung erfolgt in speziellen Säulen (z.B. DYEEX 2.0 Spin Kit, QIAGEN). Der Unterschied zur Sequenase-Sequenzierung liegt in der größeren Ausbeute an Sequenzierungsprodukten, was durch den zyklischen Vorgang erreicht wird. Damit ist das Taq Cycle Sequencing die Methode der Wahl, wenn nur geringe Mengen an DNA-Template zur Verfügung stehen.

5.7 Statistische Auswertemethoden

Die Entschlüsselung der genetischen Diversität stellt eines der Hauptanliegen molekulargenetischer Untersuchungen dar. Wie in Kap. 5.1. (s. Tabelle 9) beschrieben, sind nicht alle Methoden gleichermaßen für die Entschlüsselung der genetischen Diversität geeignet. Die genetische Diversität beschreibt die Vielfalt in der genetischen Zusammensetzung von Organismengruppen auf derselben oder auf unterschiedlichen Organisationsstufen. Sie ist das Ergebnis der Evolution und folglich das Resultat der Wirkung verschiedener Evolutionsfaktoren, insbesondere von Mutation, Selektion, genetischer Drift und Migration, sowie der Vermehrungs- und auch Populationsstruktur von Populationen. Hierbei kann auch der Einfluss des Menschen eine wichtige Rolle spielen (SPERLICH 1988; VAN HINTUM 1995). Mit Hilfe der Mikrosatelliten-Analysen können verschiedene populationsgenetische Parameter dargestellt werden. Da es sich bei der Mikrosatelliten-Analyse um die Darstellung codominanter Marker handelt, wird der Heterozygotiegrad berücksichtigt, der einen der wichtigsten populationsgenetischen Parameter darstellt.

5.7.1 Heterozygotie (H)

In diploiden Organismen wird ein DNA-Locus jeweils durch zwei homologe Allele, ein mütterliches und ein väterliches, beeinflusst. Sind diese unterschiedlich ausgebildet, d. h. liegen unterschiedliche Allele vor, so spricht man von heterozygoten Individuen. Die Heterozygotie gibt dabei den prozentualen Anteil an heterozygoten Individuen an.

$$H_{\text{exp}} = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

H_{exp} = erwartete Heterozygotenrate bzw. Gen-Diversität (D)

k = Anzahl der Allele

p_i = Frequenz des i -ten von k Allelen

$$H_{\text{obs}} = \sum_{j=1}^i \frac{h_j}{i}$$

H_{obs} = durchschnittliche Heterozygotenrate ist der Durchschnittswert über alle untersuchten loci (Nei 1987)

h_j = Heterozygotenrate für den j -ten Locus

i = Zahl der Loci

j = Locus

Eine Abweichung vom erwarteten Heterozygotiegrad H_{exp} kann verschiedene Ursachen haben.

Einerseits kann ein Heterozygoten-Überschuss ein Hinweis auf überdominante Selektion oder Auskreuzen („outbreeding“) sein. Hier zeigen viele Untersuchungen einen deutlichen Zusammenhang zwischen Heterozygotie und verschiedenen Fitness-Komponenten, wie Größenwachstum, Lebensfähigkeit und anderen physiologischen Parametern (MITTON & GRANT 1984, ALLENDORF & LEARY 1986, MITTON 1993). Besonders in ökologisch wenig stabilen Lebensräumen bedeutet eine hohe Heterozygotie eine bessere Anpassungsfähigkeit von Populationen an sich ändernde Selektionsbedingungen (FRANKEL et al. 1995, NEVO 2001).

Andererseits nimmt in kleinen geschlossenen Populationen die Wahrscheinlichkeit von Paarungen zwischen verwandten Individuen zu. Verwandte Individuen haben einen oder mehrere gemeinsame Vorfahren und sind durch die Übereinstimmung eines Teils ihres Genoms charakterisiert. Diese Herkunftsgleichheit der Allele einiger Genorte bewirkt die Ähnlichkeit zwischen den Verwandten. Die Ähnlichkeit nimmt zu, wenn der erwartete Anteil der Genorte mit herkunftsgleichen Allelen

steigt. Bei der Paarung von verwandten Individuen (Inzucht, „inbreeding“) erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass Mutter und Vater eine Kopie des gleichen Allels eines gemeinsamen Vorfahrens an die Nachkommen vererben, die dann an diesem Genort herkunftsgleich sind. In einer Population wird der erwartete Anteil von Genorten, der durch die steigende Inzucht homozygot geworden ist, durch den Inzuchtkoeffizienten nach WRIGHT (1921) ausgedrückt. Die Zunahme der Homozygotie in einer Population ist zumeist mit Leistungseinbußen in Form von Inzuchtdepression („inbreeding depression“) vor allem im Bereich der Reproduktion und Fitness der Individuen verbunden (IRGANG 2001).

5.7.1.1 Inzucht-Koeffizient F_{IS} (WEIR, 1990)

Der F_{IS} -Wert misst die Abnahme der Heterozygotie in Individuen einer Subpopulation durch nicht zufällige Paarung (z.B. Inzucht) „I“ steht hierbei für Individuum und „S“ für Subpopulation. Der F_{IS} -Wert misst das Verhältnis von Allelen zwischen Individuen der gleichen Subpopulation (BALLOUX & LUGON-MOULIN 2002). Ein positiver Wert für F_{IS} bedeutet verringerte Heterozygotie (Inzucht), ein negativer Wert erhöhte Heterozygotie (Auskreuzen). Die genetische Grundlage der Verschlechterung durch Inzucht ist einmal die vermehrte Expression rezessiver unvorteilhafter Gene („deleterious alleles“) bei verringerter Heterozygotierate und die häufig beobachtete Überlegenheit heterozygoter Individuen, auch gegenüber homozygoter Individuen mit dominanten Allelen, was als Heterosis-Effekt bezeichnet wird (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH 1987).

$$F_{IS} = \frac{H_s - H_I}{H_s}$$

H_I : Heterozygotie in einer Gruppe ingezüchteter Individuen (Subpopulation)

H_S : erwartete Heterozygotie in einer zufallsgepaarten Subpopulation (S)

H_T : Erwartete Heterozygotenrate in der Gesamtpopulation, die sich unter der Annahme ergeben würde, dass zwischen den Individuen der gepoolten Subpopulationen Zufallspaarungen stattfinden würden.

Da die negativen Auswirkungen von Inzucht auch von lokalen Standortbedingungen abhängig sind, ist eine Voraussage der Auswirkungen verringerter genetischer Variation nicht möglich (DUDASH 1990). Mit dem F_{IS} -Koeffizient ist es möglich zu überprüfen, ob gesammelte Tiere einer Stichprobe zu

einer oder mehreren Subpopulationen gehören. In diesem Fall werden jedoch mögliche Erklärungen vernachlässigt, die zu Inzucht führen können, wie beispielsweise verschiedene Formen der Fortpflanzung oder eine eventuell vorhandene Sozialstruktur (BALLOUX & LUGON-MOULIN 2002).

5.7.2 Genetische Diversität

5.7.2.1 Shannon-Information-Index (LEWONTIN 1972)

Die genetische Diversität H_s beruht auf der Berechnung der Species-Diversität nach SHANNON-WEAVER (1949). Sie stellt ein Maß für die relative Variabilität der Allelverteilung in einer Population dar. Sie berechnet sich aus der relativen Häufigkeit der einzelnen Allele (Banden).

$$H_s = -\sum_{i=1}^n p_i \cdot \ln p_i$$

p_i = relative Abundanz der i-ten Bande

n = Anzahl der Bandenpositionen

Oft basiert der Index H_s auf dem \ln , in einigen Studien wird jedoch auch der \log_{10} verwendet, was die Vergleichbarkeit der Daten erschwert.

5.7.2.2 Gene-Diversity bzw. H_E nach NEI (1973)

Die genetische Diversität nach NEI (1973) ist synonym zu der erwarteten Heterozygotie (NEI 1973) und wurde für die Mikrosatellitendaten mit Hilfe des Programms POPGENE 1.32 (YEH et al 1997) berechnet.

$$H_T = 1 - \sum_k \left(\frac{\sum_i (p_{ik})}{n} \right)^2$$

p_{ik} = Frequenz des k-ten Allels der Population i

n = Anzahl der Populationen

5.7.3 F-Statistik

Die F-Statistik nach WRIGHT (1951, 1965, 1978) wird bei codominanten genetischen Markern wie Allozymen und auch Mikrosatelliten eingesetzt. Die

Berechnung des F_{ST} -Parameters beruht auf dem „Insel-Modell“ (WRIGHT 1969). Der Index „F“ vergleicht die erwartete Heterozygotie einer bestimmten hierarchischen Ebene mit der reduzierten Heterozygotie auf Grund einer Populationsstrukturierung. Die F-Statistik gibt Angaben über die Populationsstruktur auf einer niedrigeren Ebene. Populationsstruktur wird als Variation in der genetischen Zusammensetzung definiert (HEWITT & BUTLIN 1997). Neben Inzucht ist die Populationsstruktur die zweite Ursache für nichtzufällige Paarung und die daraus resultierende Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Es ist zu erwarten, dass die Gesamtpopulation einer Art in verschiedene, unterschiedlich stark voneinander abgetrennte Teilpopulationen, unterteilt ist. Die Konsequenz von Populationsstruktur ist die genetische Differenzierung von Subpopulationen. Sie wird als Verschiebung von Allelfrequenzen in den einzelnen Subpopulationen definiert.

Genetische Differenzierung kann verschiedene Ursachen haben:

- Lokale Adaption unterschiedlicher Genotypen in verschiedenen Populationen
- Genetische Drift in einzelnen Subpopulationen
- Gründereffekt (zufällige Unterschiede in der Allelfrequenz von Individuen, die eine neue Population gründen)
- Flaschenhalseffekt (zufällige Unterschiede in der Allelfrequenz von Individuen, die einen Populationsengpass mit nur wenigen Individuen durchlaufen haben)

Die in der vorliegenden Untersuchung eingesetzten Berechnungen (für F_{ST} oder Φ_{ST}) beruhen auf den Verfahren nach WEIR & COCKERHAM (1984), bei denen es keine Einschränkung hinsichtlich der Stichprobengröße und Populationszahl gibt. Diese Methode ist varianzbasiert. F_{ST} -Werte können zwischen 0 und 1 liegen. Der F_{ST} -Wert wird nahe 1 reichen wenn in einer Population der Verlust jeglicher genetischer Variabilität eintritt, d. h. eine starke Populationsstrukturierung durch Fixierung bestimmter Allele in der Subpopulation. Im Umkehrschluss bedeutet der Wert 0, dass keine Populationsstruktur vorhanden ist, da alle Subpopulationen die gleichen Allelfrequenzen aufweisen. Für die Interpretation von F_{ST} -Werten wurden folgende Klassen vorgeschlagen (WRIGHT 1978, HARTL & CLARK 1997):

- 0 – 0,05: geringe genetische Differenzierung
- 0,05 – 0,15: mittlere genetische Differenzierung
- 0,15 – 0,25: große genetische Differenzierung
- > 0,25: sehr große genetische Differenzierung

5.7.3.1 IAM basierte F -Statistik (NEI 1977)

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T};$$

dabei ist H_S die durchschnittliche erwartete Heterozygotie in einer zufallsgepaarten Subpopulation:

$$H_S = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

und H_T die durchschnittliche beobachtete Heterozygotie:

$$H_T = \sum_{i=1}^k \frac{H_i}{k}$$

H_T : individuelle Heterozygotie, entspricht H_{obs} in einer Subpopulation

H_S : Erwartete Heterozygotenrate in der Gesamtpopulation, die sich unter der Annahme ergeben würde, dass zwischen den Individuen der gepoolten Subpopulationen Zufalls Paarungen stattfinden würden.

5.7.4 Φ -Statistik

Mit dem Programm ARLQUIN Ver. 2.0 (SCHNEIDER et al. 2000) ist es möglich die Unterteilung der genetischen Populationsstruktur zu untersuchen. Das Verfahren basiert auf der Analysis of molecular variance (AMOVA, EXCOFFIER et al. 1992). Das Programm wurde ursprünglich für RFLP Haplotypen entwickelt, ist aber auch sehr gut für Microsatelliten- und RAPD-Daten geeignet (HUFF et al. 1997). Bei der AMOVA wird die Gesamtvarianz des gesamten Datensatzes einzelnen Varianzkomponenten zugeordnet. Es werden die Varianzkomponenten „innerhalb von Populationen“ und „zwischen Populationen“ unterschieden. Die Berechnung der Signifikanz-Level beruht auf Permutationen.

Die so genannte Φ -Statistik ist ein Äquivalent zur F -Statistik von WRIGHT (1951), die zur Berechnung codominanter Marker entwickelt wurde (REYNOLDS et al. 1983). Die Berechnungen werden in ARLEQUIN auf Basis der paarweise

quadrierten euklidischen Distanzen zwischen den molekularen Phänotypen durchgeführt. Im vorliegenden Fall sind molekulare Phänotypen die Anzahl der unterschiedlichen Allele.

5.7.4.1 Die Φ -Statistik nach WEIR & COCKERHAM (1984)

Der Φ_{ST} ergibt sich dabei nach:

$$\Phi_{ST} = \frac{\sum_i \sum_u u \sigma_B^2}{\sum_i \sum_u u \sigma_T^2} ,$$

wobei die Varianzen der Allelfrequenzen über alle Allele i und Loci u aufsummiert werden und die Gesamtvarianz der Allelfrequenz gleich der Summe ihrer Komponenten ist:

$$\sigma_T^2 = \sigma_B^2 + \sigma_W^2 + \sigma_I^2$$

σ_T^2 = Gesamtvarianz der Allelfrequenz

σ_B^2 = Varianz der Allelfrequenz zwischen Subpopulationen

σ_W^2 = Varianz der Allelfrequenz zwischen Individuen einer Subpopulation

σ_I^2 = Varianz zwischen Gameten innerhalb Individuen

5.7.4.2 Genfluss (SLATKIN & BARTON 1989)

Genfluss ist der Austausch von Allelen zwischen Populationen durch Austausch von Individuen (Migration). Die genetische Verbindung zwischen Populationen hängt stark vom Ausmaß des Genflusses ab. Natürlich hat Migration nur dann Genfluss zur Folge, wenn sich die ausgetauschten Individuen fortpflanzen. Die wichtigste Auswirkung von Genfluss ist die Einbringung neuer Allele und somit die Erhöhung der genetischen Variabilität. Der Genfluss kann mit Hilfe des Φ_{ST} -Wertes berechnet werden (SLATKIN & BARTON 1989, SINCLAIR et al. 1996, GOMES et al. 1998, BENDER 1999).

$$N_e m \approx 0,25 \left(\frac{1}{\phi_{ST} - 1} \right)$$

$N_e m$ = Anzahl der Migranten pro Generation

N_e = effektive Populationsgröße

m = Migrationsrate (Anteil neuer Allele, der in einer Generation durch Migration in eine Subpopulation gelangt)

Ist N_{em} „viel kleiner als 1“ gelten die untersuchten Populationen als räumlich getrennt (WRIGHT 1978).

Der Genfluss zwischen Populationen ist abhängig von der geographischen Distanz zwischen ihnen (JAIN & BRADSHAW 1966) und dem Fehlen geographischer Barrieren. Ferner wird er beeinflusst von der Art der Vermehrung und den Verbreitungsmechanismen der Art. Die Differenzierung von Populationen ist unter anderem vom Genfluss zwischen ihnen abhängig. Zur Beschreibung unterschiedlicher Populationsstrukturen werden unterschiedliche Modelle vorgeschlagen (HANSKI & GILPIN 1991):

- Das „Kontinent-Insel-Modell“ ist gekennzeichnet durch Genfluss von einer großen (kontinentalen) Population in Richtung einer kleinen „Inselpopulation“ (Abbildung).

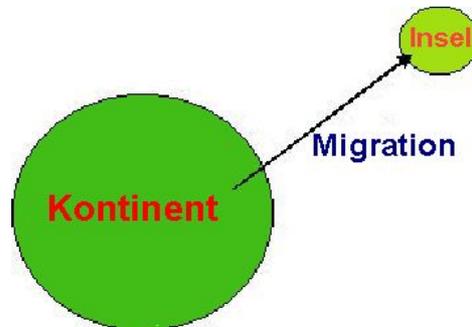


Abb. 19: Schematische Darstellung der Verbindung zwischen Besiedlungsquelle und „Vorposten“ nach dem Kontinent-Insel-Modell

- Beim „Insel-Modell (Abb. 20) tritt Genfluss zwischen allen kleinen Populationen mit gleicher Wahrscheinlichkeit auf. F_{ST} als Maß für genetische Divergenz wird in diesem Modell hauptsächlich durch genetische Drift beeinflusst (WRIGHT 1978, SLATKIN & VOELM 1991, WEIR & COCKERHAM 1984).

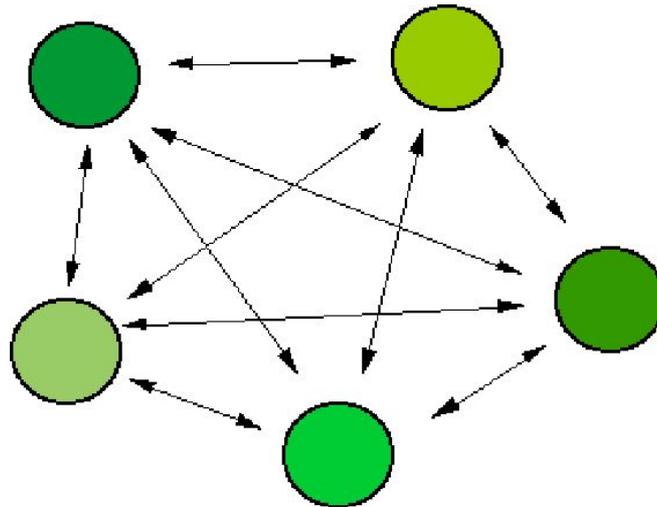


Abb. 20: Schematische Darstellung der Verbindung zwischen Populationen nach dem „Insel-Modell“

- Beim „Sprungbrett“ – oder „Trittsteinmodell“ (Abb. 21) tritt Migration nur zwischen benachbarten Populationen auf.

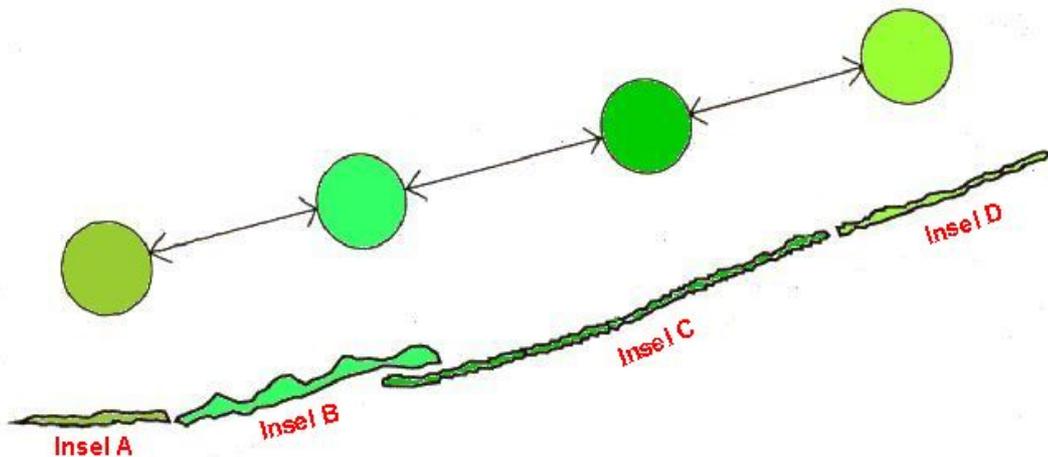


Abb. 21: Schematische Darstellung der Verbindung zwischen Populationen nach dem „Sprungbrett-Modell“

- Abschließend das „Isolation durch Entfernungs-Modell“ („isolation by distance“; SLATKIN 1993). Dieses Modell beschreibt in einer kontinuierlich verbreiteten Population einen mit der Entfernung abnehmenden Genfluss (Abb. 22).

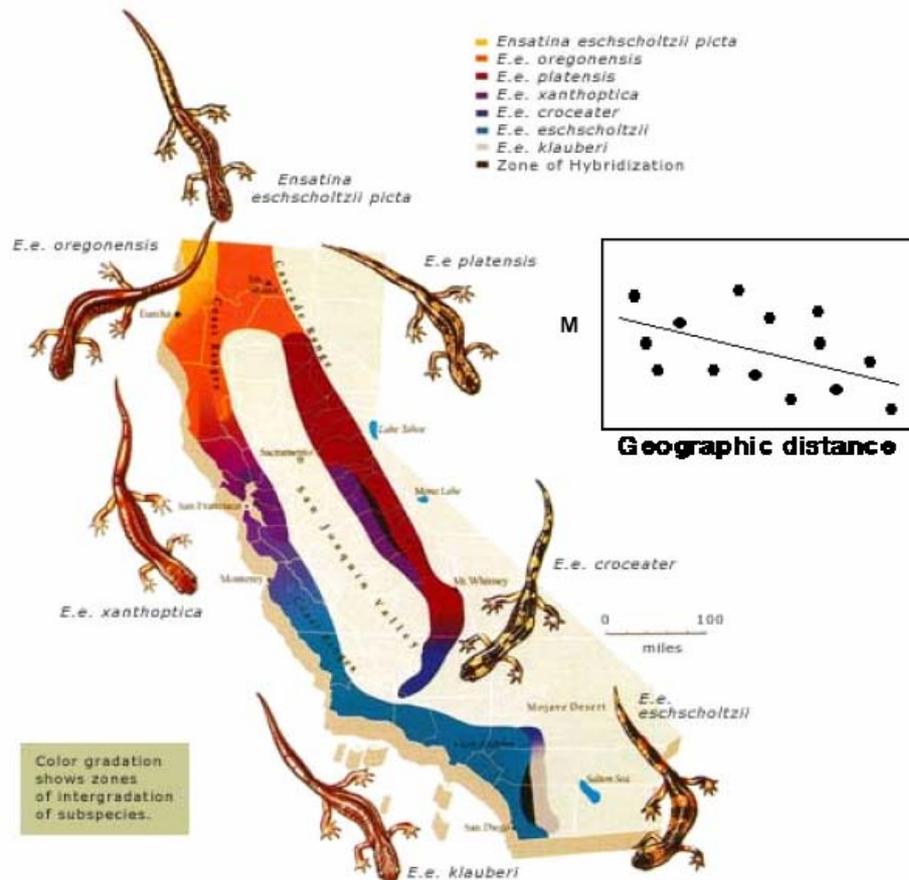


Abb. 22: Abnahme des Genflusses mit zunehmender geographischer Entfernung („isolation by distance“) und Variationen von *Ensatina* spec. in N-Amerika als Beispiel (THELANDER 1994)

5.7.5 Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) beschreibt den Zusammenhang zwischen Genotypen und Allelfrequenzen eines Locus in einer Population diploider Organismen. Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht stellt eine der wichtigsten Erkenntnisse der theoretischen Populationsgenetik dar. Beim Hardy-Weinberg-Gleichgewicht geht man davon aus, dass sich eine Population im Gleichgewicht befindet, zufällige Paarung zwischen allen Individuen herrscht und keine evolutionären Kräfte auf die Population einwirken. Nach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht wird die Beziehung zwischen Allelfrequenz und Genotypfrequenz einer Population, für einen Locus mit zwei Allelen, folgendermaßen charakterisiert:

Tabelle 10 Erwartete Allel-Häufigkeit eines zwei-Allel-Systems (p und q) der Genotypen in Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Genotyp	AA	Aa	aa
HW-Häufigkeit	p^2	$2pq$	q^2
	$p + q = 1$		
	$p^2 + 2pq + q^2 = 1$		

In einem diploiden Organismus wird das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht innerhalb von zwei Generationen erreicht. Die Heterozygotie gleicht der Häufigkeit von Heterozygoten in diploiden Organismen für zufällig sich paarende Populationen. Da die Heterozygotie nur Allelfrequenzen und keine Genotypfrequenzen verwendet, kann sie als Maß für genetische Diversität von Populationen verwendet werden, die sich nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befinden (NEI 1973).

Voraussetzungen für das Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts:

- sehr große Population
- die Individuen müssen sich uneingeschränkt paaren können
- es gibt keine Selektion bestimmter Allele
- keine Genwanderung (Genmigration) kommt vor
- keine Erbänderungen treten auf

Bei isolierten Populationen mit geringer Individuenzahl ist das Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts kritisch zu betrachten.

5.7.6 Genetische Distanzen

Unter Annahme des IAM-Modells (s. Kap. 5.7.3.1) wurde die Genetische Distanz D_S nach NEI (1972) formuliert. Sie kann für Mikrosatelliten mit dem Programm POPGENE Ver. 1.32 berechnet werden.

$$D_S = -\log\left(\frac{J_{xy}}{\sqrt{J_x J_y}}\right)$$

J_x : Zahl der Allele in Population x

J_y : Zahl der Allele in Population y

J_{xy} : Zahl der Population x und y gemeinsamen Allele

Die Werte für D_S tendieren bei großer Ähnlichkeit der untersuchten Populationen gegen 0, während sie bei geringer Ähnlichkeit gegen 1, formelbedingt aber gegen ∞ streben.

5.7.7 Test auf „Isolation by distance“

Der statistische Zusammenhang zwischen geographischer und genetischer Distanz wird mittels Mantel-Test (MANTEL 1967) abgesichert. Der Mantel-Test eignet sich besonders für ökologische und genetische Daten, da er nicht unabhängige, normalverteilte Daten benötigt, um gesicherte Aussagen machen zu können. Die Berechnungen wurden mit dem Programm GENEPOP Vers. 3.4 (RAYMOND & ROUSSET 1995) durchgeführt.

5.8 Weitere statistische Auswertemethoden

5.8.1 Clusteranalyse und Berechnung von Dendrogrammen

Mit Hilfe einer Clusteranalyse wird die heterogene Objektmenge in Gruppen von ineinander homogenen Objekten (Cluster) zerlegt.

Nach BORTZ (1993) werden dabei die durch einen festen Satz von Merkmalen beschriebenen Objekte nach ihrer Ähnlichkeit in Cluster eingeteilt, wobei die Cluster intern möglichst homogen und extern möglichst gut voneinander unterscheidbar sein sollen. Die Clusteranalyse stellt somit einen wichtigen Ansatz zur Unterscheidung von Individuen bzw. Populationen dar. Die so erzeugten Dendrogramme können dazu dienen, Distanzen aufgrund von Allel- und Genotypfrequenzen und den Mittelwerten von Merkmalen zweidimensional, graphisch darzustellen. Die Clusteranalyse wurde mit Hilfe des Programms STATISTICA 6.0 durchgeführt. Eine der häufigsten und einfachsten Clustermethoden ist die UPGMA (unweighted pairgroup method using arithmetic averages, SNEATH & SOKAL 1973, HILLIS 1996). Bei der UPGMA- Methode wird

zunächst ein Paar geringster Distanz D gebildet und die durchschnittliche genetische Distanz dieses Pairs zu den übrigen Populationen berechnet. Anschließend wird wieder die geringste genetische Distanz gesucht und das nächste Paar gebildet. Mit Hilfe dieses Algorithmus wird während einer Clusteranalyse versucht, relativ homogene Fallgruppen oder Variablen zu identifizieren und diese werden dann in separate Cluster eingeordnet. Diese Cluster werden dann agglomerativ zu einem hierarchischen Cluster aufgebaut und in einem Dendrogramm grafisch dargestellt. Individuen mit ähnlichem genetischen Datensatz können dann in einem gemeinsamen Cluster angeordnet werden. Die Position bzw. die mehr oder weniger starke Abgrenzung dieser Cluster innerhalb des Dendrogramms beschreibt dann die genetische Struktur bzw. die genetische Diversität von Populationen. Die genetischen Distanzen zwischen den Populationen, bzw. Gruppen von Populationen werden im Dendrogramm durch die Länge der verbindenden Äste dargestellt. Die durchschnittlichen Distanzen basieren auf allen im Gesamtcluster vorhandenen Daten. Die UPGMA wurde ursprünglich für die Erstellung von taxonomischen Phenogrammen und Dendrogrammen, die phänotypische Ähnlichkeiten zwischen Individuen reflektieren, entwickelt (NEI 2000). Auch in populationsgenetischen Untersuchungen findet sie häufig Anwendung (KAMBHAMPATI et al. 1992, HAIG et al. 1994, JAGGI et al. 2000, ZHOU et al. 2000, CHIAPPERO & GARDENAL 2001, KULIKOVA et al., MISHRA et al. 2002).

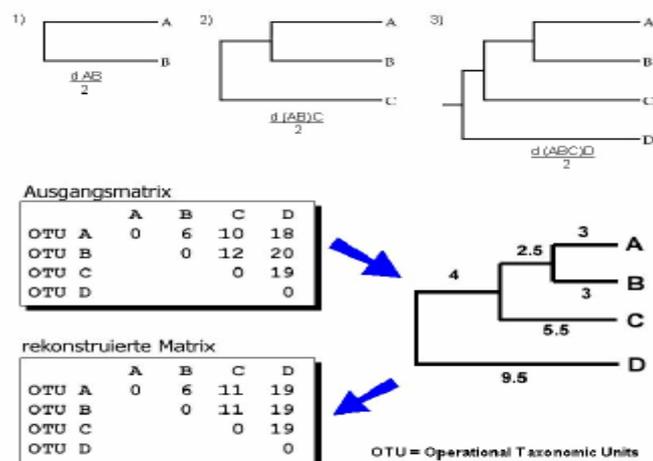


Abb. 23: Prinzip der UPGMA-Methode (Additive Methode, OTUs ("operational taxonomic units") werden durch sequenzielles Clustern nach absteigender Ähnlichkeit gruppiert.

Dieses Clusterverfahren spiegelt jedoch nur dann die Datenstruktur korrekt wider, wenn die Distanzen ultrametrisch sind (WÄGELE 2001). Diese Annahme trifft auf biologische Daten in der Regel nicht zu, da die Evolutionsprozesse normalerweise nicht regelmäßig ablaufen, es also keine "gleichförmige molekulare Uhr" gibt. Ein dem UPGMA ähnlicher Algorithmus ist die so genannte Neighbor-Joining (NJ) Methode (SAITOU & NEI 1987). Dieses Clusterverfahren benötigt keine ultrametrischen Distanzen, toleriert also taxaspezifische Abweichungen in den Evolutionsraten, die durch unterschiedliche Astlängen dargestellt werden. Ausgangspunkt des Verfahrens ist eine Sterntopologie. Das Ziel der Neighbor Joining Methode ist nun die Minimierung der Summe aller Astlängen. Da diese Methode keine konstante Evolutionsrate (gleichförmige molekulare Uhr) voraussetzt, ist es die Methode der Wahl bei phylogenetischen und evolutionsbiologischen Fragestellungen (GILLIES et al. 1999, CLAUSING et al. 2000, DESVIGNES et al. 2001, KRUGER et al. 2002, STEPNIAK et al. 2002).

5.8.2 Faktorenanalyse, Hauptkomponentenanalyse

Die Faktorenanalyse (engl.: factor analysis) ist ein datenreduzierendes und hypothesengenerierendes Verfahren, das eine große Anzahl von Variablen gemäß ihrer korrelativen Beziehungen zueinander in wenige, voneinander unabhängige Variablengruppen ordnet (MANLY 1994, BORTZ 1993). Ziel der Faktorenanalyse ist es, den Grad der Komplexität, der durch eine Vielzahl von Variablen dargestellt wird, durch möglichst wenige Faktoren wiedergeben zu können. Diese Variablengruppen werden Faktoren (bzw. Hauptkomponenten in der Hauptkomponentenanalyse) genannt. Sie besteht aus den folgenden 4 Schritten:

- Korrelationsmatrizen

Die Korrelationsmatrizen geben einen ersten Überblick darüber, welche Variablen stark und welche nur schwach miteinander korrelieren. Hier kann man also ablesen, welche Variablen möglicherweise unberücksichtigt bleiben sollten und welche in die Faktorenanalyse miteinbezogen werden.

- Faktorextraktion

Dieser Schritt dient dem Extrahieren der Faktoren und zeigt durch statistische Maßzahlen, ob das Faktorenmodell geeignet ist.

- Rotation

Die Rotation dient dazu, die im zweiten Schritt gefundenen Faktoren graphisch so darzustellen, dass eine sinnvolle Interpretation der Daten stattfinden kann.

- Faktorwerte

Hier können konkrete Faktorwerte berechnet werden. Sie werden gebraucht, um Faktoren als Variablen in weiteren Untersuchungen verwenden zu können. Die am weitesten verbreitete Faktorenanalyse ist die Hauptkomponentenanalyse (HKA, engl.: principal component analysis, PCA). Bei der HKA-Analyse werden sukzessive die Achsen ermittelt, welche die Varianzen im Datensatz maximal beschreiben. Sie wurde als erstes von GOODALL (1954) für ökologische Fragestellungen eingesetzt. Bei diesem Verfahren werden lineare Kombinationen der Variablen gebildet. Als erste Hauptkomponente (Faktor) wird diejenige ausgewiesen, die den größten Teil der Gesamtstreuung aller Variablen im statistischen Sinne erklärt. Die zweite Hauptkomponente ist entsprechend diejenige, die den zweitgrößten Teil erklärt (usw.). Um zu möglichst stabilen, vom Zufall weitgehend unbeeinflussten Faktorenstrukturen zu gelangen, sollte die untersuchte Stichprobe möglichst groß und repräsentativ sein. Des Weiteren ist darauf zu achten, dass die Anzahl der Untersuchungseinheiten größer ist als die Anzahl der faktorisierenden Merkmale (BORTZ 1993). Ziel der Hauptkomponentenanalyse ist also die Identifizierung von wichtigen Trends innerhalb der erhobenen Daten. Der Vorteil der Hauptkomponentenanalyse liegt in der besseren graphischen Darstellung großer Individuenzahlen, wohingegen individuelle genetische Unterschiede in einer Clusteranalyse deutlicher werden.

5.8.3 Varianzanalyse

Nähere Informationen über die Populationsstruktur bzw. über den Grad der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen Populationen werden über eine AMOVA ("Analysis of molecular variance", EXCOFFIER et al. 1992) ermittelt. Dazu wurde das Softwareprogramm ARLEQUIN Vers. 2.000 (SCHNEIDER et al. 2000) verwendet. Als Datenbasis dient die quadrierte euklidische Distanz D . Die Varianz ist die Summe der Abweichungsquadrate ($SQ = \text{sum of squares}$) aller Messwerte einer Verteilung von ihrem Mittelwert, dividiert durch den Freiheitsgrad ($n - 1$):

$$S_x^2 = \frac{SQ}{n-1} = \frac{1}{n-1} \cdot \sum (x_i - \bar{x})^2$$

n = Stichprobenumfang

$n - 1$ = Freiheitsgrad

x_i = Meßwert

\bar{x} = arithmetisches Mittel der Meßwerte

Die Varianz beschreibt eine Methode zum Prüfen der Nullhypothese mehrerer gleicher Gruppenmittelwerte in der Grundgesamtheit (Gesamtstichprobe). Je größer die Streuung zwischen den Gruppenmittelwerten bzw. je kleiner die Streuung innerhalb der Gruppen ist, desto größer ist die Vermutung, dass es einen Unterschied der Gruppenmittelwerte in der Grundgesamtheit gibt. Dabei wird die für die Gruppenmittelwerte geschätzte Stichprobenvarianz mit derjenigen innerhalb der Gruppen verglichen.

5.8.4 Diskriminanzanalyse

Ausgehend von der Herkunft der Individuen besteht grundsätzlich die Möglichkeit, jedes Individuum einer geographischen Gruppe zuzuordnen. Diese Gruppierung kann anschließend mit einer Diskriminanzanalyse der genetischen Marker geprüft werden. Die Diskriminanzanalyse ist ein multivariates Verfahren zur Analyse von Gruppen- bzw. Klassenunterschieden. Mit dieser Methode ist es möglich, zwei oder mehrere Gruppen unter Berücksichtigung von mehreren Variablen zu untersuchen und zu ermitteln, wie sich diese Gruppen unterscheiden. Im Unterschied zur Clusteranalyse ist die Diskriminanzanalyse kein exploratives, sondern ein konfirmatorisches Verfahren. Durch die Diskriminanzanalyse werden keine Gruppen gebildet, sondern man geht von einer vorhandenen Gruppierung aus und überprüft die Qualität dieser Gruppierung. Durch die Diskriminanzanalyse lässt sich analysieren,

- ob die vorliegende, möglicherweise durch Clusteranalyse ermittelte Gruppierung optimal ist, oder ob sie verbessert werden kann;
- welche Variablen für die Gruppenbildung besonders geeignet sind, bzw. auf welche Variablen sich die Gruppenunterschiede hauptsächlich zurückführen lassen;
- in welche Gruppe ein neues Objekt aufgrund seiner Merkmalsausprägungen einsortiert werden kann.

Der in der Praxis am häufigsten auftretende Fall ist der Mehr-Gruppen-Fall. Bei diesem Fall reicht eine Diskriminanzfunktion nicht mehr aus, um die Gruppen zufrieden stellend zu trennen. Nach der Ermittlung der ersten Diskriminanzachse sind in der Regel die Überlappungsbereiche so groß, dass weitere Achsen bestimmt werden können, bei G Gruppen maximal $G - 1$ Diskriminanzachsen. Da die Anzahl der Diskriminanzfunktionen nicht höher sein sollte als die Anzahl der Merkmalsvariablen I , ist die maximale Anzahl der Diskriminanzfunktionen auf $K = \text{Min}(G - 1, I)$ festgelegt. Im Normalfall reichen jedoch zwei Diskriminanzfunktionen aus. Zur Beurteilung der Bedeutung der einzelnen Diskriminanzfunktion für das Trennverfahren wird der Eigenwertanteil jedes Eigenwertes EA_k , der erklärte Varianzanteil verwendet:

$$EA_k = \frac{\gamma_k}{\gamma_1 + \gamma_2 + \gamma_3 + \dots + \gamma_k} \quad \text{mit } k = 1, 2, 3, \dots, K$$

Er gibt die durch die k -te Diskriminanzfunktion erklärte Streuung als Anteil der Gesamtstreuung an. Zur Klassifizierung von Objekten beim Mehr-Gruppen-Fall gibt es mehrere Konzepte, unter anderem das Distanzkonzept und das Wahrscheinlichkeitskonzept. Beim Distanzkonzept wird ein Element derjenigen Gruppe zugeordnet, zu deren Gruppenmittelpunkt (Centroid) es den geringsten Abstand hat. Das Wahrscheinlichkeitskonzept ist eine Weiterentwicklung des Distanzkonzepts. Dabei wird ein Element mit dem Diskriminanzwert y_j derjenigen Gruppe g zugeordnet, bei der die Wahrscheinlichkeit $p(g/y_j)$ maximal ist. Die Klassifizierungswahrscheinlichkeit wird nach dem Bayes-Theorem bestimmt. Die Bewertung der Klassifizierung erfolgt durch eine Klassifikationsmatrix ("confusion matrix"): Tabellarisch wird für jede Gruppe die durch die Diskriminanzanalyse ermittelte (fehlerhafte) Zuordnung ihrer Elemente zu anderen Gruppen dargestellt und der Anteil der fehlklassifizierten Objekte prozentual ausgewiesen. Dieses Resultat wird dann mit der Trefferquote einer zufälligen Zuordnung verglichen. Ein effizienteres Verfahren besteht darin, die Stichprobe in eine Mehrzahl von k Unterstichproben aufzuteilen, von denen man $k - 1$ Unterstichproben für die Schätzung einer Diskriminanzfunktion verwendet, mit welcher sodann die Elemente der k -ten Unterstichprobe klassifiziert werden. Dies lässt sich für jede

Kombination von $k - 1$ Unterstichproben wiederholen (Jackknife-Methode; EFRON 1982, SHAO & TU 1995).

5.8.5 „Resampling“-Verfahren: Jackknife

Bei der Bestimmung einer Statistik geht man in den meisten Fällen von einer Stichprobe aus, die repräsentativ für eine gesamte Population sein sollte. Man ist deshalb daran interessiert zu wissen, wie variabel die Schätzung eines Parameters ist. In bestimmten Fällen gibt es Formeln (z.B. Mittelwert und Standardabweichung einer Normalverteilung), die es erlauben, die Variabilität zu berechnen. Wenn aber keine Formeln existieren und es zu kostspielig und/oder unmöglich ist, mehrere Stichproben aus einer Population zu entnehmen, dann hat man die Möglichkeit, mit sog. "Resampling"- Verfahren (WU 1986) die Streuung eines Parameters zu schätzen. Über die vorgestellten Clustermethoden erhält man ein oder mehrere Dendrogramme, ohne jedoch zu wissen, wie sehr den Daten, die in diesen Dendrogrammen stecken, vertraut werden kann. Um dieses Problem zu lösen, werden zwei Algorithmen genutzt: Bootstrap (EFRON 1979, FELSENSTEIN 1995) und Jackknife (EFRON 1982). Bei beiden Verfahren wird die Datenmatrix, die dem Dendrogramm zugrunde liegt, zufällig modifiziert. Ausgehend von diesen modifizierten Matrizen werden neue Dendrogramme (normalerweise 100 bis 2000 Stück erstellt). Finden sich die Grundzüge des ursprünglich erstellten Baumes besonders häufig in den neu berechneten Bäumen, so wird die Genauigkeit und Aussagekraft von diesem unterstützt. Aus den vorhandenen Daten einer Matrix werden unabhängige Stichproben gewonnen (Pseudomatrizen), indem aus dem ursprünglichen Datensatz zufällig Positionen (Matrixspalten wie beispielsweise Sequenzpositionen oder andere genetische Marker wie z.B. RAPD Loci) gezogen und zurückgelegt werden. Das heißt, eine zufällige Position der Datenmatrix wird kopiert und nimmt die Position Eins der ersten Pseudomatrix ein. Eine weitere zufällige Position wird kopiert (es kann theoretisch dieselbe Position sein) und bildet Position Zwei dieser Pseudomatrix. Dies wird solange wiederholt, bis die Pseudomatrix die gleiche Größe wie die Originalmatrix aufweist. Durch dieses Verfahren können manche Positionen mehrmals in der Pseudostichprobe vorhanden sein, andere gar nicht. Folglich erhält die neugewonnene Stichprobe nur Positionen wie im Originaldatensatz,

aber mit veränderter Frequenz. Auf Grundlage dieser Pseudostichprobe wird über die gleiche Clustermethode ein phylogenetischer Baum (Bootstrap-Baum) konstruiert. Dieser Prozess der Generierung von Pseudostichproben wird normalerweise 100 – 2000 .mal wiederholt und man erhält so diese Anzahl von Bootstrap-Bäumen. Die Häufigkeit des ursprünglich erstellten Baumes (Übereinstimmung in %) kann nun gemessen werden, um dessen Relevanz angeben zu können. Das Bootstrap-Verfahren ist bei einem sehr umfangreichen Datensatz kaum durchführbar, da hierfür herkömmliche Computer-Rechenleistungen nicht ausreichen. Für diesen Fall eignet sich das Jackknife-Verfahren (auch Eliminierungsmethode genannt). Auch hierbei werden Matrizen durch die zufällige Auswahl von Merkmalen, d.h. Positionen aus der Originalmatrix aufgebaut, wobei die entstehende Pseudomatrix allerdings nur aus einem gewissen Prozentsatz der Merkmale besteht. In der Regel wird die Matrixgröße um 50% reduziert, d.h. bei jedem der 100 – 2000 Durchgänge wird immer nur die Hälfte der Merkmale berücksichtigt. Der weitere Vorgang ist mit dem des Bootstrapping identisch.

6 Ergebnisse

6.1 Optimierung der Methoden

Zur besseren Vergleichbarkeit wurden alle Proben gleich behandelt. Die Probenaufbereitung, die PCR und die Auswertung wurden standardisiert durchgeführt.

6.1.1 DNA-Isolierung und Reinheitsgrad

Williams et al. (1990) konnte nachweisen, dass es von großer Bedeutung ist, den Schritt der Isolierung zu optimieren und zu standardisieren. Nach Angaben von Bielawski et al. (1995) beeinflusst die DNA-Isolierungsmethode die Qualität der DNA, die wiederum die Grundvoraussetzung für den Erhalt reproduzierbarer Amplifikationsmuster darstellt.

Die Anwendung der Salz-Chloroform-Methode mit Proteinase K (s. Kap. 5.5.1) brachte von Anfang an Ergebnisse mit DNA ausreichender bis guter Qualität. Die DNA-Mengen waren je Probe unterschiedlich, wie die Reinheitsgrade auch. Bei einer durchschnittlichen Einwaage von 80 mg lag der DNA-Gehalt zwischen 0,72 µg und 1,74 µg. Die Reinheit (260nm/280nm Ratio) schwankte zwischen 1,41 und 1,92. Der durchschnittliche Wert lag bei 1,75. Der angestrebte optimale Wert betrug 1,85. Auch bei Werten unter 1,85, was auf Verunreinigung mit Proteinen oder Chloroform hindeutet, konnte im Probegel eine gute Qualität der DNA bestätigt werden. Proben mit schlechter Qualität wurden verworfen.

Mit längerer Lagerungsdauer in 80 %igem unvergälltem Alkohol fiel keine Verschlechterung der DNA-Qualität auf. So brachten Proben nach mehr als vier Jahren Lagerungsdauer gute, reproduzierbare Ergebnisse.

Insgesamt stellte sich die der Mikro-Salz-Chloroform Isolierungsmethode als gut geeignet heraus.

6.1.2 Optimierung der PCR

Die Qualität der Amplifikationsmuster ist von zahlreichen Bedingungen abhängig. Die geringste Änderung in den Amplifikationsbedingungen beeinflusst wegen der

Sensitivität der Methode die Reproduzierbarkeit der Amplifikationsergebnisse (WILLIAMS et al. 1990, HARDYS et al. 1992). Um eine Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu erreichen, ist eine Standardisierung notwendig.

Der Thermocycler wurde je nach Primer mit 30 oder 35 Zyklen programmiert. Bei dieser Zyklenzahl wurden die Amplifikationsmuster am deutlichsten getrennt. WILLIAMS et al. (1993) geben 35 Zyklen als ausreichend an.

Nach folgenden Mustern wurde der Thermocycler programmiert:

Tabelle 11 Temperatur- und Zeitprogrammierung des Thermocyclers für die Mikrosatelliten-Primer C9, B3, B4

Schritte	Temp. in °C	Zeit in Sekunden	Zweck
1. Teil	94°C	90 s	vollständige Denaturierung der Template-DNA
2. Teil	94°C	30 s	Denaturierung
30 Zyklen	57°C	45 s	(Hybridisierung) Annealing
	72°C	30 s	Synthese
Abschluss	72°C	7 min	abschließende Synthese
Kühlung	4°C	∞	

Abweichend von obigem Muster wurden für die Mikrosatelliten-Primer Lv 3-19, A7, C24, Lv 4-alpha, B7 der 2. Teil der Temperatur- und Zeitprogrammierung des Thermocyclers folgendermaßen variiert:

Lv 3-19	Annealing- Temp:	55°C	
A7, C24	Annealing- Temp:	60°C	35 Zyklen
Lv 4-alpha	Annealing- Temp:	61°C	
B7	Annealing- Temp:	60°C	

In der vorliegenden Arbeit wurden 100 ng Template-DNA je Probe für die PCR eingesetzt.

Jedes Reaktionsgemisch wurde aus 2,5 µl 10x Reaktionspuffer, 0,5 µl 10 mM dNTPs, 1,0 µl 10 µM Primer, 3 µl Template-DNA (100 ng), 0,25 µl PrimeZyme™

DNA-Polymerase (2 U/ μ l) zusammengesetzt und mit $H_2O_{bidest.}$ auf 26 μ l aufgefüllt. Das Ansetzen des Reaktionsgemisches erfolgt in einer Eiswasserlösung bei 0°C. Alle Reagenzien, wie auch die Proben, wurden auf einem Vortex Genie 2 kräftig durchmischt, bevor sie pipettiert wurden. Nach kurzem Durchmischen (durch anschnippen mit dem Finger) wurden die Gefäße in den Thermocycler eingesetzt und sofort das Cyclerprogramm gestartet.

6.2 Primertest

Für die vorliegende Arbeit wurden insgesamt zehn verschiedene Mikrosatelliten-Primer getestet, wobei acht davon ausgewertet wurden (Tabelle 14), zwei Mikrosatelliten-Primer brachten keine auswertbaren Ergebnisse (Tabelle 15). Entwickelt wurden die Primer von ESTOUP et al. (1999), sowie NEMBRINI & OPPLIGER (2003).

ESTOUP et al. (1999), entwickelten sieben Mikrosatelliten-Primer für *Lacerta vivipara* und testeten diese auf Anwendbarkeit bei *Podarcis muralis*. Vier der sieben Primer erwiesen sich als polymorph für *Podarcis muralis*. Die beiden Primer Lv 4-72 sowie Lv 4-X erbrachten in der hier vorliegenden Untersuchung keine eindeutig auswertbaren Ergebnisse. Ein Einbezug der beiden Primer wurde für die vorliegende Arbeit verworfen. Die beiden Primer Lv 4-alpha sowie Lv 3-19 erwiesen sich als polymorph mit gut reproduzierbaren Ergebnissen. In Tabelle 12 sind die Ergebnisse von ESTOUP et al. (1999) für die beiden ausgewerteten Primer dargestellt.

Tabelle 12 Ergebnisse der Mikrosatelliten-Primer Lv 4-alpha und Lv 3-19 für *Podarcis muralis* (ESTOUP et al. 1999)

Locus	A	N	H _O	H _E	P _{exl}	Größe (bp)
Lv 4-alpha	14	16	0,91	0,94	0,809	130-158
Lv 3-19	8	16	0,83	0,86	0,674	149-161

A, Allele pro Locus; N, Zahl der untersuchten Tiere; H_O, observed heterozygoty; H_E, corrected heterozygoty (NEI 1987); P_{exl}, single locus probability of exclusion, GenBank Accession nos AF100291, AF100289

Die untersuchten Tiere wurden am Mont Lozère in den Cevennen, ca. 70 km entfernt vom Standort der Population 3 (Ardèche), gefangen. Da hier flächenhaft

Mauereidechsen vorkommen sind die Ergebnisse von ESTOUP et al. (1999) und der vorliegenden Untersuchung auf Grund der geographischen Lage, der Nähe zueinander und dem Fehlen von Ausbreitungsbarrieren vergleichbar.

NEMBRINI & OPPLIGER (2003) ließen neun Mikrosatelliten-Primer von dem Unternehmen Genetic Identification Services, Inc. Chatsworth, CA entwickeln. Dazu wurde die Leber einer Mauereidechse aus Echandens, Schweiz, verwendet. In Tabelle 13 ist ein Teil der Ergebnisse der Untersuchungen von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) dargestellt.

Tabelle 13 Ergebnisse der Mikrosatelliten-Primer B3, B4, B7, C9, C24, A7 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003).

Locus	A	N	H _O	H _E	Größe (bp)
B3	12	16	0,75	0,89	177
B4	6	15	0,53	0,50	139
B7	4	5	0,80	0,80	129
C9	4	14	0,50	0,60	130
C24	4	13	0,61	0,69	205
A7	7	14	0,714	0,77	182

A, Allele pro Locus; N, Zahl der untersuchten Tiere; H_O, observed heterozygoty; H_E, expected heterozygoty; GenBank Accession nos AF147825, AF147826, AF147823, AF147822, AF147827, AF147824

In den beiden obigen Tabellen sind nur die Ergebnisse der Primer dargestellt, die in die vorliegende Arbeit einfließen. Alle Primer (Lv 4-alpha, Lv 3-19, B3, B4, B7, C9, C24 und A7) brachten gut reproduzierbare Ergebnisse.

Tabelle 14 Getestete und ausgewertete Mikrosatelliten-Primer

Locus	Primer Sequenz (5'-3') Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	T (°C)	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
C9	F: HEX-CAT TGC TGG TTC TGG AGA AAG R: CCT GAT GAA GGG AAG TGG TG	57	(CAA) ₇ CCA (CAA) ₃	130
B7	F: FAM-GGG GAA AGC TAC TGG CTA CAC R: AGT CCA GGT GAA TTT GCA GAG	60	(AG) ₁₉	129
A7	F: FAM-TGC TTA TGG GTG ATG ACT GG R: AGA ATT GCA GAG GTG GAA GG	61	(GT) ₁₈	182
B3	F: HEX-CTG TCC TCT CAC AGT TCA CTC C R: AAA GAG CTA AGA AGC GAA GAC C	57	(GAA) ₃ (GA) ₁₄ (TAGA) ₃ (GA) ₁₄	177
B4	F: HEX-AAT CTG CAA TTC TGG GAT GC R: AGA AGC AGG GGA TGC TAC AG	57	(AG) ₁₆	139
C24	F: FAM-AGA GTG GCT GGG GGA AAC R: GTA AGT AAA CGG GCG GCT TG	60	(TAAA) ₃ (CAA) ₁₀ (AAT) ₃	205
Lv-4-alpha	F: FAM-CTG CAG GGA ACA GAA TTA ACC R: CTG CCC AGA AAG CAT TTC C	60	(AC) ₁₄ A(GA) ₁₁ (CAGAGA) ₉ CAGAT(AG) ₃	130- 158
Lv-3-19	F: HEX-CTG TTG CTA TTT TGT ATG CTT AC R: CCT GTG ACT GTC CTC AGA GG	55	(AC) ₂₂	149- 169

Tabelle 15 Getestete Mikrosatelliten-Primer die nicht ausgewertet wurden

Locus	Primer Sequenz (5'-3') Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	Ta (°C)	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
Lv-4-72	F: CCC TAC TTG AGT TGC CGT C R: CTT TGC AGG TAA CAG AGT AG	53	(AC) ₁₈	103- 130
Lv-4-X	F: CTG AAA CAT GGA TTA GAG GC R: GCA CTC CTT GCG TGG C	54	(GT) ₂₂	117- 139

In Tabelle 15 sind 2 Mikrosatelliten-Primer dargestellt, die trotz mehrfachem Testen keine reproduzierbaren Ergebnisse brachten.

6.3 Auswertung der Primer

6.3.1 Mikrosatelliten-Primer B3

Am Mikrosatelliten-Locus B3 konnten für alle untersuchten Mauereidechsen insgesamt 38 Marker ermittelt werden. In Tabelle 16 sind die Anzahl der unterschiedlichen Marker, die Summe der Mikrosatelliten-Marker pro Population, die Allelfrequenzen und die H_o -Werte (*observed Heterozygotie*) dargestellt. Innerhalb Population 1 (**Abruzzen**) wurden **21** verschiedene, insgesamt **28** Mikrosatelliten-Marker detektiert. Dies entspricht einem H_o -Wert von **1,0** (über alle 38 Allele des Primers). Alle Tiere der Population sind heterozygot. Innerhalb Population 2 (**Pula**) wurden **12** verschiedene, insgesamt **18** ermittelt, was einer H_o von **0,64** entspricht. Am Standort 3 (**Ardèche**) wurden **19** verschiedene, insgesamt **34** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_o -Wert von **0,89**. Innerhalb von Population 4 (**Bitche**) wurden **8** verschiedene, insgesamt **28** Marker detektiert. Hier wurde ein H_o -Wert von **0,29** berechnet. Am Standort 5 (**Trier**) wurden **8** verschiedene Allele, insgesamt **21** Marker detektiert, was einem H_o -Wert von **0,62** entspricht. Innerhalb von Population 6 (**Urft**) wurden **5** verschiedene Allele, insgesamt **21** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_o -Wert von **0,75** und innerhalb der Population 7 (**Anhée**) wurden **3** verschiedene Allele, insgesamt **31** Marker detektiert, was einem H_o -Wert von **0,48** entspricht. In Abbildung 24, sowie Karte 5 ist die Verteilung der Allele über die einzelnen Standorte grafisch dargestellt.

Es wurden Mikrosatelliten-Längen von 139 bis 183 Basenpaaren (bp) detektiert. Von NEMBRINI & OPPLIGER. (2003) wurde die Größe des geklonten Allels mit 177 Basenpaaren und eine H_o von 0,75 angegeben. Sie ermittelten 12 verschiedene Allele bei 16 untersuchten Tieren.

Tabelle 16 Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer B3

	$\Sigma-H_e=0,66$	Abruzzen		Pula		Ardèche		Bitche		Trier		Urft		Belgien	
	Population	1		2		3		4		5		6		7	
Nr.	bp	n=14		n=11		n=18		n=20		n=13		n=12		n=21	
1	139							0,10	3						
2	141	0,04	1												
3	142					0,06	2	0,17	5	0,29	6				
4	143					0,06	2	0,21	6						
5	144					0,03	1								
6	145	0,04	1					0,21	6						
7	146							0,07	2						
8	147							0,10	3	0,10	2				
9	148											0,27	6		
10	149					0,09	3								
11	150	0,04	1			0,03	1			0,10	2				
12	151					0,12	4			0,29	6	0,14	3		
13	152					0,03	1					0,05	1		
14	153					0,06	2			0,05	1	0,14	3		
15	154	0,04	1							0,05	1				
16	155	0,04	1			0,03	1			0,05	1	0,36	8	0,55	17
17	156	0,04	1												
18	157			0,06	1	0,15	5							0,26	8
19	158			0,06	1	0,03	1								
20	159	0,04	1			0,03	1			0,10	2			0,19	6
21	160					0,03	1								
22	163			0,06	1										
23	164	0,13	3	0,11	2										
24	165	0,04	1												
25	166	0,04	1	0,06	1										
26	167	0,04	1	0,11	2	0,15	5	0,07	2						
27	168			0,06	1			0,03	1						
28	170	0,04	1	0,11	2										
29	172	0,04	1	0,11	2										
30	173	0,04	1												
31	174	0,13	3	0,06	1	0,03	1								
32	176	0,08	2	0,17	3	0,03									
33	177	0,13	3	0,06	1										
34	179					0,03	1								
35	180	0,04	1												
36	181	0,04	1												
37	182	0,04	1			0,03	1								
38	183	0,04	1			0,03	1								
	Σ Allele	21	28	12	18	19	34	8	28	8	21	5	21	3	31
	H_e	1,00		0,64		0,89		0,29		0,62		0,75		0,48	

Pop. = Population, Abr. = Abruzzen, Ard. = Ardèche, Bit. = Bitche, Anh. = Anhée, n = Anzahl beprobter Tiere

Mit 38 verschiedenen Allelen ist die hier ermittelte Zahl mehr als dreifach höher als bei NEMBRINI & OPPLIGER angegeben. Ausschlaggebend für die große

Abweichung sind die Populationen Abruzzen und Ardèche, die mit 21 bzw. 19 ermittelten verschiedenen Allelen eine große Bandbreite an Allellängen aufweisen. Die anderen Populationen liegen mit 3 bis 12 ermittelten Allelen innerhalb des von NEMBRINI & OPPLIGER angegebenen Bereiches. Den höchsten H_O -Wert erreicht die Population Abruzzen mit 1,00. Über alle Populationen hinweg wurde ein H_O -Wert von **0,66** ermittelt.

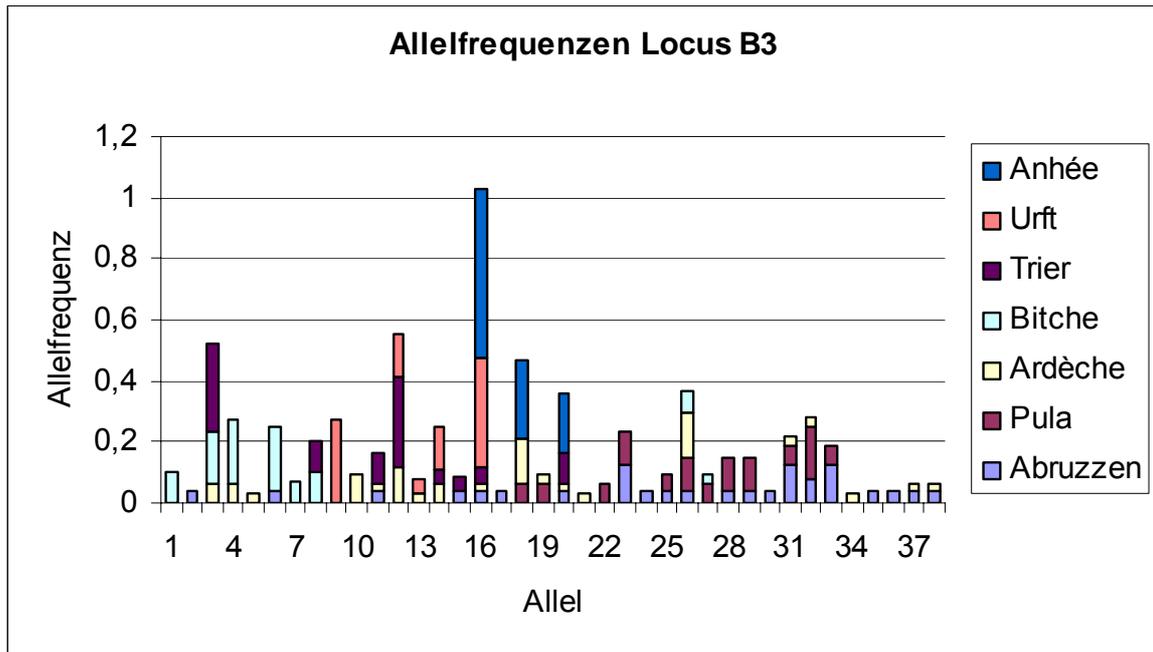
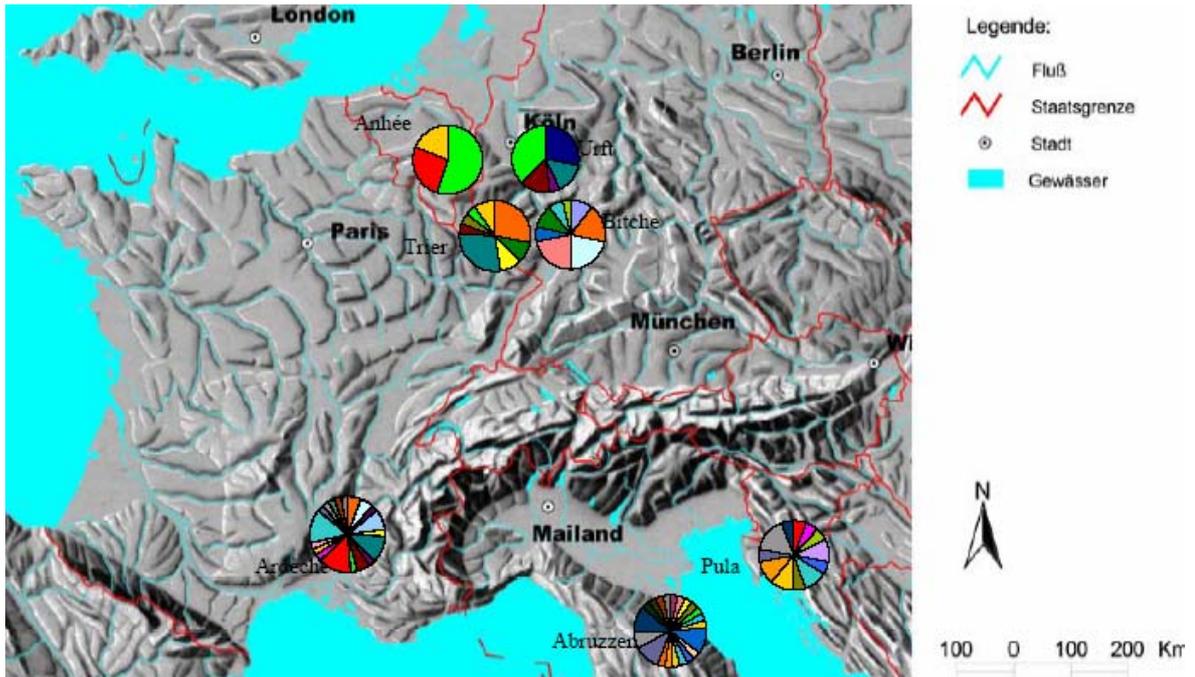


Abb. 24: Allelfrequenzen Locus B3

In Tabelle 16 und Abbildung 24 entspricht Marker 33 dem von NEMBRINI & OPPLIGER geklonten Marker mit einer Allellänge von 177 bp (Tabelle 17). Über alle ausgewerteten Loci erbringt Locus B3 die meisten Allele. Auffällig ist, dass am Standort „Trier“ die „kleineren“ Allele (3-20) vorkommen, wo hingegen am Standort „Pula“ die Allele mit der größeren Anzahl an Wiederholungen (Repeats) (18-33) vorkommen. Tiere der Standorte „Abruzzen“ und „Ardèche“ zeigen Allele über fast die gesamte Bandbreite der detektierten Marker. Innerhalb des Standorts „Bitche“ kommen hauptsächlich die Marker 1-8, sowie die 2 Marker 26 und 27 vor. Wie in Tabelle 16 ersichtlich wurden Allele mit nur einem Basenpaar Unterschied detektiert.



Karte 5: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus B3)

In Karte 5 ist die Verteilung der Allelfrequenzen an jedem Standort mit Kreisdiagrammen dargestellt. In Abb. 25 ist die Markerzahl an jedem Standort dargestellt.

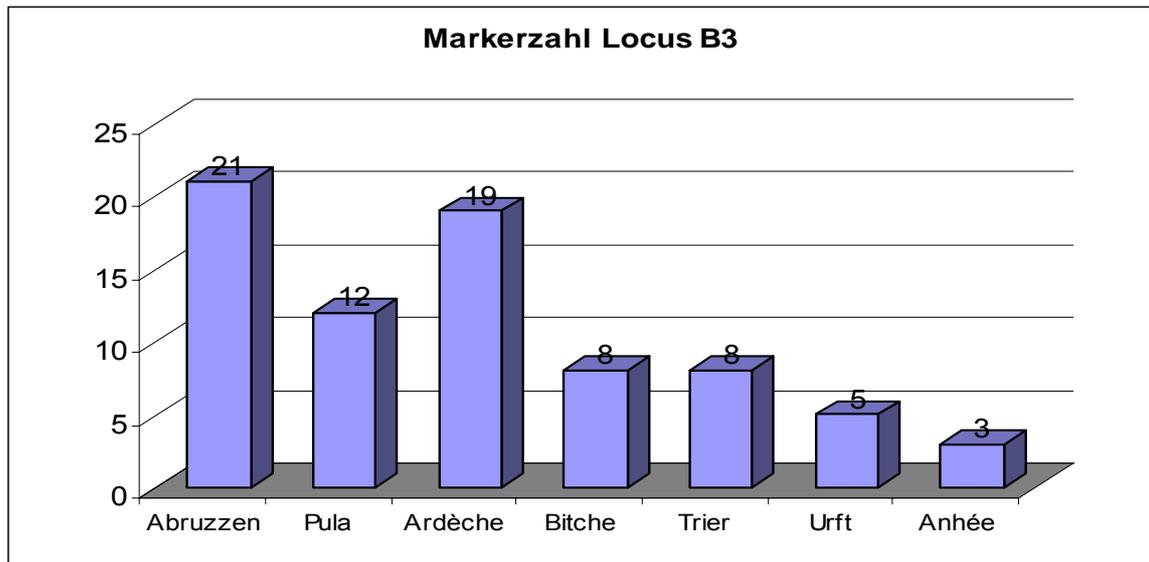


Abb. 25: Markerzahl Locus B3

Tabelle 17 Charakterisierung Locus B3 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)

Locus	Primer Sequenz (5'-3')	T _a	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
	Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	(°C)		
B3	F: HEX-CTG TCC TCT CAC AGT TCA CTC C R: AAA GAG CTA AGA AGC GAA GAC C	57	(GAA) ₃ (GA) ₁₄ (TAGA) ₃ (GA) ₁₄	177

T_a (°C): Annealing Temperatur

6.3.2 Mikrosatelliten-Primer B4

Am Mikrosatelliten-Primer B4 konnten insgesamt 13 Marker detektiert werden. In Tabelle 18 sind die Anzahl der unterschiedlichen Marker, die Allelfrequenzen, die Summe der Mikrosatelliten-Marker pro Population und die H₀-Werte (*observed Heterozygotie*) dargestellt.

Tabelle 18 Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer B4

	Σ-H ₀ =0,28	Abruzzen	Pula	Ardèche	Bitche	Trier	Urft	Belgien							
Pop.		1	2	3	4	5	6	7							
Nr	bp	n=14	n=11	n=18	n=20	n=13	n=12	n=21							
1	119	0,13	2												
2	121	0,06	1												
3	123	0,06	1												
4	125	0,06	1	0,57	8	0,19	5	0,32	10	0,47	8	0,36	5	0,91	21
5	127	0,38	6		0,04	1	0,03	1	0,24	4	0,50	7	0,09	2	
6	129	0,13	2	0,07	1	0,27	7	0,39	12	0,29	5	0,07	1		
7	131	0,13	2	0,14	2	0,12	3	0,23	7			0,07	1		
8	133			0,21	3			0,03	1						
9	135	0,06	1			0,12	3								
10	139					0,04	1								
11	141					0,08	2								
12	145					0,12	3								
13	147					0,04	1								
Σ-Allele		8	16	4	14	9	26	5	31	3	17	4	14	2	23
H ₀		0,14		0,27		0,44		0,50		0,31		0,16		0,10	

Pop. = Population, Abr. = Abruzzen, Ard. = Ardèche, Bit. = Bitche, Anh. = Anhée, n = Anzahl beprobter Tiere

Innerhalb der Population **Abruzzen** wurden **8** verschiedene Allele, insgesamt **16** Mikrosatelliten-Marker detektiert. Dies entspricht einem H₀-Wert von **0,14** (über alle 13 Allele des Primers). Innerhalb des Standortes **Pula** wurden **4** verschiedene Allele, insgesamt **14** Marker detektiert. Dies entspricht einem H₀-Wert von **0,27**. Innerhalb der Population **Ardèche** wurden **9** verschiedene Allele, insgesamt **26**

Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,44**. Innerhalb von Population **Bitche** wurden **5** verschiedene Allele, insgesamt **31** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,50** entspricht. Innerhalb von Population **Trier** wurden **3** verschiedene Allele, insgesamt **17** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,31** entspricht. Innerhalb von Population **Urft** wurden **4** verschiedene Allele, insgesamt **14** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,16** und innerhalb der Population **Anhée** wurden **2** verschiedene Allele, insgesamt **23** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,10** entspricht. In Abb. 26, sowie Karte 6 ist die Verteilung der Allele über die einzelnen Standorte grafisch dargestellt.

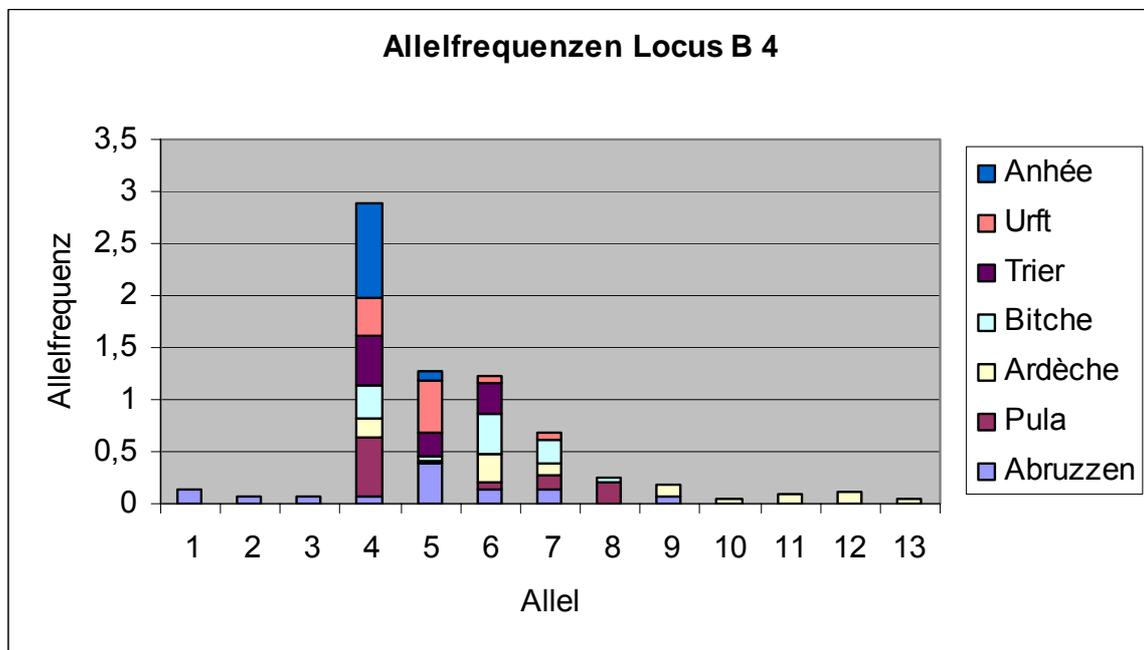
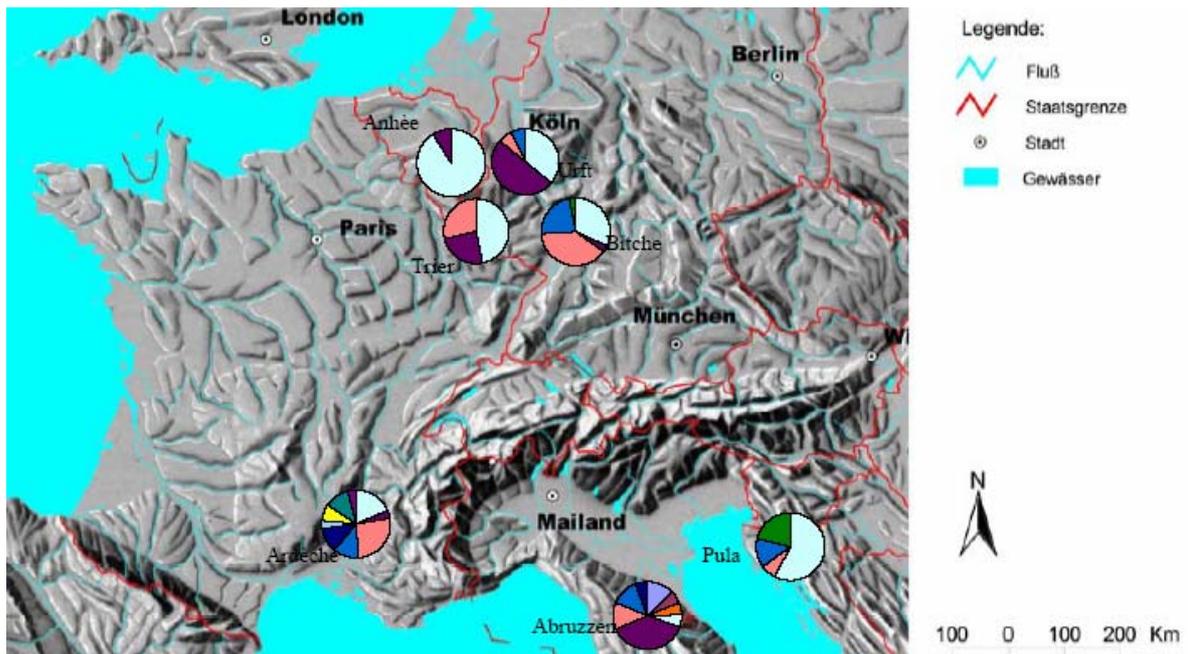


Abb. 26: Allelfrequenzen Locus B4

Es wurden Allellängen von 119 bis 147 Basenpaaren (bp) detektiert. Von NEMBRINI & OPPLIGER. (2003) wurde die Größe des geklonten Allels mit 139 bp (Tabelle 19) und eine H_0 von 0,53 angegeben. NEMBRINI & OPPLIGER (2003) ermittelten 6 verschiedene Allele bei 15 untersuchten Tieren.

Mit 13 detektierten Allelen ist die Anzahl in der vorliegenden Arbeit mehr als doppelt so groß als von NEMBRINI & OPPLIGER ermittelt. Auch bei diesem Locus sind die Populationen Abruzen und Ardèche verantwortlich für das starke Abweichen der ermittelten Werte von den angegebenen Werten. So kommen die

„kleinen“ Allellängen 119, 121 und 123 bp nur innerhalb der „Abruzzen“ vor, während die „hohen“ Allellängen 139, 141, 145 und 147 bp nur bei Tieren der Ardèche auftreten. Den höchsten H_o -Wert erreichte die Population Bitche mit 0,50. Der H_o -Wert von 0,53 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003) wurde in der vorliegenden Arbeit bei keiner Population ermittelt. Über alle Populationen hinweg wurde ein H_o -Wert von **0,28** ermittelt.



Karte 6: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus B4)

In Tabelle 18 und Abbildung 26 entspricht Allel 10 dem von NEMBRINI & OPPLIGER clonierten Allel mit 139 bp. Die Standorte „Abruzzen“ und „Ardèche“ besitzen mit den Allelen 1,2,3 (119 bp, 121 bp, 123 bp) bzw. 9,10,11,12,13 (135 bp, 139 bp, 141 bp, 145 bp, 147 bp) nur an diesen Standorten vorkommende Marker.

In Abb. 27 ist die Markerzahl über jedem einzelnen Standort dargestellt.

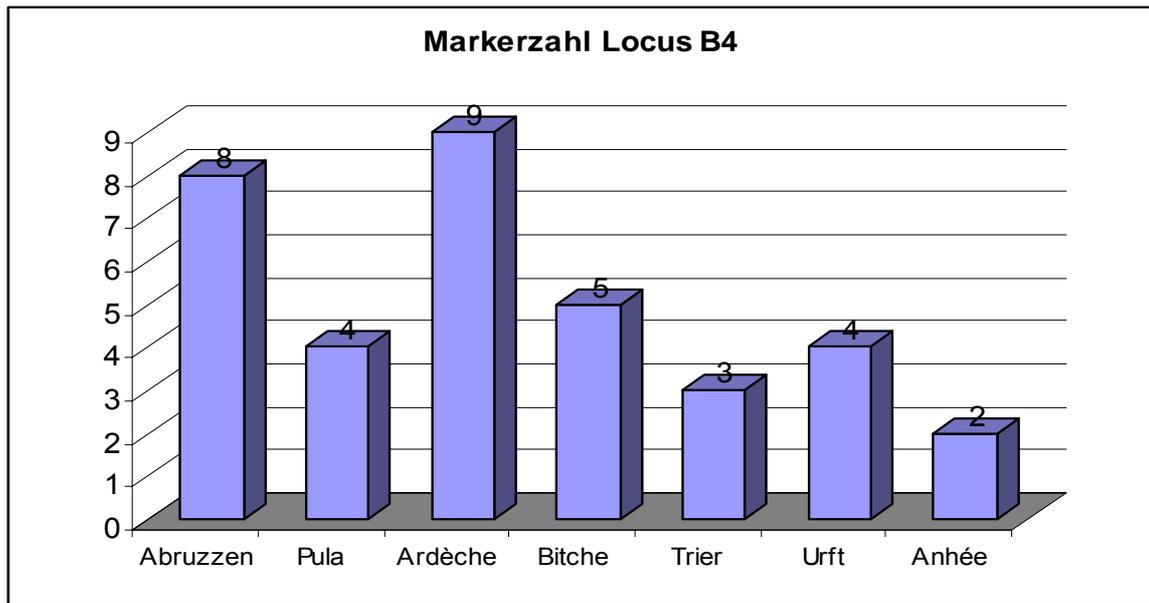


Abb. 27: Markerzahl Locus B4

Tabelle 19 Charakterisierung Locus B4 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)

Locus	Primer Sequenz (5'-3') Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	T _a (°C)	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
B4	F: HEX-AAT CTG CAA TTC TGG GAT GC R: AGA AGC AGG GGA TGC TAC AG	57	(AG) ₁₆	139

T_a (°C): Annealing Temperatur

6.3.3 Mikrosatelliten-Primer B7

Am Mikrosatelliten-Primer B7 konnten für alle Mauereidechsen insgesamt 20 Marker detektiert werden. In Tabelle 20 sind die Anzahl der unterschiedlichen Marker, die Allelfrequenzen, die Summe der Mikrosatelliten-Marker pro Population und die H_o-Werte (*observed Heterozygotie*) dargestellt.

Tabelle 20 Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer B7

	Σ -H ₀ =0,61	Abruzzen	Pula	Ardèche	Bitche	Trier	Urft	Belgien							
	Pop.	1	2	3	4	4	5	6	7						
Nr.	Bp	n=14	n=11	n=18	n=20	n=13	n=12	n=21							
1	99	0,14	3												
2	101	0,19	4												
3	107	0,10	2	0,05	1	0,29	9	0,26	9	0,16	3		0,2	7	
4	111	0,05	1	0,26	5			0,03	1						
5	113			0,21	4										
6	115	0,05	1			0,10	3	0,56	19	0,37	7	0,47	8		
7	117			0,11	2					0,11	2				
8	119					0,03	1	0,06	2	0,05	1				
9	121							0,06	2						
10	123					0,03	1					0,06	1		
11	125			0,05	1					0,05	1	0,06	1		
12	127	0,10	2			0,06	2							0,14	5
13	129	0,05	1					0,03	1			0,06	1		
14	131	0,14	3	0,05	1	0,13	4			0,05	1				
15	133			0,05	1	0,06	2			0,05	1	0,06	1	0,29	10
16	135	0,10	2			0,26	8					0,12	2		
17	137					0,03	1							0,37	12
18	139	0,05	1	0,11	2					0,11	2	0,12	2		
19	141			0,11	2					0,05	1	0,06	1		
20	165	0,05	1												
	Σ -Allele	11	21	9	19	9	31	6	34	9	19	8	17	4	34
	H ₀	0,5		0,82		0,72		0,62		0,46		0,42		0,71	

Pop. = Population, Abr. = Abruzzen, Ard. = Ardèche, Bit. = Bitche, Anh. = Anhée, n = Anzahl beprobter Tiere

Innerhalb des Standortes **Abruzzen** wurden **11** verschiedene Allele, insgesamt **21** Mikrosatelliten-Marker detektiert. Dies entspricht einem H₀-Wert von **0,50** (über alle 20 Allele des Primers). Innerhalb der Population **Pula** wurden **9** verschiedene Allele, insgesamt **19** Marker detektiert. Dies entspricht einem H₀-Wert von **0,82**. Innerhalb der Population **Ardèche** wurden **9** verschiedene Allele, insgesamt **34** Marker detektiert. Dies entspricht einem H₀-Wert von **0,72**. Innerhalb von Population **Bitche** wurden **6** verschiedene Allele, insgesamt **34** Marker detektiert, was einem H₀-Wert von **0,62** entspricht. Innerhalb von Population **Trier** wurden **9** verschiedene Allele, insgesamt **19** Marker detektiert, was einem H₀-Wert von **0,46** entspricht. Innerhalb von Population **Urft** wurden **8** verschiedene Allele, insgesamt **17** Marker detektiert. Dies entspricht einem H₀-Wert von **0,42** und innerhalb der Population **Anhée** wurden **4** verschiedene Allele, insgesamt **34** Marker detektiert, was einem H₀-Wert von **0,71** entspricht. In Abbildung 28, sowie Karte 7 ist die Verteilung der Allele über die einzelnen Standorte grafisch dargestellt.

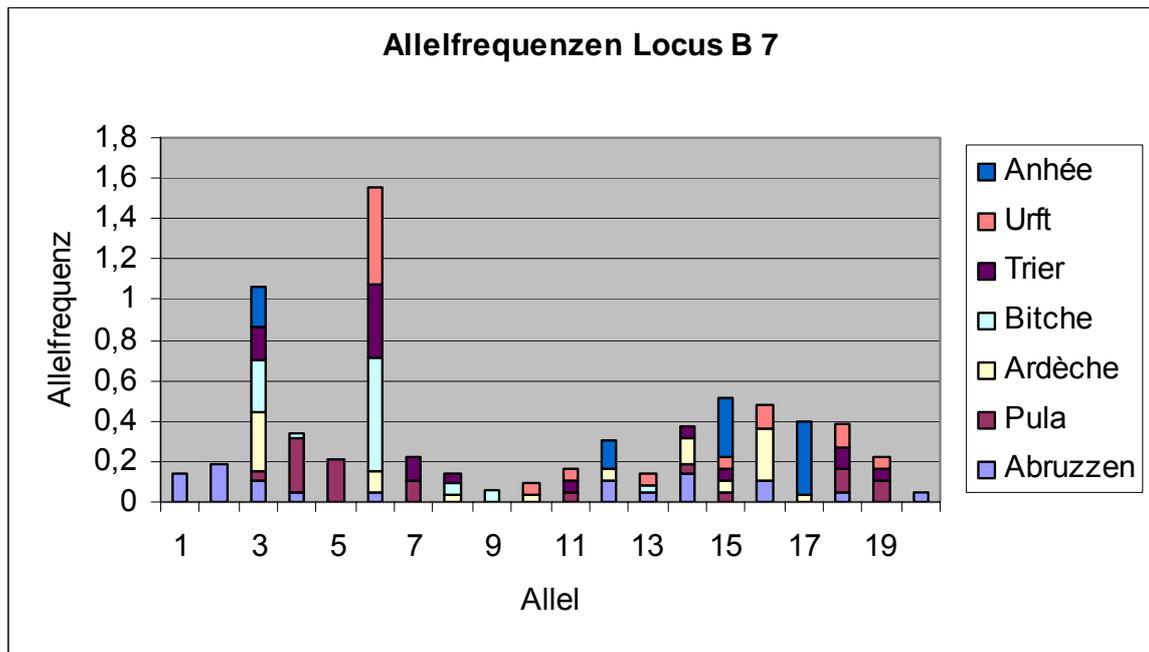


Abb. 28: Allelfrequenzen Locus B7

Es wurden Allellängen von 99 bis 165 Basenpaaren (bp) detektiert. Von NEMBRINI & OPPLIGER. (2003) wurde die Größe des geklonten Alleles mit 129 Basenpaaren (Tabelle 21) und eine H_0 von 0,80 angegeben. Es wurden von ihnen 4 verschiedene Allele bei 5 Tieren ermittelt.

Mit in der vorliegenden Arbeit ermittelten 20 Allelen ist der Wert fünfmal so groß als von NEMBRINI & OPPLIGER angegeben. Lediglich die Population Anhée verfügt über nur 4 verschiedene Allele. Den höchsten H_0 -Wert erreichte die Population Pula mit 0,82.

Über alle Populationen hinweg wurde ein H_0 -Wert von **0,61** ermittelt.

Allel 13 entspricht dem von NEMBRINI & OPPLIGER geklonten Allel mit 129 bp. Das am häufigsten detektierte Allel (Marker 6) hat eine Länge von 115 bp. In Abb. 29 ist die Markerzahl an den einzelnen Standort dargestellt.

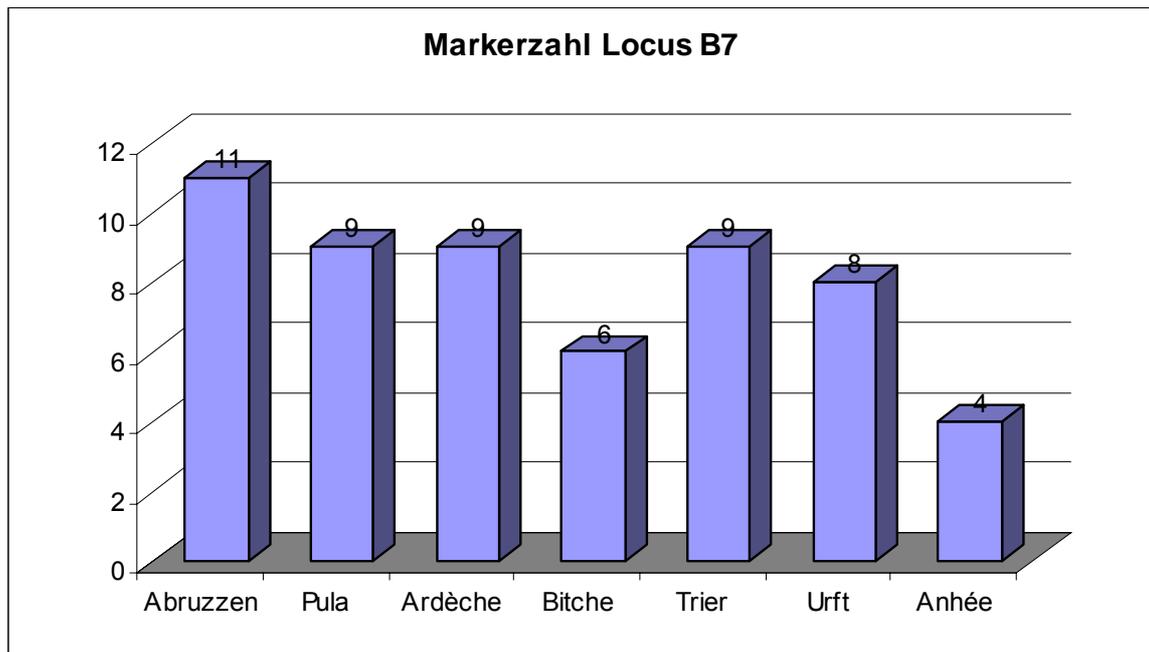
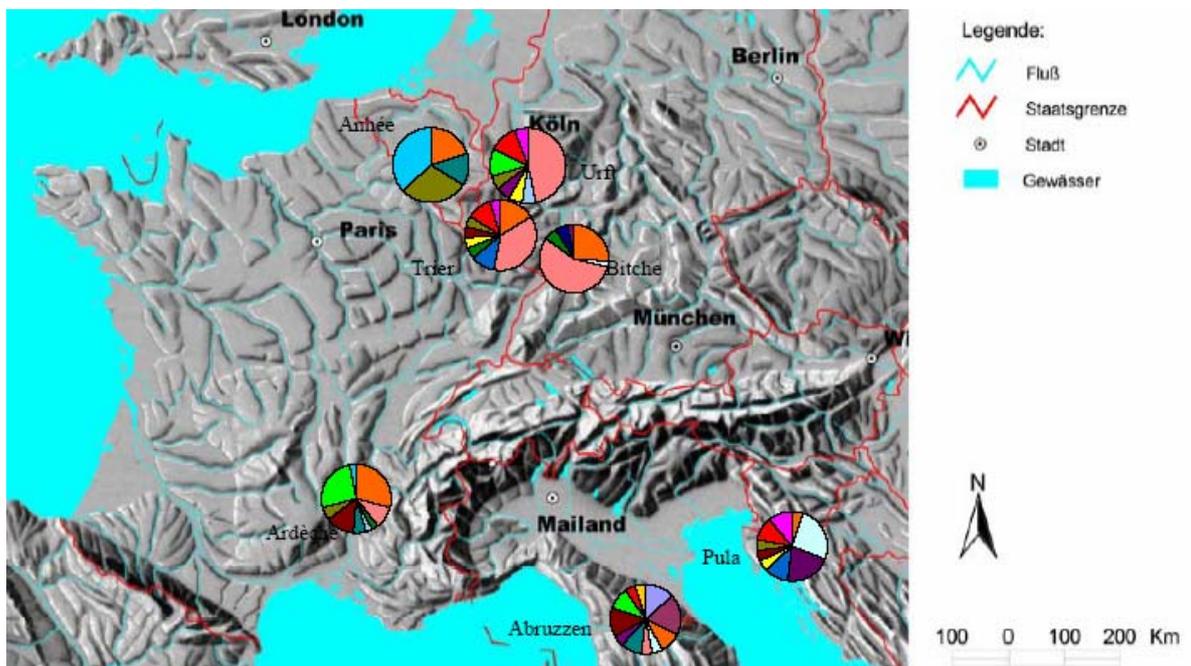


Abb. 29: Markerzahl Locus B7



Karte 7: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus B7)

Tabelle 21 Charakterisierung Locus B7 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)

Locus	Primer Sequenz (5'-3') Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	T _a (°C)	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
B7	F: FAM-GGG GAA AGC TAC TGG CTA CAC R: AGT CCA GGT GAA TTT GCA GAG	60	(AG) ₁₉	129

T_a (°C): Annealing Temperatur

6.3.4 Mikrosatelliten-Primer C9

Am Mikrosatelliten-Primer C9 konnten insgesamt 19 verschiedene Marker detektiert werden. In Tabelle 22 sind die Anzahl der unterschiedlichen Marker, die Allelfrequenzen, die Summe der Mikrosatelliten-Marker pro Population und die H₀-Werte (*observed Heterozygotie*) für den Locus C9 dargestellt.

Tabelle 22 Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer C9

Σ-H ₀ =0,51	Abruzzen	Pula	Ardèche	Bitche	Trier	Urft	Belgien							
Pop.	1	2	3	4	5	6	7							
Nr. bp	N=14	n=11	n=18	n=20	n=13	n=12	n=21							
1 130	0,45	10	0,63	10	0,03	1		0,05	1					
2 133						0,05	1							
3 145	0,05	1		0,03	1									
4 148	0,05	1												
5 149				0,13	4									
6 151	0,05	1		0,03	1									
7 152						0,05	1	0,05	1					
8 154	0,09	2	0,06	1	0,45	13								
9 155					0,47	15	0,55	12	0,42	8	0,92	23		
10 157	0,05	1												
11 160	0,09	2		0,21	6									
12 161					0,38	12	0,36	8	0,47	9	0,08	2		
13 164					0,03	1								
14 166	0,09	2	0,06	1	0,17	5								
15 169			0,06	1										
16 172	0,05	1												
17 175	0,05	1	0,13	2										
18 178				0,03	1									
19 181			0,06	1	0,03	1								
Σ-Allele	10	22	6	16	8	29	4	32	4	22	4	19	2	25
H ₀	0,57		0,45		0,61		0,6		0,69		0,58		0,1	

Pop. = Population, Abr. = Abruzzen, Ard. = Ardèche, Bit. = Bitche, Anh. = Anhée, n = Anzahl beprobter Tiere

Innerhalb der Population **Abruzzen** wurden **10** verschiedene Allele, insgesamt **22** Mikrosatelliten-Marker detektiert. Dies entspricht einem H₀-Wert von **0,57** (über

alle 27 Allele des Primers). Innerhalb von Population **Pula** wurden **6** verschiedene Allele, insgesamt **16** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,45** entspricht. Innerhalb des Standortes **Ardèche** wurden **8** verschiedene Allele, insgesamt **29** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,61**. Innerhalb von Population **Bitche** wurden **4** verschiedene Allele, insgesamt **32** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,60** entspricht. Innerhalb der Population **Trier** wurden **4** verschiedene Allele, insgesamt **22** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,69** entspricht. Innerhalb von Population **Urft** wurden **4** verschiedene Allele, insgesamt **19** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,58** und innerhalb de Standortes **Anhée** wurden **2** verschiedene Allele, insgesamt **25** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,10** entspricht. Der geringe Heterozygotie-Grad der Population **Anhée** wird dadurch verursacht, dass nur zwei der einundzwanzig Tiere heterozygote Allele besitzen. In Karte 8, sowie Abb. 30 ist die Verteilung der Allele über die einzelnen Standorte grafisch dargestellt.

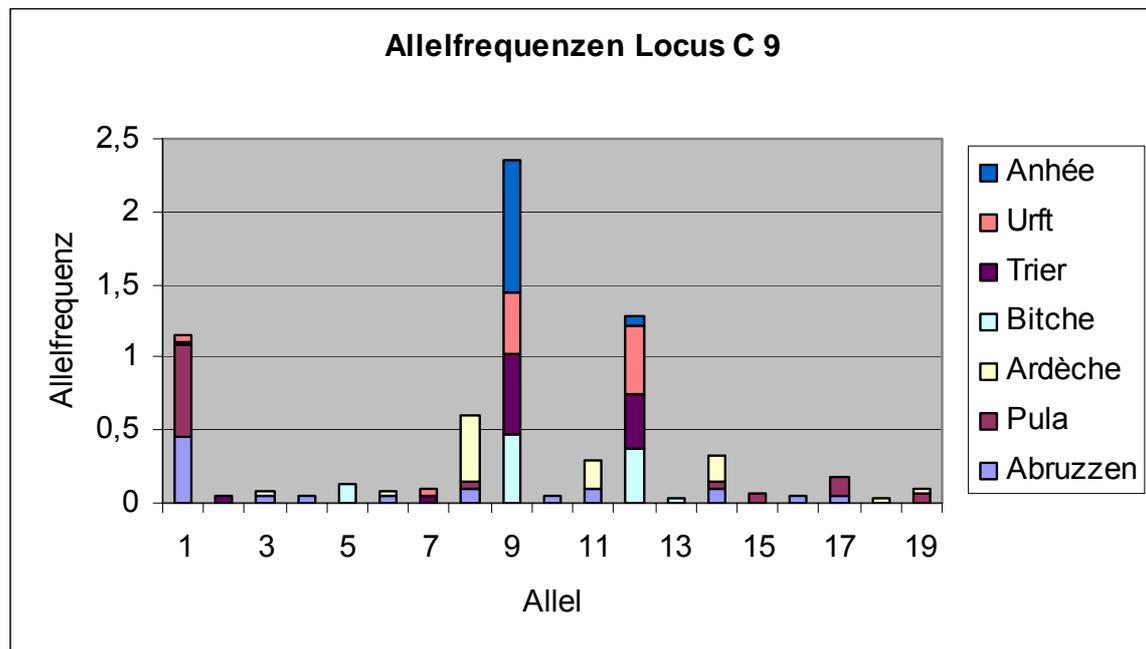


Abb. 30: Allelfrequenzen Locus C9

Es wurden Allellängen von 130 bis 181 Basenpaaren (bp) detektiert. Von NEMBRINI & OPPLIGER. (2003) wurde die Größe des geklonten Alleles mit 130 Basenpaaren und eine H_0 von 0,50 angegeben. Es wurden von ihnen 4 verschiedene Allele bei 14 Tieren detektiert.

Mit 19 ermittelten verschiedenen Allelen weicht der Wert in der vorliegenden Arbeit erheblich von dem von NEMBRINI & OPPLIGER angegebenen Wert ab. Den höchsten H_o -Wert erreicht die Population Trier mit 0,69. Über alle Populationen hinweg wurde ein H_o -Wert von **0,50** ermittelt.

In Tabelle 22 und Abbildung 30 entspricht Marker 1 dem geklonten Allel mit 130 bp. Marker 1 wird in der vorliegenden Arbeit bei Tieren aus den Abruzzern, Pula, Ardèche und Urft detektiert. Die größte Streuung der Allele ist bei den Standorten Abruzzern, Pula und Ardèche zu beobachten, die anderen Standorte „streuen“ geringer. Bei Tieren aus Belgien konnten nur zwei Allele detektiert werden. Wie in Tabelle 22 ersichtlich wurden Allele mit nur einem Basenpaar Unterschied detektiert (145 bp und 155 bp). Tiere bei denen das Allel 154 bp detektiert, kommen nur in den südlichen Populationen Abruzzern, Pula und Ardèche vor, 155 bp kommt nur in den nördlichen Populationen Bitche, Trier, Urft und Belgien vor.

In Abb. 31 ist die Markerzahl an jedem Standort dargestellt-

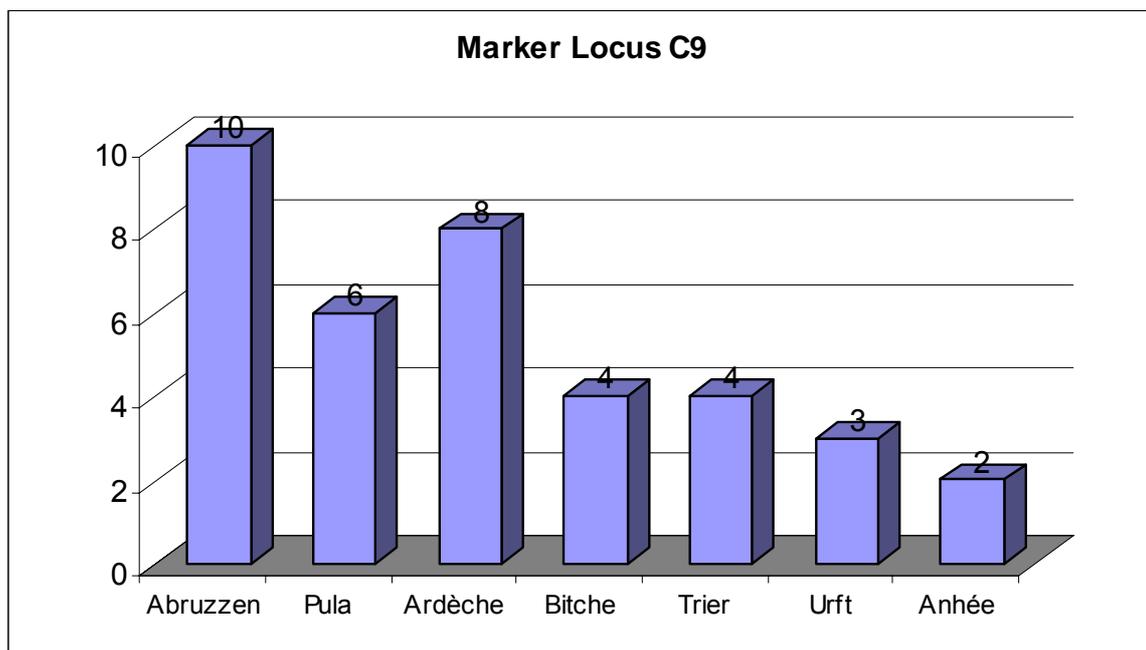
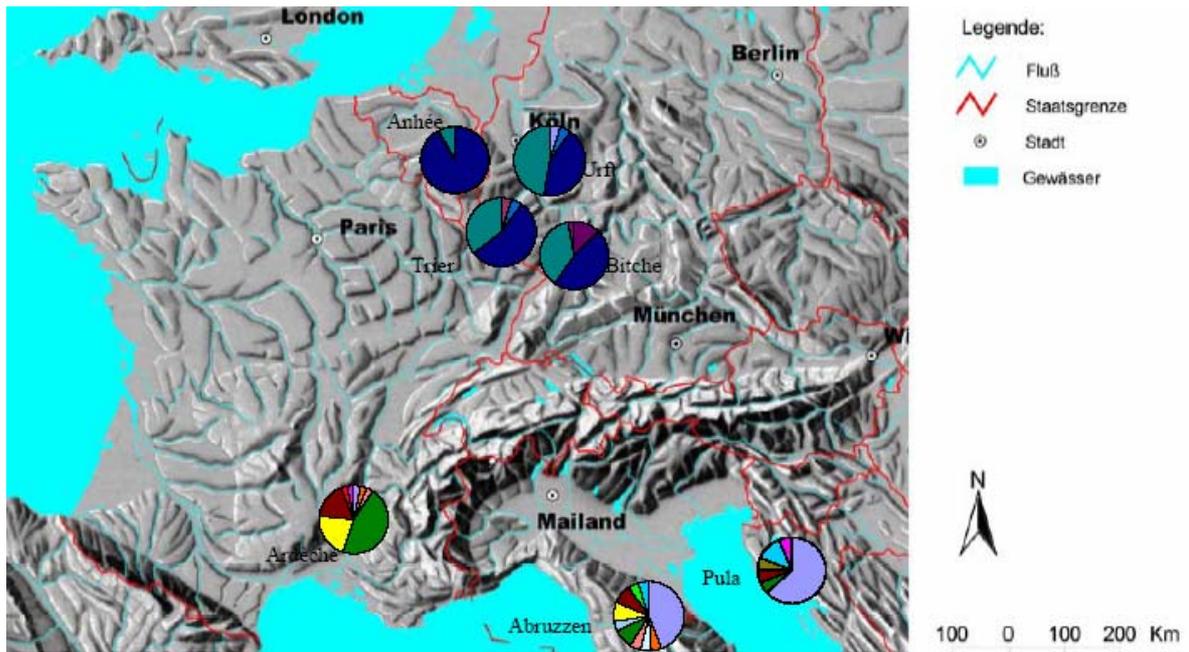


Abb. 31: Markerzahl Locus C9



Karte 8: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus C9)

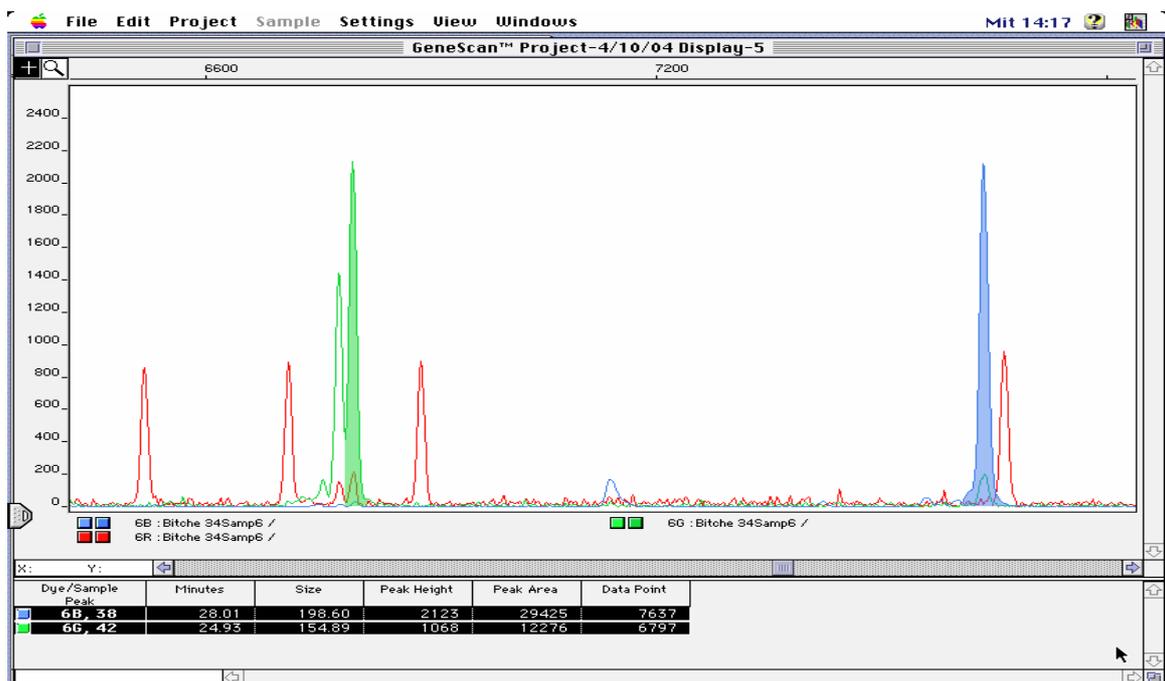


Abb. 32: Homozygoter Mikrosatellit, Multiplex PCR, Locus C9 (grün) und Locus C24 (blau), C9 bei 155 bp, Probe Bitche 34

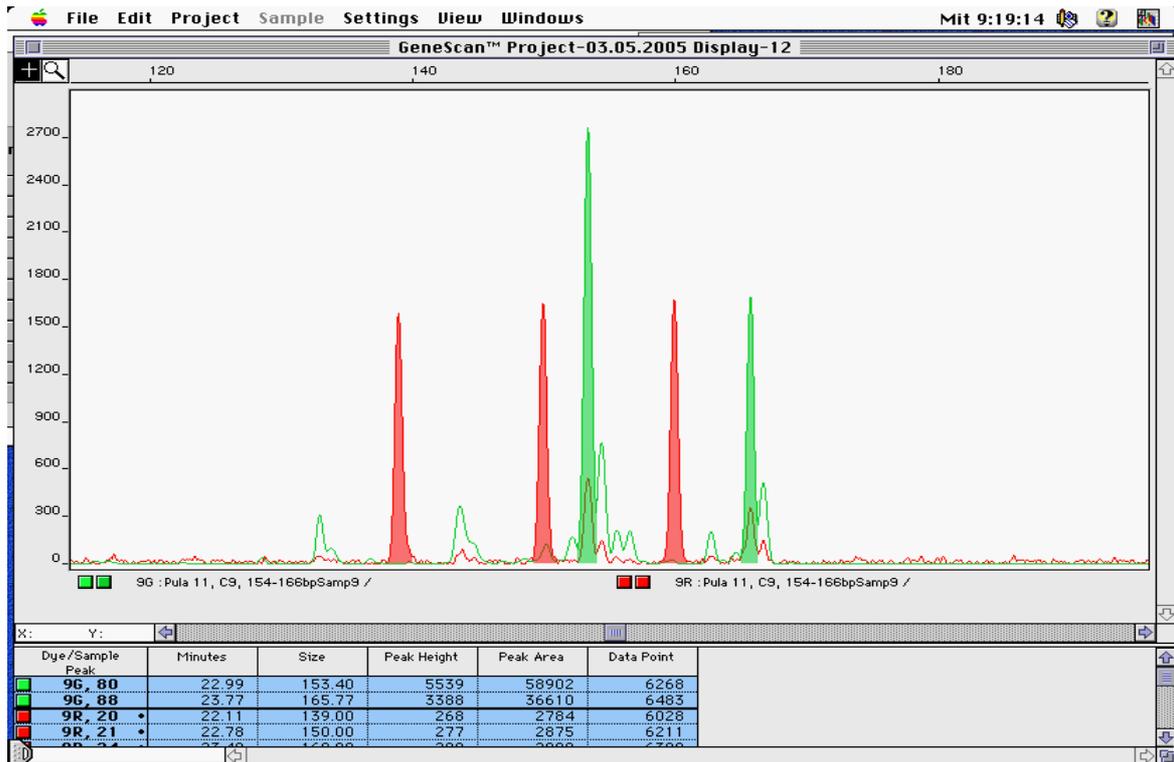


Abb. 33: Heterozygoter Mikrosatellit, Locus C9, Probe Pula 11 (154 bp, 166 bp)

Tabelle 23 Charakterisierung Locus C9 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)

Locus	Primer Sequenz (5'-3') Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	T _a (°C)	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
C9	F: HEX-CAT TGC TGG TTC TGG AGA AAG R: CCT GAT GAA GGG AAG TGG TG	57	(CAA) ₇ CCA (CAA) ₃	130

T_a (°C): Annealing Temperatur

6.3.5 Mikrosatelliten-Primer C24

Am Mikrosatelliten-Primer C24 konnten insgesamt 14 Marker detektiert werden. In Tabelle 24 sind die Anzahl der unterschiedlichen Marker, die Allelfrequenzen, die Summe der Mikrosatelliten-Marker pro Population, sowie die H_o-Werte (*observed Heterozygotie*) dargestellt.

Tabelle 24 Ergebnisse Mikrosatelliten-Primer C24

$\Sigma-H_0=0,50$		Abruzzen	Pula	Ardèche	Bitche	Trier	Urft	Belgien							
	Pop.	1	2	3	4	5	6	7							
Nr.	bp	n=14	n=11	n=18	n=20	n=13	n=12	n=21							
1	171	0,05	1												
2	190			0,31	9	0,1	2	0,14							
3	191	0,05	1	0,07	1										
4	192							0,06							
5	193	0,05	1	0,24	7		0,05	1							
6	194	0,11	2	0,03	1										
7	196	0,21	4	0,57	8	0,07	2	0,35							
8	198	0,11	2	0,07	1	0,62	18								
9	201	0,05	1	0,07	1			0,11							
10	204	0,26	5		0,34	10	0,21	6							
11	207		0,21	3		0,1	3								
12	208							0,03							
13	210					0,07	2	0,29							
14	298	0,11	2												
Σ -Allele		9	19	5	14	5	29	4	29	3	20	4	19	6	35
H_0		0,36	0,27	0,61	0,1	0,54	0,58	0,67							

Pop. = Population, Abr. = Abruzzen, Ard. = Ardèche, Bit. = Bitche, Anh. = Anhée, n = Anzahl beprobter Tiere

Innerhalb der Population **Abruzzen** wurden **9** verschiedene Allele, insgesamt **19** Mikrosatelliten-Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,36** (über alle 14 Allele des Primers). Innerhalb von Population **Pula** wurden **5** verschiedene Allele, insgesamt **14** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,27**. Innerhalb der Population **Ardèche** wurden **5** verschiedene Allele, insgesamt **29** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,61**. Innerhalb von Population **Bitche** wurden **4** verschiedene Allele, insgesamt **29** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,10** entspricht. Innerhalb von Population **Trier** wurden **3** verschiedene Allele, insgesamt **20** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,54** entspricht. Innerhalb von Population **Urft** wurden **4** verschiedene Allele, insgesamt **19** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,58** und innerhalb der Population **Anhée** wurden **6** verschiedene Allele, insgesamt **35** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,67** entspricht. In Abbildung 34 sowie Karte 9 ist die Verteilung der Allele über die einzelnen Standorte grafisch dargestellt.

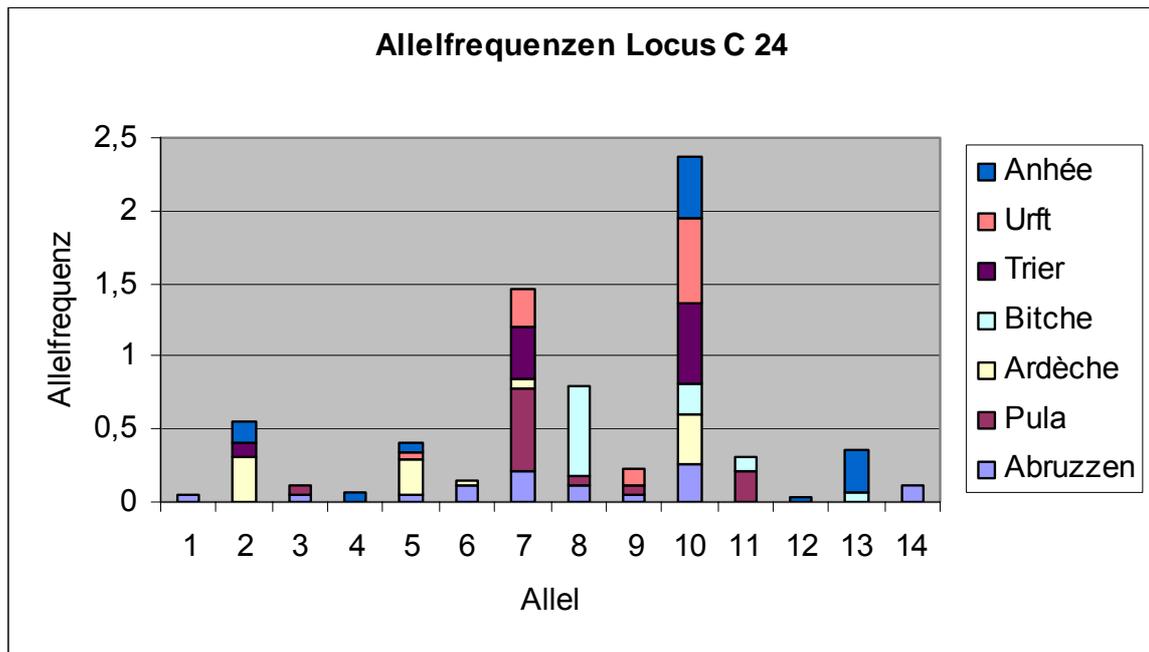
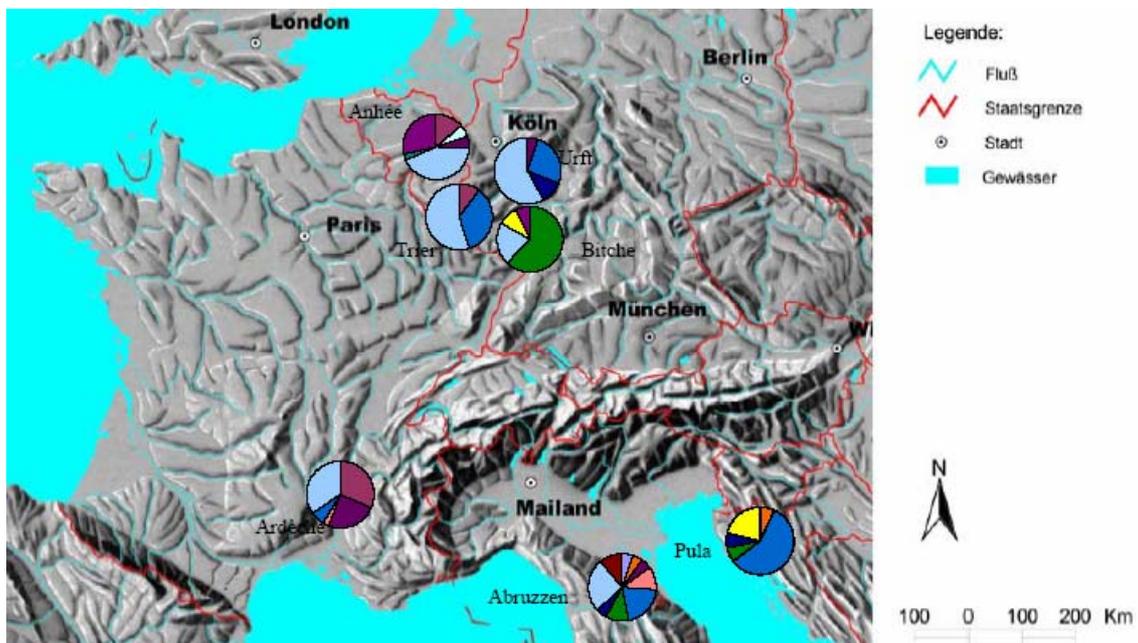


Abb. 34: Allelfrequenzen Locus C24

Es wurden Allellängen von 171 bis 298 Basenpaaren (bp) detektiert. Von NEMBRINI & OPPLIGER. (2003) wurde die Größe des geklonten Allels mit 205 Basenpaaren, 4 verschiedene Allele bei 13 Tieren und eine H_0 von 0,61 angegeben.



Karte 9: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus C24)

Mit 14 verschiedenen Allelen wurden mehr als dreimal so viele Allele detektiert als von NEMBRINI & OPPLIGER angegeben. Über alle Populationen hinweg wurde ein H_o -Wert von **0,51** ermittelt.

In Tabelle 24 und Abbildung 34 entspricht Marker 10 dem von NEMBRINI & OPPLIGER geklonten Allel mit 204 bp. Dieses Allel wurde in der vorliegenden Untersuchung am Häufigsten detektiert. Auffällig ist, dass zwischen Marker 13 (210 bp) und 14 (298 bp) 88 Basenpaare Längendifferenz liegen. Die restlichen Allellängen liegen zwischen 190 bp und 210 bp. Allel 14 (298 bp) wurde nur bei Tieren aus den Abruzzen detektiert.

In Abb. 35 ist die Markerzahl an jedem Standort aufgetragen.

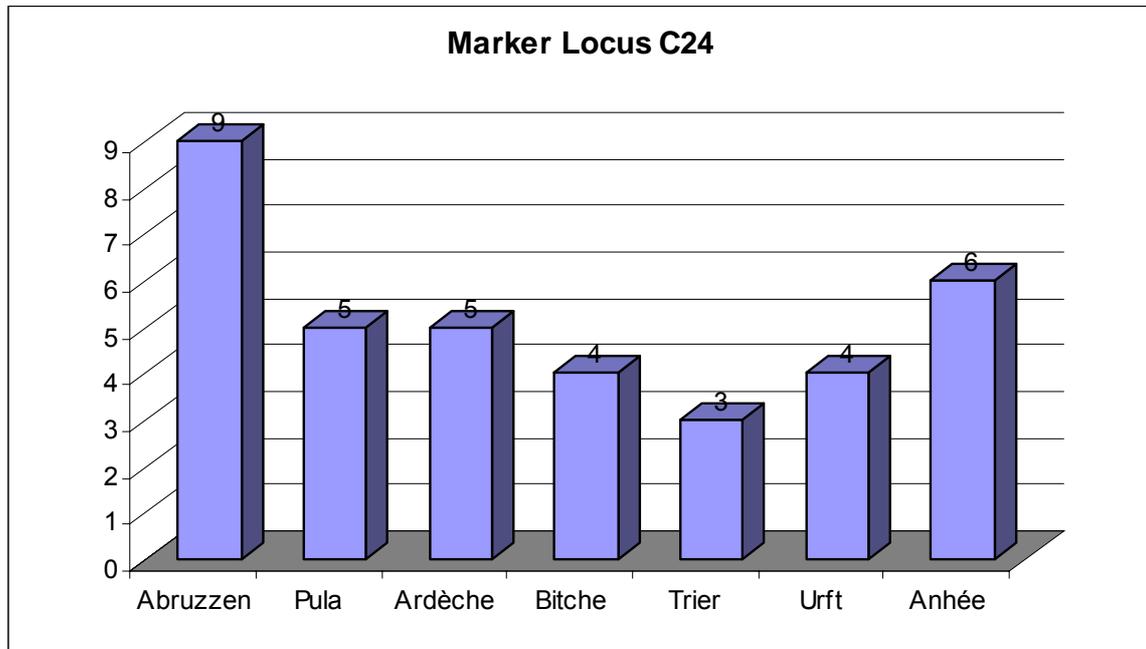


Abb. 35: Markerzahl Locus C24

Tabelle 25 Charakterisierung Locus C24 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)

Locus	Primer Sequenz (5'-3') Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	T _a (°C)	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
C24	F: FAM-AGA GTG GCT GGG GGA AAC R: GTA AGT AAA CGG GCG GCT TG	60	(TAAA) ₃ (CAA) ₁₀ (AAT) ₃	205

T_a (°C): Annealing Temperatur

6.3.6 Mikrosatelliten-Primer A7

Bei Locus A7 stellte sich eine starke Abweichung der amplifizierten Marker von denen durch NEMBRINI & OPPLIGER (2003) angegebenen Werten heraus. Neben der erwarteten Marker bei 182 bp Länge (Tabelle 27) amplifizierten hauptsächlich Proben aus den Abruzzen und Pula (außerdem eine aus der Provence) bei ca. 400 bp Länge. Die PCR wurde daraufhin mehrfach überprüft und die Annealing Temperatur bis 63°C erhöht. Die Amplifikation der Marker bei ca. 400 bp erwies sich als gut reproduzierbar, eine Fehlampifikation eines Nebenproduktes konnte ausgeschlossen werden. In Abb. 36 sind die Bandenmuster einiger Tiere mit amplifizierten Allellängen von etwa 200 bp und 400 bp auf einem Agarose-Gel dargestellt. Die Banden konnten mittels der Kapillarelektrophorese mit dem ABI PRISM™ 310 bestätigt werden.



Abb. 36: Gelelektrophorese Locus A7, homozygote und heterozygote Proben mit etwa 200 bp und 400 bp Länge

Am Mikrosatelliten-Primer A7 konnten für alle Mauereidechsen insgesamt 22 Marker detektiert werden. In Tabelle 26 sind die Anzahl der unterschiedlichen Marker, die Allelfrequenzen, die Summe der Mikrosatelliten-Marker pro Population und die H_0 -Werte (*observed Heterozygotie*) dargestellt.

Tabelle 26 Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer A7

$\Sigma-H_0=0,63$	Abruzzen		Pula		Ardèche		Bitche		Trier		Urft		Belgien		
Pop.	1		2		3		4		5		6		7		
Nr. bp	n=14		n=11		n=18		n=20		n=13		n=12		n=21		
1	168	0,04	1												
2	170				0,06	2									
3	174	0,04	1		0,06	2									
4	176	0,08	2												
5	178	0,04	1												
6	184				0,06	2	0,08	3	0,05	1			0,07	2	
7	186	0,04	1		0,03	1					0,21	4			
8	188	0,08	2	0,07	1	0,41	13	0,21	8	0,41	9	0,58	11	0,71	20
9	190	0,04	1			0,06	2	0,26	10	0,14	3				
10	192				0,09	3	0,18	7	0,18	4					
11	194			0,07	1	0,16	5	0,21	8	0,14	3	0,16	3	0,21	6
12	196						0,05	2							
13	198				0,03	1			0,09	2	0,05	1			
14	390	0,04	1												
15	392	0,13	3												
16	394	0,08	2	0,07	1										
17	398	0,13	3			0,03	1								
18	400	0,13	3	0,53	8										
19	402			0,07	1										
20	404			0,13	2										
21	406	0,08	2	0,07	1										
22	410	0,04	1												
Σ -Allele	14		24	7	15	10	32	6	38	6	22	4	19	3	28
H_0	0,71		0,36		0,78		0,9		0,69		0,58		0,33		

Pop. = Population, Abr. = Abruzzen, Ard. = Ardèche, Bit. = Bitche, Anh. = Anhée, n = Anzahl beprobter Tiere

Innerhalb der Population **Abruzzen** wurden **14** verschiedene Allele, insgesamt **24** Mikrosatelliten-Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,71** (über alle 22 Allele des Primers). Innerhalb von Population **Pula** wurden **7** verschiedene Allele, insgesamt **15** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,36**. Innerhalb der Population **Ardèche** wurden **10** verschiedene Allele, insgesamt **32** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,78**. Innerhalb von Population **Bitche** wurden **6** verschiedene Allele, insgesamt **38** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,90** entspricht. Innerhalb von Population **Trier** wurden **6** verschiedene Allele, insgesamt **22** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,69**

entspricht. Innerhalb von Population **Urft** wurden **4** verschiedene Allele, insgesamt **19** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_o -Wert von **0,58** und innerhalb der Population **Anhée** wurden **3** verschiedene Allele, insgesamt **28** Marker detektiert, was einem H_o -Wert von **0,33** entspricht. In Abbildung 37 sowie Karte 10 ist die Verteilung der Allele über die einzelnen Standorte grafisch dargestellt.

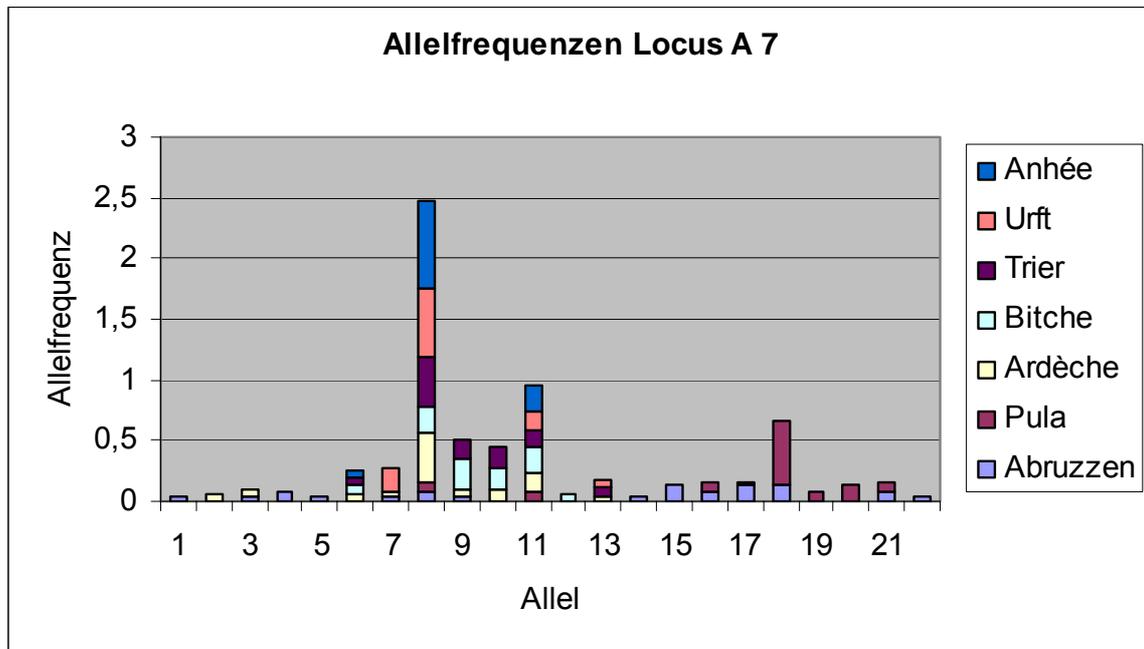
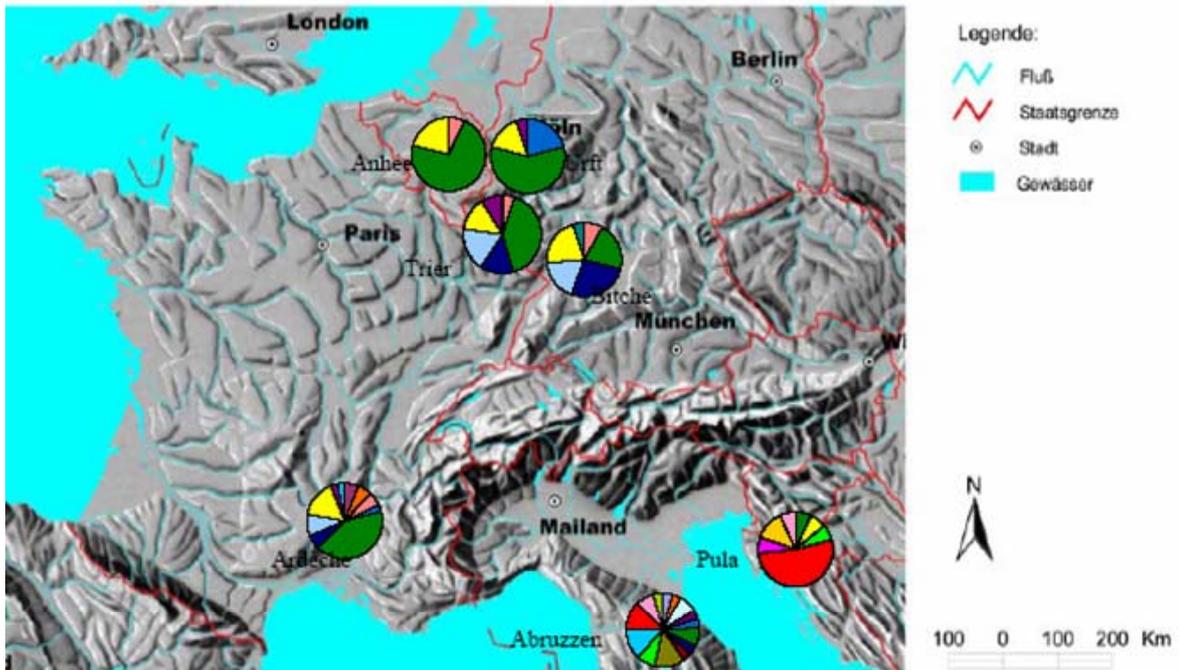


Abb. 37: Allelfrequenzen Locus A7

Es wurden Mikrosatelliten-Längen von 168 bis 410 Basenpaaren (bp) Länge detektiert. Von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) wurde die Größe des geklonten Allels mit einer Länge von 182 Basenpaaren, 7 verschiedene Allele bei 14 untersuchten Tieren, sowie eine H_o von 0,714 für den Locus A7 angegeben. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten H_o -Werte liegen zwischen 0,3 und 0,9. Den höchsten H_o -Wert erreicht die Population Bitche. Mit 22 verschiedenen Allelen liegt die Allelzahl mehr als doppelt so hoch als von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) angegeben. Über alle Populationen hinweg wurde ein H_o -Wert von **0,63** ermittelt.

In Tabelle 26 und Abbildung 37 entspricht kein Allel der Länge 182 bp. Marker 6 (184 bp) liegt nahe an der von NEMBRINI & OPPLIGER angegebenen Länge des geklonten Allels. Es wurden Allele mit zwei oder dem vielfachen von zwei Basenpaaren Unterschied detektiert. Von Tieren der nördlichen Populationen wurden Allele von 184 bp bis 198 bp detektiert. Nur bei Tieren der südlichen

Populationen Abruzzan und Pula (außerdem bei einem Tier aus der Ardèche) konnten die Marker 14 bis 22 (390 bp – 410 bp) nachgewiesen werden. Diese Allele sind etwa doppelt so groß als die nächst kleineren Allele.



Karte 10: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus A7)

In Abb. 38 ist die Markerzahl an jedem Standort abgebildet.

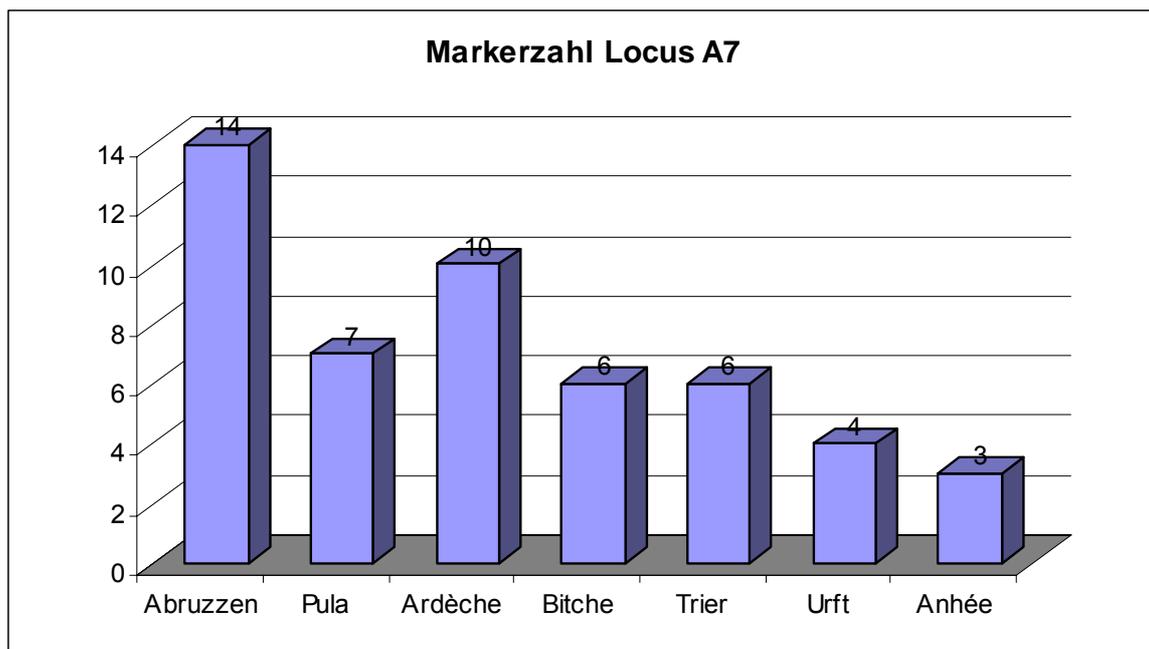


Abb. 38: Markerzahl Locus A7

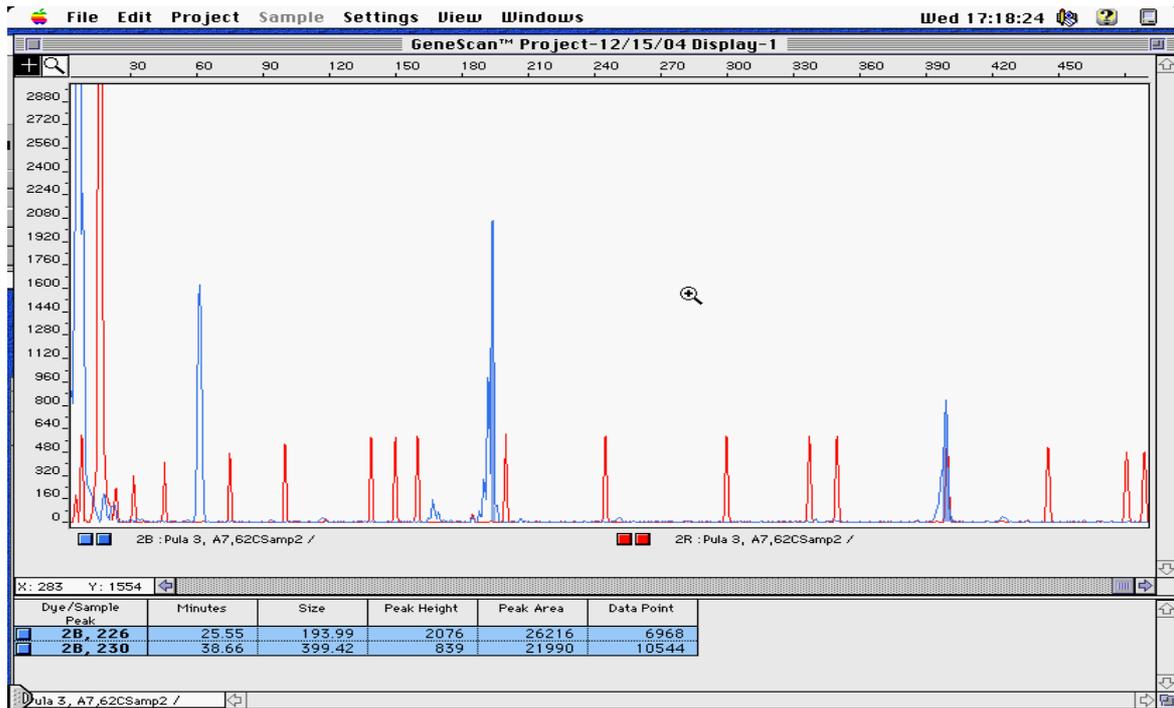


Abb. 39: Heterozygoter Mikrosatellit, Locus A7, 194 u. 400 bp, Probe Pula 3

In Abb. 39 ist ein heterozygoter Mikrosatellit mit Allellängen von 194 und 400 bp abgebildet. Deutlich sind die großen Höhenunterschiede der beiden Peaks sichtbar. Der Peak bei 194 bp ist etwa doppelt so hoch als der Peak bei 400 bp.

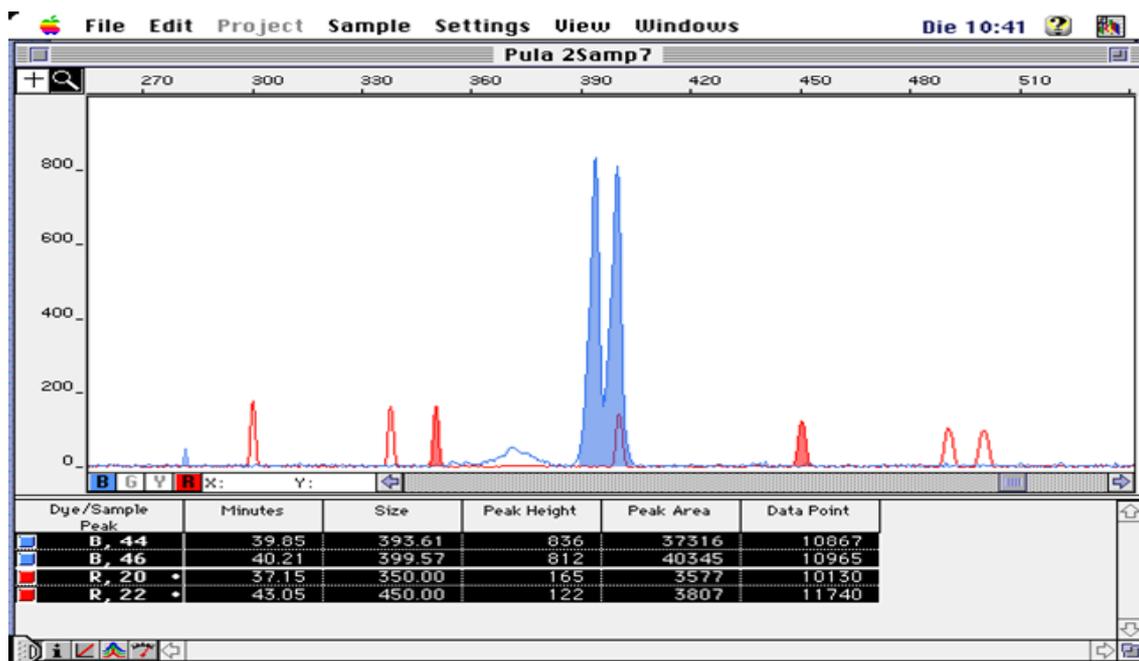


Abb. 40: Heterozygoter Mikrosatellit, Locus A7, 394 u. 400 bp, Probe Pula 2

In Abb. 40 ist ein heterozygoter Mikrosatellit (Locus A7, Probe Pula 2) mit Allellängen von 394 und 400 bp abgebildet. Deutlich sichtbar sind, im Gegensatz zur Probe Pula 3 (Abb. 39), die gleich hohen Peaks des heterozygoten Mikrosatelliten-Locus. Der Längenunterschied zwischen beiden Peaks in Abb. 40 beträgt 6 bp. In Abb. 41 ist ein heterozygoter Mikrosatelliten Locus A7 mit Allellängen von 186 und 198 bp dargestellt. Die Höhenunterschiede der amplifizierten Peaks sind geringer ausgeprägt als in Abb. 39, aber deutlicher als in Abb. 40. Durch das „sägezahnartige“ Ansteigen der beiden Peaks ist eine Identifizierung als heterozygoter Mikrosatelliten-Locus eindeutig möglich.

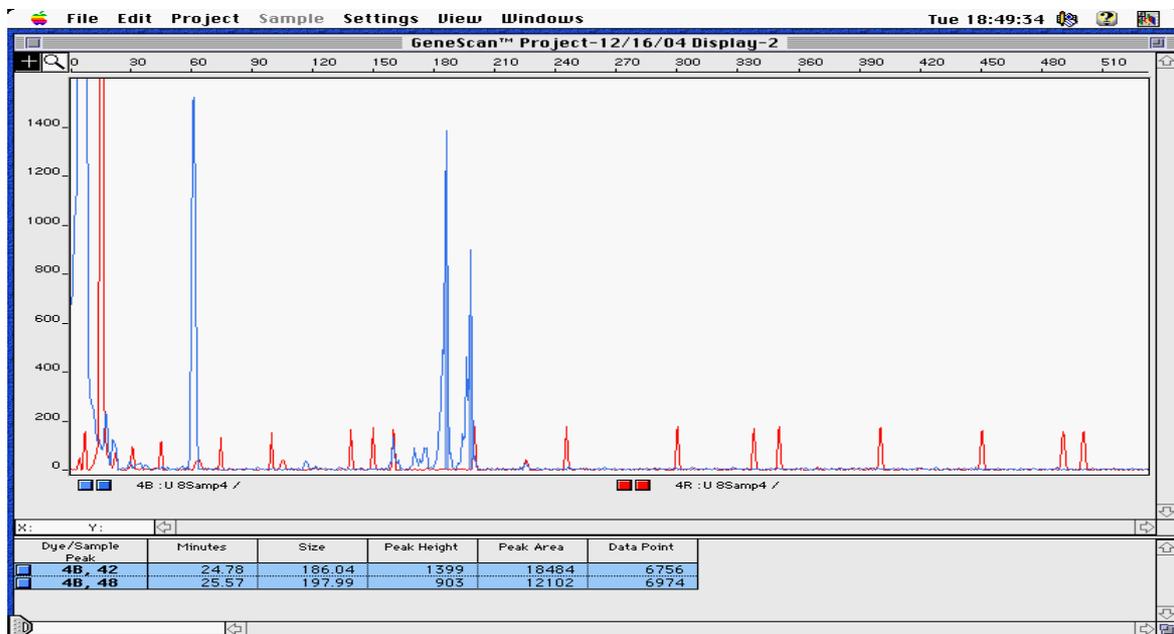


Abb. 41: Heterozygoter Mikrosatellit, Locus A7, 186 u. 198 bp, Probe Urft 8

Tabelle 27 Charakterisierung Locus A7 (NEMBRINI & OPPLIGER 2003)

Locus	Primer Sequenz (5'-3')	T _a	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
	Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	(°C)		
A7	F: FAM-TGC TTA TGG GTG ATG ACT GG R: AGA ATT GCA GAG GTG GAA GG	61	(GT) ₁₈	182

T_a (°C): Annealing Temperatur

6.3.7 Mikrosatelliten-Primer Lv 4-alpha

Mit dem Mikrosatelliten-Primer Lv 4-alpha konnten insgesamt 16 Marker detektiert werden. In Tabelle 28 sind die Anzahl der unterschiedlichen Marker, die Allelfrequenzen, die Summe der Mikrosatelliten-Marker pro Population und die H_0 -Werte (*observed Heterozygotie*) dargestellt.

Tabelle 28 Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer Lv 4-alpha

$\Sigma H_0=0,71$	Abruzzen		Pula		Ardèche		Bitche		Trier		Urft		Belgien		
Pop	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	
Nr.	bp	n=14	n=11		n=18		n=20		n=13		n=12		n=21		
1	98	0,04	1		0,03	1									
2	102	0,09	2												
3	106		0,11	2											
4	108	0,04	1				0,11	4							
5	110	0,17	4	0,16	3	0,06	2								
6	112	0,09	2	0,05	1	0,10	3		0,06	1	0,14	3			
7	114	0,04	1	0,26	5	0,06	2	0,03	1		0,29	6			
8	116	0,04	1	0,16	3	0,23	7	0,23	8	0,31	5	0,05	1		
9	118	0,13	3	0,16	3	0,13	4	0,23	8	0,31	5	0,19	4	0,61	19
10	120	0,04	1	0,05	1	0,06	2	0,14	5	0,06	1	0,10	2	0,03	1
11	122	0,09	2			0,27	8	0,20	7	0,25	4	0,14	3		
12	124	0,13	3			0,03	1	0,06	2			0,05	1		
13	126					0,03	1					0,05	1	0,35	11
14	128			0,05	1										
15	144	0,04	1												
16	146	0,04	1												
Σ Allele	23	23	8	19	10	31	7	35	5	16	8	21	3	31	
H_0	0,64		0,73		0,72		0,75		0,23		0,75		0,48		

Pop. = Population, Abr. = Abruzzen, Ard. = Ardèche, Bit. = Bitche, Anh. = Anhée, n = Anzahl beprobter Tiere

Innerhalb des Standortes **Abruzzen** wurden **13** verschiedene Allele, insgesamt **23** Mikrosatelliten-Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,64** (über alle 16 Allele des Primers). Innerhalb der Population **Pula** wurden **8** verschiedene Allele, insgesamt **19** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,73**. Innerhalb der Population **Ardèche** wurden **10** verschiedene Allele, insgesamt **31** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,72**. Innerhalb von Population **Bitche** wurden **7** verschiedene Allele, insgesamt **35** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,75** entspricht. Innerhalb von Population **Trier** wurden **5** verschiedene Allele, insgesamt **16** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,23** entspricht. Innerhalb von Population **Urft** wurden **8** verschiedene Allele, insgesamt **21** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,75** und innerhalb der

Population **Anhée** wurden **3** verschiedene Allele, insgesamt **31** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,48** entspricht. In Abbildung 42, sowie Karte 11 ist die Verteilung der Allele über die einzelnen Standorte grafisch dargestellt.

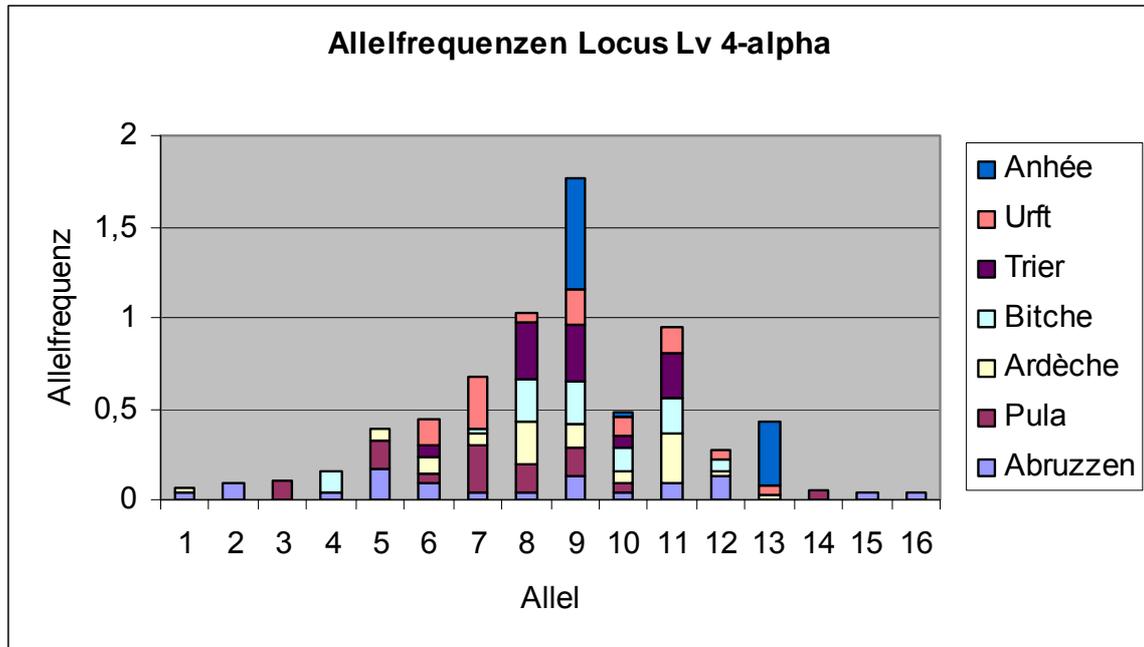
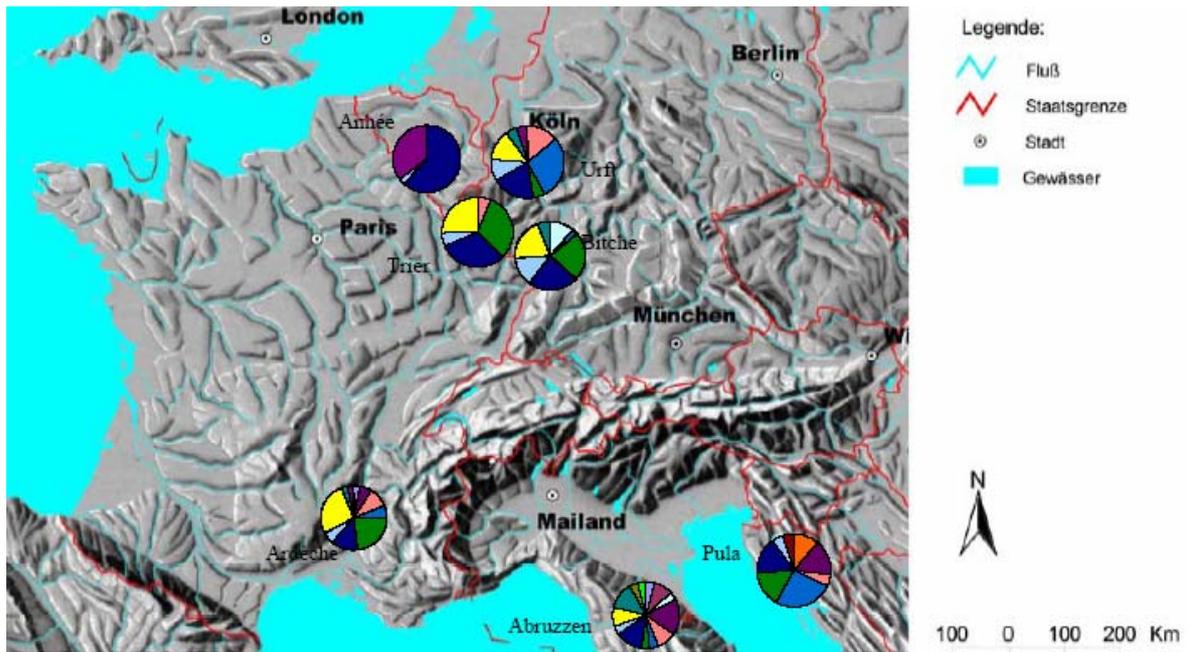


Abb. 42: Allelfrequenzen Locus Lv 4-alpha

Es wurden Allellängen von 98 bis 146 Basenpaaren (bp) detektiert. Von ESTOUP et al. (1999) wurde für *Podarcis muralis* ein Basenpaarbereich von 130-158, 14 verschiedene Allele bei 16 untersuchten Tieren, sowie eine H_0 von 0,91 angegeben. Ein H_0 -Wert von 0,91 konnte in der vorliegenden Untersuchung bei keiner Population erreicht werden. Den höchsten H_0 -Wert erreichten die Populationen Urft und Bitche mit jeweils 0,75. Mit 16 verschiedenen detektierten Allelen wurden nur 2 mehr als von ESTOUP et al. (1999) ermittelt.

An der Ardèche wurde in der vorliegenden Untersuchung ein H_0 -Wert von 0,72 ermittelt. Der Basenpaarbereich lag bei 110-126 bp, also knapp unterhalb des von ESTOUP et al. angegebenen Bereiches. Es wurden für die Ardèche 10 verschiedene Allele ermittelt, also 6 weniger als in der Untersuchung von ESTOUP et al. Über alle Populationen hinweg wurde ein H_0 -Wert von **0,61** ermittelt.



Karte 11: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus Lv 4-alpha)

Wie aus Tabelle 28 und Abbildung 42 ersichtlich liegen nur die zwei Allele mit 140 bp und 146 bp innerhalb des von ESTOUP et al. (1999) angegebenen Bereiches. Alle anderen detektierten Positionen liegen unterhalb der angegebenen Werte. Allel 9 (118 bp) wurde am Häufigsten detektiert. In Abb. 43 ist die Markerzahl an den jeweiligen Standorten abgebildet.

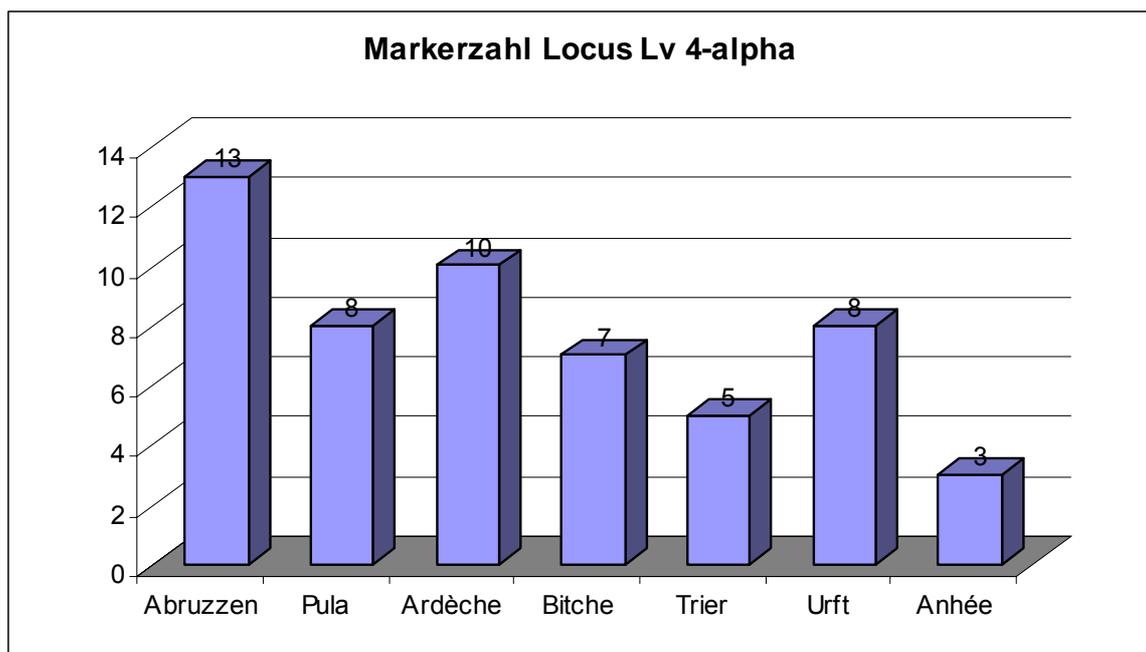


Abb. 43: Markerzahl Locus Lv 4-alpha

Tabelle 29 Charakterisierung Locus Lv 4-alpha (ESTOUP et al. 1999)

Locus	Primer Sequenz (5'-3') Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward- Primer	T _a (°C)	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
Lv-4- alpha	F: FAM-CTG CAG GGA ACA GAA TTA ACC R: CTG CCC AGA AAG CAT TTC C	60	(AC) ₁₄ A(GA) ₁₁ (CAGAGA) ₉ CAGAT(AG) ₃	130- 158

T_a (°C): Annealing Temperatur

6.3.8 Mikrosatelliten-Primer Lv 3-19

Mit dem Mikrosatelliten-Primer Lv 3-19 konnten insgesamt 16 Marker detektiert werden. In Tabelle 30 sind die Anzahl der verschiedenen Marker, die Allelfrequenzen, die Summe der Mikrosatelliten-Marker pro Population, sowie die H₀-Werte (*observed Heterozygotie*) dargestellt.

Tabelle 30 Ergebnisse für den Mikrosatelliten-Primer Lv 3-19

Σ-H ₀ =0,61	Abruzzen		Pula		Ardèche		Bitche		Trier		Urft		Belgien		
Pop.	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7		
Nr.	Bp	n=14	n=11		n=18		n=20		n=13		n=12		n=21		
1	141	0,09	2										0,11	4	
2	143	0,04	1		0,03	1									
3	147										0,06	1	0,03	1	
4	149	0,22	5	0,29	6	0,17	5	0,13	5	0,13	3	0,11	2	0,11	4
5	151	0,17	4	0,05	1	0,21	6	0,13	5					0,42	15
6	153	0,04	1	0,14	3	0,10	3	0,08	3	0,17	4	0,06	1		
7	155	0,09	2	0,05	1	0,17	5	0,16	6	0,26	6	0,28	5		
8	157			0,05	1	0,24	7	0,24	9	0,04	1	0,39	7		
9	159	0,13	3			0,03	1	0,18	7	0,13	3	0,11	2	0,31	11
10	161			0,05	1			0,03	1	0,09	2				
11	163	0,13	3	0,05	1					0,17	4				
12	165	0,05	1	0,10	2	0,03	1							0,03	1
13	167			0,05	1										
14	169			0,05	1										
15	171			0,05	1										
16	173			0,10	2										
	ΣAllele	9	22	12	21	8	29	7	36	7	23	6	18	6	36
	H ₀	0,57		0,91		0,61		0,8		0,77		0,5		0,71	

Pop. = Population, Abr. = Abruzzen, Ard. = Ardèche, Bit. = Bitche, Anh. = Anhée, n = Anzahl beprobter Tiere

Innerhalb der Population **Abruzzen** wurden **9** verschiedene Allele, insgesamt **22** Mikrosatelliten-Marker detektiert. Dies entspricht einem H₀-Wert von **0,57** (über

alle 16 Allele des Primers). Innerhalb des Standortes **Pula** wurden **12** verschiedene Allele, insgesamt **21** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,91**. Innerhalb der Population **Ardèche** wurden **8** verschiedene Allele, insgesamt **29** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,61**. Innerhalb von Population **Bitche** wurden **7** verschiedene Allele, insgesamt **36** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,80** entspricht. Innerhalb von Population **Trier** wurden **7** verschiedene Allele, insgesamt **23** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,77** entspricht. Innerhalb von Population **Urft** wurden **6** verschiedene Allele, insgesamt **18** Marker detektiert. Dies entspricht einem H_0 -Wert von **0,50** und innerhalb der Population **Anhée** wurden **6** verschiedene Allele, insgesamt **36** Marker detektiert, was einem H_0 -Wert von **0,71** entspricht. In Abbildung 44, sowie Karte 12 ist die Verteilung der Allele über die einzelnen Standorte grafisch dargestellt.

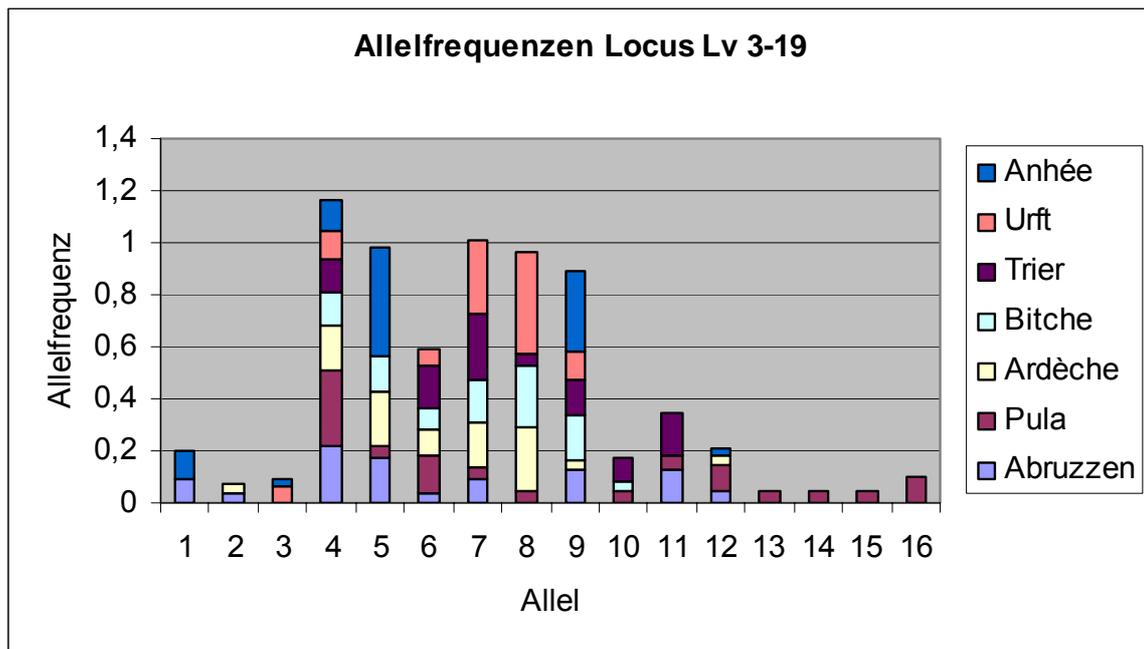


Abb. 44: Allelfrequenzen Locus Lv 3-19

Es wurden Allellängen von 141 bis 173 Basenpaaren (bp) gemessen. Von ESTOUP et al. (1999) wurde für *Podarcis muralis* ein Basenpaarbereich von 149-161 bp, 8 verschiedene Allele bei 16 untersuchten Tieren und eine H_0 von 0,83 angegeben. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten H_0 -Werte liegen zwischen 0,50 und 0,91. Den höchsten H_0 -Wert erreicht die Population Pula. Mit insgesamt 16 verschiedenen detektierten Allelen wurden doppelt so viele als von ESTOUP et

al. (1999) ermittelt. An der Ardèche wurde für die vorliegende Arbeit ein H_0 -Wert von 0,61 ermittelt. Die Basenpaarbereich lag bei 143-165. Es wurden ebenso wie bei ESTOUP et al. 8 verschiedene Allele ermittelt. Über alle Populationen hinweg wurde ein H_0 -Wert von **0,71** ermittelt. In Abb. 45 ist die Markerzahl an jedem Standort dargestellt.

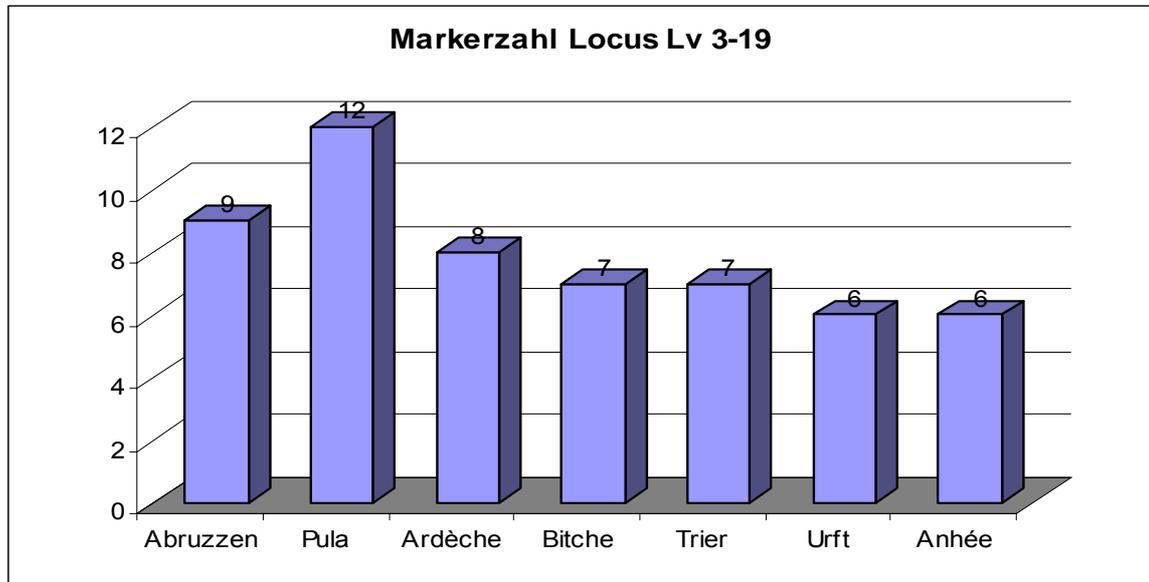
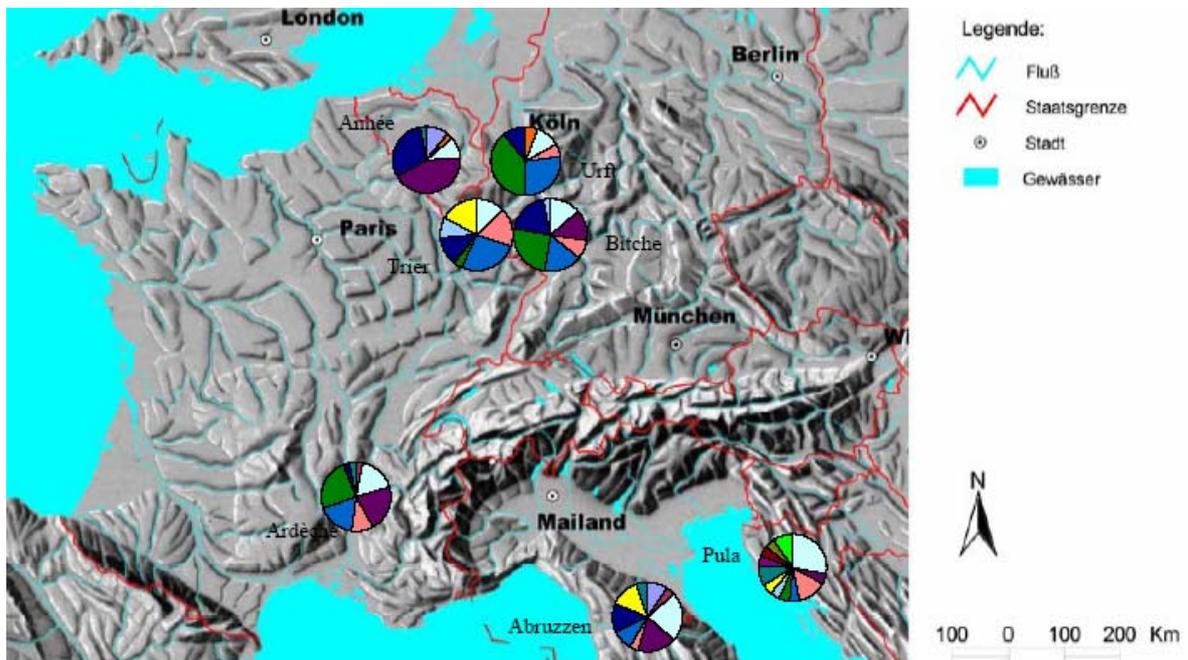


Abb. 45: Markerzahl Locus Lv 3-19



Karte 12: Verteilung der Allelfrequenzen über den Standorten (Locus Lv 3-19)

Tabelle 31 Charakterisierung Locus Lv 3-19 (ESTOUP et al. 1999)

Locus	Primer Sequenz (5'-3') Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	T _a (°C)	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
Lv-3-19	F: HEX-CTG TTG CTA TTT TGT ATG CTT AC R: CCT GTG ACT GTC CTC AGA GG	55	(AC) ₂₂	149- 169

T_a (°C): Annealing Temperatur

6.4 Sequenzierung des Mikrosatelliten Locus A7

Aufgrund des Vorkommens der Allele von 390 bis 406 bp (erwartet 182 bp) bei Locus A7 wurden exemplarisch die Allele einiger Proben sequenziert. Die Sequenzierung erfolgt nach SANGER im Cycle Sequencing Verfahren (s. Kap. 5.6.2) unter Verwendung der DNA Taq Polymerase und fluoreszenzmarkierten Primern (*Dye Primer Sequenzung*). Hierzu wurde zuerst eine PCR mit nicht fluoreszenzmarkierten Primern durchgeführt. Das erhaltene Produkt wurde mittels Gel-Elektrophorese (2,8 %iges Agarose-Gel) über drei Stunden bei 120 V und ca. 100 mA aufgetrennt. Die erhaltenen Banden wurden aus dem Gel über einem UV-Tisch ausgeschnitten.



Abb. 46: Agarosegel mit zehn Proben, Locus A7, LS=Längenstandard

Das Gel-Stück wurde mittels des E.Z.N.A.[®] Gel Extraktions Kit (Firma peqLab, Erlangen) aufgereinigt. Mit dem aufgereinigten Produkt wurden mittels des ABI PRISM[®] BigDye[®] Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit zwei Cycle Sequencing-PCR durchgeführt. Die Sequenzierung des Mikrosatelliten erfolgte von beiden Seiten des Repeats. Dazu wurde einmal der Forward-Primer und einmal der Revers-Primer als Start der Cycle Sequencing eingesetzt. Die somit erhaltenen PCR-Produkte wurden nach der Ethanolfällung sequenziert. Verwendet wurde im Sequenzierer ABI PRISM[™] 310 eine 61 cm lange Kapillare und als Polymer POP 6. In Abb. 48 ist das Elektropherogramm der Sequenzierung und in Abb. 47 die Basenabfolge des Elektropherogramms dargestellt.

Das aus dem Gel extrahierte Produkt wurde als Template für die Sequenzier-PCR eingesetzt. Ein 20 µl PCR Ansatz bestand aus:

- 15 µl Template-DNA
- 2 µl Big Dye[®] Terminator Mix
- 1 µl Primer (10 pmol/µl)
- 2 µl Big Dye[®] Terminator Sequenzierung-Puffer

Die Sequenzier-PCR wurde nach folgendem Temperaturprofil (Tabelle 32) durchgeführt:

Tabelle 32 Temperatur- und Zeitprogrammierung des Thermocyclers für die Sequenzier-PCR (Cycle-Sequenzierung)

Schritte	Temp. in °C	Zeit in Sekunden	Zweck
1. Teil	94°C	5 min	vollständige Denaturierung der Template-DNA
2. Teil	94°C	20 s	Denaturierung
30 Zyklen	50°C	30 s	(Hybridisierung) Annealing
	60°C	4 min	Synthese
Kühlung	4°C	∞	

Nicht eingebaute Nukleotide und Salze wurden mittels Ethanolfällung entfernt. Dazu wurden dem kompletten 20 µl Sequenzier-PCR-Produkt 80 µl H₂O, 10 µl 3 M NaAc (pH 4,6) und 250 µl Ethanol (100 %, RT) zugegeben. Der Ansatz wurde 30 min bei 15.000 Upm zentrifugiert, der Überstand verworfen und das erhaltene Pellet mit Ethanol (70 %, RT) gewaschen. Nach erneuter Zentrifugation für 5 min bei 15.000 Upm wurde der Überstand erneut verworfen und das verbleibende Pellet 5 min luftgetrocknet. Das getrocknete Pellet wurde in 20 µl Template Suppressor Reagent™ (TSR) gelöst. Eine Denaturierung bei 90°C wurde nach Rücksprache mit Applied Biosystems nicht durchgeführt.

	10	20	30	40	50	60	70	80	90
1 Pula 7 Rel	-----TgTgT gtgtGtGtGt GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT ATTTCATGAc TCCGATGGGG CTGCCCTGC TGCCACCTTc								
2 Pula 7 Fo1	***** ***** CTGTGTGTGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT ATTTCATGAC TCCGaTGGGG CTGCCcTGC TGCCACcTtc								
	100	110	120	130	140	150	160	170	180
1 Pula 7 Rel	TGTGTATTGC ATTGCACtAG ATCAGGGGTC TGCAACCTTT AAGACAAAA GAGCCACTTG GACCGAAGAA AAAAAAACT GGGAGCCGCA								
2 Pula 7 Fo1	TGTGTATTGC ATTGCaCTAg ATcAGGgGTC TGCAaCCTTT AAGACAAAaA GAGCCACTTG GACCGAaGAA AAAAAAAcT GGGaGCCGcA								
	190	200	210	220	230	240	250	260	270
1 Pula 7 Rel	AAACCATTCG GACATTTAAA ACAGTGGGGA GTGTGGGGC ACACAATGCG GCTCCTCCC TTGCTAGTAT CCTCCCgGA GCCGCGGCAA								
2 Pula 7 Fo1	AAaCCATTGC GACATTTAAA ACaGtGGGGA GTGTcGGGGC ACACAaTGCG GCTCCTCCC TTGCTAGtAT CCTCCCcGga gCCGcGGcAA								
	280	290	300	310	320	330	340	350	360
1 Pula 7 Rel	AGGTGTAAAA GAGCCAcATG CggCTCCGGA GCCGCGGGTT TG								
2 Pula 7 Fo1	AGGTGTAAAA GAGCCAcATG CgGCTCCGga gCCGcgGgTT TgCTCaCCCC TGCACTAgAT GGTCTtTGga cTaCCCTtCC CCTtTGCAAT								
	370	380	390	400	410	420	430	440	450
1 Pula 7 Rel	<==								
2 Pula 7 Fo1	TT								

Abb. 47: Basenfolge der Sequenz der Probe Pula 7, Primer A7, homozygot, 400 bp, Basenaustausch C-G, G-C bei 304, 305, angezeigt durch **

Die erhaltene Basenabfolge (Abb. 47) wurde mit der Literatur (NEMBRINI & OPPLIGER 2003) verglichen. Die Unterschiede sind in der jeweils zweiten Reihe, welche die Basenabfolge der Literatur zeigt, **fett** gedruckt. Es zeigt sich eine große Übereinkunft an Basen, aber auch einige Unterschiede.

Im Folgenden ist das Sequenzierungsergebnis der Probe Pula 7 (Abb. 47) mit der Literaturangabe von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) verglichen worden. In der jeweils oberen Reihe steht das Sequenzierungsergebnis, in der jeweils unteren Reihe steht die erwartete Basenabfolge aus der Literatur. Abweichungen in der Basenfolge sind in der unteren Reihe fett gedruckt.

```
F:          GTT AGG ATG CCT   19 mal GT ATT TCA
F: GCG CTG AAA CTT CCT GT GTT AGG AAT GGC A 18 mal GT ATA TCA
TGA CTC CGA TGG GGC TGC CCC TGC TGC CAC CTT CTG TGT ATT GCA
TGA CTC CGA TGG GGC TAC CCC TGC TGC CAC CTT CTG TGT ACT GCA
TTG CAC TAG ATC AGG GGT CTG CAA CCT TTA AGA CAA AAA GAG CCA
TTG CAC TAG ATG GTC CTT GGG ATA C –REV-Primer
```

Die folgenden sequenzierten Basen gehen über den Bereich des Revers-Primers in der Literatur hinaus.

```
AGA AAA AAA AAA CTG GGA GCC GCA AAA CCA TTG CGA CAT TTA AA ACA
GTG GGG AGT GTC GGG GCA CAC AAT GCG GCT CCT CCC CTT GCT AGT
ATC CTC CCC GGA GCC GCG GCA AAG GTG TAA AAG AGC CAC ATG CGG
CTC CGG AGC CCG GGG TTT GCT CAC CCC TGC ACT AGA TGG TCC TTG
GAC TAC CCT TCC CCT CTG CAA T -REVERS-Primer
```

Von der Sequenzierungssoftware wurde die Basenfolge der Forward-Sequenzierung mit der Basenfolge der Revers-Sequenzierung verglichen und der

Unterschied in der Basenfolge mittels ** markiert. Es handelt sich an der angegebenen Stelle um einen Basenaustausch von GC und CG. Mittels der Sequenzierung konnte nachgewiesen werden, dass es sich um einen Mikrosatelliten handelt, der sich an einigen Stellen von der durch NEMBRINI & OPPLIGER (2003) angegebenen Basenfolge unterscheidet. Im Gegensatz zur Literatur lagert sich bei einigen Tieren aus den Abruzzen und Pula der Revers-Primer erst nach einer zusätzlichen etwa 200 Basenpaar langen Sequenz an.

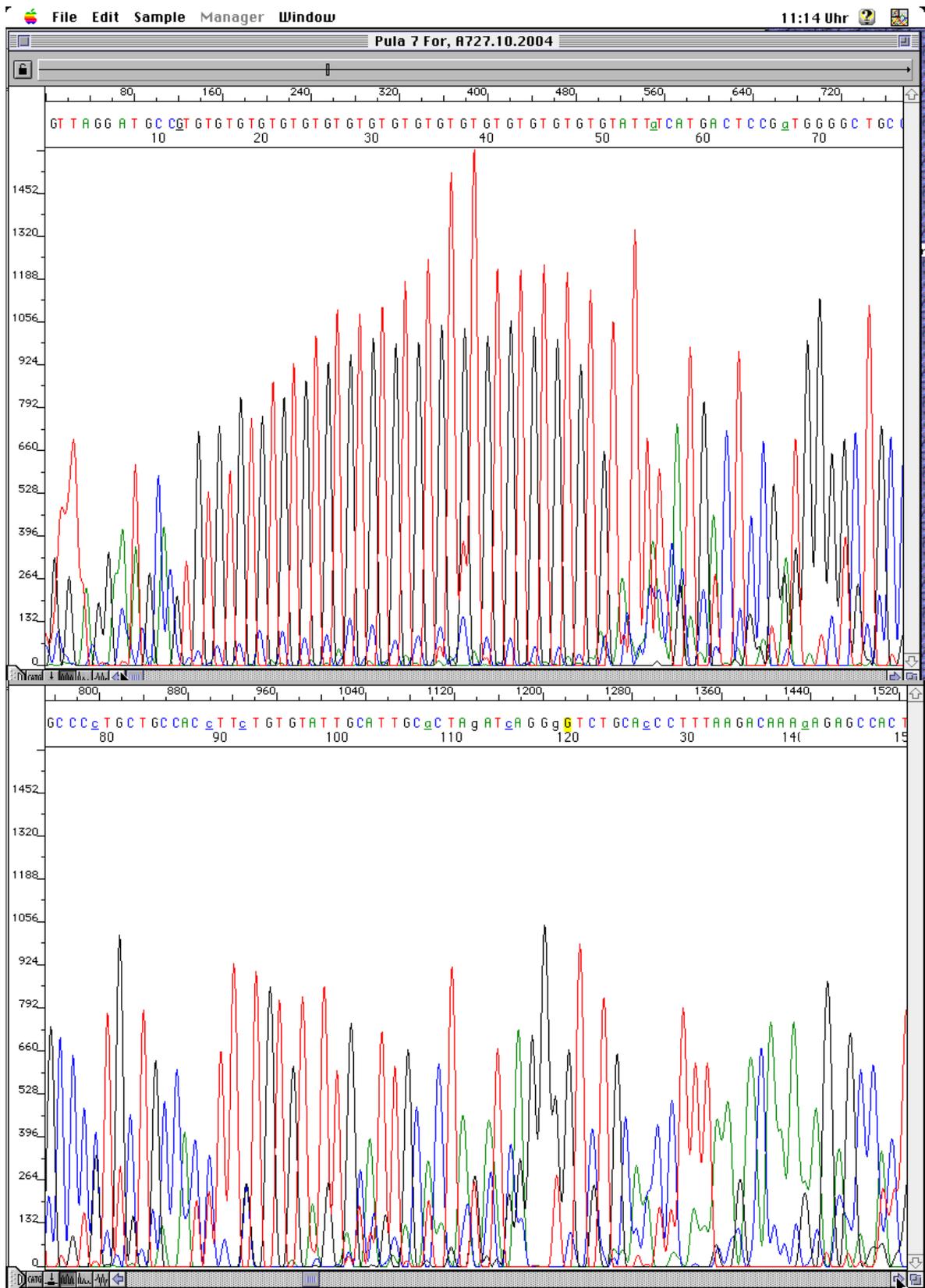


Abb. 48: Elektropherogramm der Teilsequenz im Bereich des Mikrosatelliten-Locus (Probe Pula 7, Primer A7, homozygot, Gesamtlänge von 400 bp, Forward-Sequenzierung)

6.5 Statistische Auswertung

Die genetische Diversität beschreibt die Vielfalt in der genetischen Zusammensetzung von Organismengruppen. Sie ist das Ergebnis der Evolution und folglich das Resultat der Wirkung verschiedener Evolutionsfaktoren, insbesondere von Mutation, Selektion, genetischer Drift und Migration, sowie der Vermehrungs- und auch Populationsstruktur von Populationen. Hierbei kann auch der Einfluss des Menschen eine wichtige Rolle spielen (SPERLICH 1988; VAN HINTUM 1995).

Mit Hilfe der Mikrosatelliten-Analyse können verschiedene populationsgenetische Parameter bestimmt und anschließend statistisch dargestellt werden (Kap. 5.5).

6.5.1 Heterozygotie-Statistik

Ein wichtiges Diversitätsmaß für codominante Marker stellt der Heterozygotiegrad dar. (Kap. 5.7.1) In Tabelle 33 ist die *observed Heterozygotie* H_o für die einzelnen Populationen gesamt, sowie über die einzelnen Loci innerhalb der Populationen aufgeschlüsselt gelistet. Man erkennt deutliche Differenzen innerhalb der einzelnen Populationen über die verschiedenen Loci.

Eine hohe Heterozygotie bedeutet eine bessere Anpassungsfähigkeit von Populationen an sich ändernde Selektionsbedingungen (FRANKEL et al. 1995, NEVO 2001), besonders in ökologisch wenig stabilen Lebensräumen.

Tabelle 33 Heterozygotie-Statistik (Populationen und Primer)

Loci Pop.	N	H_o	B 3 38	B 4 13	B 7 20	C 24 14	C 9 19	A 7 22	Lv 3-19 16	Lv 4-alpha 16
1	14	0,56	1,00	0,15	0,50	0,36	0,57	0,71	0,57	0,64
2	11	0,56	0,64	0,27	0,82	0,27	0,45	0,36	0,91	0,73
3	18	0,67	0,89	0,44	0,72	0,61	0,61	0,78	0,61	0,72
4	20	0,62	0,40	0,50	0,60	0,40	0,60	0,90	0,80	0,75
5	13	0,54	0,62	0,31	0,46	0,54	0,69	0,69	0,77	0,23
6	12	0,55	0,83	0,17	0,42	0,58	0,58	0,58	0,50	0,75
7	21	0,44	0,48	0,10	0,66	0,66	0,10	0,33	0,71	0,48

Pop.= Population, 1= Abruzzen, 2= Pula, 3= Ardèche, 4= Bitche, 5= Trier, 6= Urft, 7= Anhée, N=Anzahl beprobter Tiere, unter den Loci steht die Anzahl der Marker

In Tabelle 33 sind die errechneten mittleren Heterozygotie-Werte (H_o) angegeben. Population 7 (Anhée) weist mit 0,44 die geringste Heterozygotie, die Populationen 3 (Ardèche) und 4 (Bitche) weisen mit 0,67 beziehungsweise 0,62 die höchste Heterozygotie auf.

In Tabelle 34 ist die Heterozygotie-Statistik über alle Loci dargestellt. Eine Abweichung vom erwarteten Heterozygotiegrad H_{exp} kann verschiedene Ursachen haben. Ein Heterozygoten-Überschuss kann ein Hinweis auf überdominante Selektion oder Auskreuzen („outbreeding“) sein. Andererseits nimmt in kleinen geschlossenen Populationen die Wahrscheinlichkeit von Paarungen zwischen verwandten Individuen zu. Dadurch kommt es zu einer Übereinstimmung eines Teils ihres Genoms. Bei der Paarung von verwandten Individuen (Inzucht, „inbreeding“) erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass Mutter und Vater eine Kopie des gleichen Allels eines gemeinsamen Vorfahrens an die Nachkommen vererben, die dann an diesem Genort herkunftsgleich sind. In einer Population wird der erwartete Anteil von Genorten, der durch die steigende Inzucht homozygot geworden ist, durch den Inzuchtkoeffizienten (F_{IS}) nach WRIGHT (1921) ausgedrückt. Eine Abnahme der H_o gegenüber der H_{exp} ist über alle Loci zu beobachten.

Tabelle 34 Heterozygotie-Statistik (einzelne Loci, LEVENE 1949)

Locus	Allele	Observed Heterozygot.	Expected Heterozygot.
B3	218	0,66	0,94
B4	218	0,28	0,73
B7	218	0,61	0,88
C24	218	0,50	0,83
C9	218	0,50	0,78
A7	218	0,62	0,79
Lv 3-19	218	0,70	0,88
Lv 4-alpha	218	0,61	0,86
Durchschnitt	218	0,56	0,84

6.5.2 Genetische Ähnlichkeit

Mit dem Programm Poptene 1.32 (YEH et al. 1999) wurde die genetische Ähnlichkeit zwischen den Populationen berechnet.

Tabelle 35 Genetische Ähnlichkeiten zwischen den Populationen (NEI 1972)

Population	Abruzzen	Pula	Ardèche	Bitche	Trier	Urft	Belgien
Abruzzen	---	0,5551	0,4253	0,2956	0,3672	0,3658	0,2444
Pula		---	0,2849	0,2046	0,3279	0,2733	0,2621
Ardèche			---	0,4509	0,5406	0,4793	0,4258
Bitche				---	0,6658	0,5492	0,4324
Trier					---	0,7817	0,6440
Urft						---	0,5707
Belgien							---

Die geringste genetische Ähnlichkeit wurde mit 0,2046 zwischen den Standorten Pula und Bitche berechnet. Die größte genetische Ähnlichkeit besteht mit 0,7817 zwischen den Populationen Trier und Urft. Die größte genetische Ähnlichkeit für den Standort Abruzzen besteht zum Standort Pula mit 0,5551, die zweitgrößte genetische Ähnlichkeit für den Standort Abruzzen besteht mit 0,4253 zum Standort Ardèche. Auffallend sind die geringen genetischen Ähnlichkeiten (mit unter 0,33) zwischen Pula und allen anderen Populationen (außer zum Standort Abruzzen). Somit bestehen die geringsten genetischen Ähnlichkeiten zwischen der Population Pula und den übrigen Populationen (außer zu den Abruzzen). Population Bitche hat trotz geographisch geringerer Distanz zum Standort Anhee eine geringere genetische Ähnlichkeit als zum Standort Ardèche. Relativ hoch sind die genetischen Ähnlichkeiten zwischen den Populationen Trier zu Urft, Trier zu Anhee und Urft zu Anhee, wobei bei vergleichbarer geographischer Entfernung die genetische Ähnlichkeiten zur Population Anhee bei allen Populationen abnimmt. Eine Korrelation der genetischen Ähnlichkeiten und der geographischen Lage der Populationen zueinander ist, mit Ausnahme der Populationen Bitche und Population Anhee, nachweisbar. Die genetische Ähnlichkeit zwischen den Populationen Urft zur Population Anhee (0,57) ist deutlich geringer als zur Population Trier (0,78) trotz vergleichbarer geographischer Entfernung.

6.5.3 Genetische Distanz und Genfluss

Genfluss ist der Austausch von Allelen zwischen Populationen durch Austausch von Individuen (Migration). Die genetische Verbindung zwischen Populationen hängt stark vom Ausmaß des Genflusses ab. Die wichtigste Auswirkung von

Genfluss ist die Einbringung neuer Allele und somit die Erhöhung der genetischen Variabilität. Der Genfluss kann mit Hilfe des Φ_{ST} -Wertes berechnet werden (SLATKIN & BARTON 1989, SINCLAIR et al. 1996, GOMES et al. 1998, BENDER 1999). Die so genannte Φ -Statistik ist ein Äquivalent zur F-Statistik von WRIGHT (1951), die zur Berechnung codominanter Marker entwickelt wurde (REYNOLDS et al. 1983).

Die F-Statistik nach WRIGHT (1951, 1965, 1978) wird bei codominanten genetischen Markern wie Allozymen und auch Mikrosatelliten eingesetzt (Kap. 5.7.2). Für die Interpretation von F_{ST} -Werten wurden folgende Klassen vorgeschlagen (WRIGHT 1978, HARTL & CLARK 1997):

- 0 – 0,05: geringe genetische Differenzierung
 - 0,05 – 0,15: mittlere genetische Differenzierung
 - 0,15 – 0,25: große genetische Differenzierung
- > 0,25: sehr große genetische Differenzierung

Ein weiterer Wert ist der F_{IS} -Wert. Er misst die Abnahme der Heterozygotie in Individuen einer Subpopulation durch nicht zufällige Paarung (z.B. Inzucht) „I“ steht hierbei für Individuum und „S“ für Subpopulation. Der F_{IS} -Wert misst das Verhältnis von Allelen zwischen Individuen der gleichen Subpopulation (BALLOUX & LUGON-MOULIN 2002). Ein positiver Wert für F_{IS} bedeutet verringerte Heterozygotie (Inzucht), ein negativer Wert erhöhte Heterozygotie (Auskreuzen).

In Tabelle 36 sind die F_{IS} und F_{ST} -Werte für Gruppe 1 (Süd) und Gruppe 2 (Nord), sowie für „Alle“ angegeben. Betrachtet man den F_{IS} -Wert sieht man eine stärkere „Inzucht“ innerhalb Gruppe 1 (0,2310) als in Gruppe 2 (0,1315). Über „Alle“ wurde ein F_{IS} von 0,1805 berechnet. Mit 0,1315 bis 0,2310 sind alle drei Werte nur schwach positiv, was auf nur eine geringe „Inzucht“ und somit auf eine geringe Separierung deutet.

Betrachtet man sich in gleicher Tabelle die F_{ST} -Werte, so deutet der ermittelte Wert innerhalb Gruppe 1 mit 0,1035 auf eine „mittlere“ genetische Differenzierung hin (0,1 bis 0,15). Innerhalb Gruppe 2 (0,1628) und über „Alle“ (0,1855) deuten die ermittelten Werte auf eine „große“ genetische Differenzierung hin. Die genetische Differenzierung ist über „Alle“ am Größten. Betrachtet man die ermittelten Werte in Tabelle 36 so lassen sich die Ergebnisse von Tabelle 35 bestätigen. Man kann mit

den ermittelten Werten den Trend der „Inzucht“, sowie der genetischen Differenzierung belegen.

Über **Genflussschätzungen** soll geprüft werden, ob sich die Populationen in Gruppen mit hohem und geringem genetischen Austausch gliedern lassen. Dazu wurden willkürlich Gruppen gebildet. Es lag dabei nahe, südliche und nördliche Populationen in verschiedene Gruppen zusammenzufassen, da ein Genfluss innerhalb der südlichen und nördlichen Gruppen wegen der geringeren geographischen Entfernungen wahrscheinlicher ist. In Tabelle 36 und Tabelle 37 sind die Ergebnisse von zwei verschiedenen Gruppenbildungen dargestellt. In Tabelle 36 wurden alle drei südlichen Populationen (Abruzzen, Pula und Ardèche) zu einer Gruppe zusammengefasst und einer Gruppe den nördlichen Populationen (Bitche, Trier, Urft und Belgien) gegenübergestellt. Innerhalb der Gruppe 1 ist ($Nm^* = 2,1649$) die Genflussrate höher als in Gruppe 2 ($Nm^* = 1,2852$) und fast doppelt so hoch als über alle Populationen ($Nm^* = 1,0974$).

Tabelle 36 Genfluss (nach NEI 1987) innerhalb angenommener Gruppen

	N	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	Nm^*
Gruppe 1 (Süd, 1,2,3)	86	0,2310	0,3106	0,1035	2,1649
Gruppe 2 (Nord, 4,5,6,7)	132	0,1315	0,2730	0,1628	1,2852
Alle	218	0,1805	0,3325	0,1855	1,0974

Gruppe 1 (Süd; 1= Abruzzen, 2= Pula, 3= Ardèche), Gruppe 2 (Nord, 4= Bitche, 5= Trier, 6= Urft, 7= Anhee), N= Anzahl Allele

In Tabelle 37 wurde die Gruppenzusammensetzung anders gewählt. In Gruppe 1 wurden die Populationen 1 (Abruzzen) und 2 (Pula) zusammengefasst und den restlichen Populationen (incl. Ardèche) gegenübergestellt. Innerhalb der Gruppe 1 steigt der Genfluss auf 3,420, innerhalb der Gruppe 2 bleibt die Genflussrate mit 1,2624 fast unverändert.

Tabelle 37 Genfluss (nach NEI 1987) innerhalb angenommener Gruppen

	N	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	Nm^*
Gruppe 1 (1+2)	50	0,2715	0,3212	0,0681	3,4200
Gruppe 2 (3,4,5,6,7)	168	0,1369	0,2795	0,1653	1,2624
Alle	218	0,1805	0,3325	0,1855	1,0974

Gruppe 1 (1= Abruzzen, 2= Pula), Gruppe 2 (3= Ardèche, 4= Bitche, 5= Trier, 6= Urft, 7= Belgien) N= Anzahl Allele

In Tabelle 38 ist der Genfluss zwischen den Populationen 5 (Trier) und 6 (Urft) dargestellt. Die Rate ist mit 4,3143 die Größte zwischen allen Populationen.

Tabelle 38 Genfluss (nach NEI 1987) zwischen Trier und Urft

	N	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}	Nm*
Trier / Urft	50	0,1844	0,2291	0,0548	4,3143

N= Anzahl Allele

Mit Hilfe des Genflusses wurde überprüft, ob eine Differenzierung der Populationen über die geographische Entfernung gegeben ist. (*Isolation by distance* – Modell). Grundlage dieses Modells ist, dass mit zunehmender geographischer Entfernung die Wahrscheinlichkeit des Genaustauschs sinkt, und somit die Maße der genetischen Distanz ansteigen. Der Zusammenhang von genetischer und geographischer Distanz ist mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,596$ positiv. Es besteht ein signifikanter Zusammenhang (Mantel-Test: $p < 0,0001$).

Tabelle 39 Geographische Distanzen zwischen den Populationen (oberhalb der Diagonalen, Luftlinie in km) und genetische Distanzen zwischen den Populationen (unterhalb der Diagonalen) NEI 1972

Population	Abruzzen	Pula	Ardèche	Bitche	Trier	Urft	Belgien
Abruzzen	---	284	740	874	974	1070	1100
Pula	0,5886	---	724	668	772	844	904
Ardèche	0,8550	1,2556	---	594	628	714	660
Bitche	1,2187	1,5869	0,7966	---	90	184	206
Trier	1,0019	1,1150	0,6151	0,4067	---	98	134
Urft	1,0056	1,2972	0,7354	0,5993	0,2463	---	120
Belgien	1,4088	1,3389	0,8538	0,8384	0,4400	0,5608	---

In Abb. 49 ist der Zusammenhang von geographischer Distanz und genetischer Distanz mit Hilfe der Regressionsanalyse grafisch dargestellt.

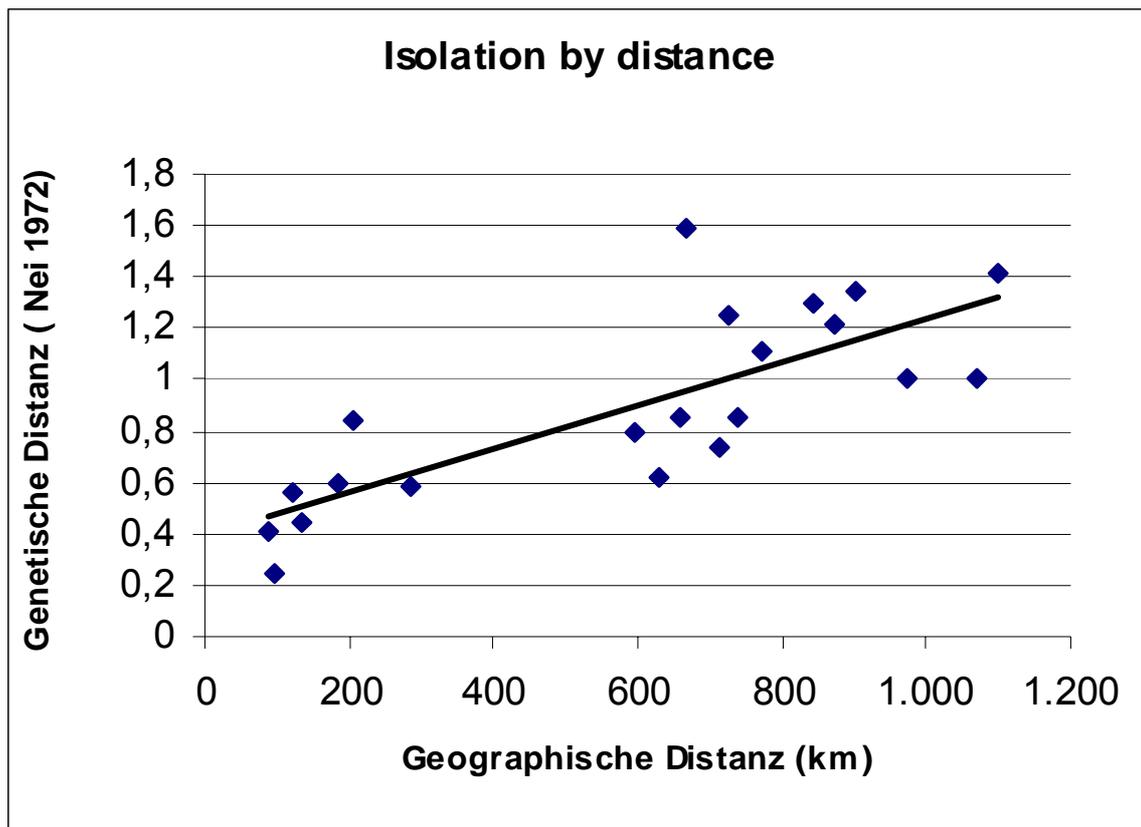


Abb. 49: Regressionsanalyse zur Überprüfung des Isolation by distance-Modells, Mantel-Test über genetische Distanzen (NEI 1972) und geographische Distanzen (Luftlinie in km)

Ein Einfluss der geographischen Entfernung auf die genetische Differenzierung ist gegeben.

6.5.4 Genetische Diversität

Bei der genetischen Struktur konnte für die analysierten *Podarcis muralis* – Populationen eine eher geringe genetische Strukturierung mittels AMOVA nachgewiesen werden. Die genetische Variation zwischen den sieben Populationen erklärt 18,6 % der Gesamtvariation (Tabelle 40). Unterteilt man die Populationen in zwei Gruppen (Abruzzen, Pula und Ardèche, Bitche, Trier, Urft, Belgien), ergibt die Varianzanalyse, dass noch 16,4 % der genetischen Varianz zwischen den Populationen innerhalb der beiden Gruppen liegen, wobei nur 4,3 % der genetischen Varianz zwischen den beiden Gruppen zu finden ist, was auf eine nur geringe Populationsstrukturierung hinweist. Die genetische Varianz innerhalb der untersuchten Populationen bleibt mit 79,4 % auf ähnlich hohem Niveau. Alle

berechneten Differenzierungen der Populationsstruktur erwiesen sich als hochsignifikant ($P < 0,001$).

Tabelle 40 Ergebnisse der Varianzanalyse (AMOVA)

Gruppen	n-1	SQ	Varianz (SQ/n-1)	Varianz (%)	P-Wert	Fixaktions-Indices
Alle Populationen						
Zwischen den Populationen	6	136,23	0,64	18,62	<0,001	$\Phi_{ST} = 0,1862$
Innerhalb der Populationen	211	594,59	2,82	81,38	NB	NB
Zwei Gruppen (Abruzzen, Pula) und (Ardèche, Bitche, Trier, Urft, Belgien)						
Zwischen Gruppen	1	30,56	0,15	4,28	<0,001	$\Phi_{CT} = 0,04268$
Zwischen Populationen innerhalb der Gruppen	5	105,67	0,58	16,38	<0,001	$\Phi_{SC} = 0,17109$
Innerhalb der Populationen	211	594,59	2,82	79,35	<0,001	$\Phi_{ST} = 0,206478$

n-1 = Freiheitsgrade

Sum of Squares (SQ) = Summe der Abweichungsquadrate vom Mittelwert

Varianz (SQ/n-1) = Varianzkomponente aus Sum of Squares / Freiheitsgrad

Varianz (%) = Anteil in % an der Gesamtvarianz innerhalb von Populationen

P-Wert = Signifikanzniveau

NB = nicht berechnet

6.5.5 Clusteranalyse

Mittels des Programms STATISTICA 6.0 wurde die statistische Auswertung für die Clusteranalyse und die Darstellung als Baumdiagramm durchgeführt. Als Datengrundlage wurden mittels des Programms Popgene 1.32 die genetischen Distanzen zwischen den Populationen berechnet (Tabelle 41)

Tabelle 41 Genetische Distanzen zwischen den Populationen (NEI 1972)

Population	Abruzzen	Pula	Ardèche	Bitche	Trier	Urft	Belgien
Abruzzen	---						
Pula	0,5886	---					
Ardèche	0,8550	1,2556	---				
Bitche	1,2187	1,5869	0,7966	---			
Trier	1,0019	1,1150	0,6151	0,4067	---		
Urft	1,0056	1,2972	0,7354	0,5993	0,2463	---	
Belgien	1,4088	1,3389	0,8538	0,8384	0,4400	0,5608	---

Mit Hilfe einer Clusteranalyse auf Basis der genetischen Distanzen (NEI 1972) werden die einzelnen Standorte hinsichtlich ihrer Ähnlichkeit gruppiert. Nach BORTZ (1993) werden dabei die durch einen festen Satz von Merkmalen (die genetischen Distanzen) beschriebenen Objekte (die Probenahmestandorte) nach ihrer Ähnlichkeit in Cluster eingeteilt, wobei die Cluster intern möglichst homogen und extern möglichst gut voneinander unterscheidbar sein sollen. Die UPGMA wurde ursprünglich für die Erstellung von taxonomischen Phenogrammen und Dendrogrammen, die phänotypische Ähnlichkeiten zwischen Individuen reflektieren, entwickelt (NEI 2000). Auch in populationsgenetischen Untersuchungen findet sie häufig Anwendung (KAMBHAMPATI et al. 1992, HAIG et al. 1994, JAGGI et al. 2000, ZHOU et al. 2000, CHIAPPERO & GARDENAL 2001, MISHRA et al. 2002). Die Clusteranalyse stellt somit einen wichtigen Ansatz zur Unterscheidung von Individuen bzw. Populationen dar. (s. Kap. 5.8.1.)

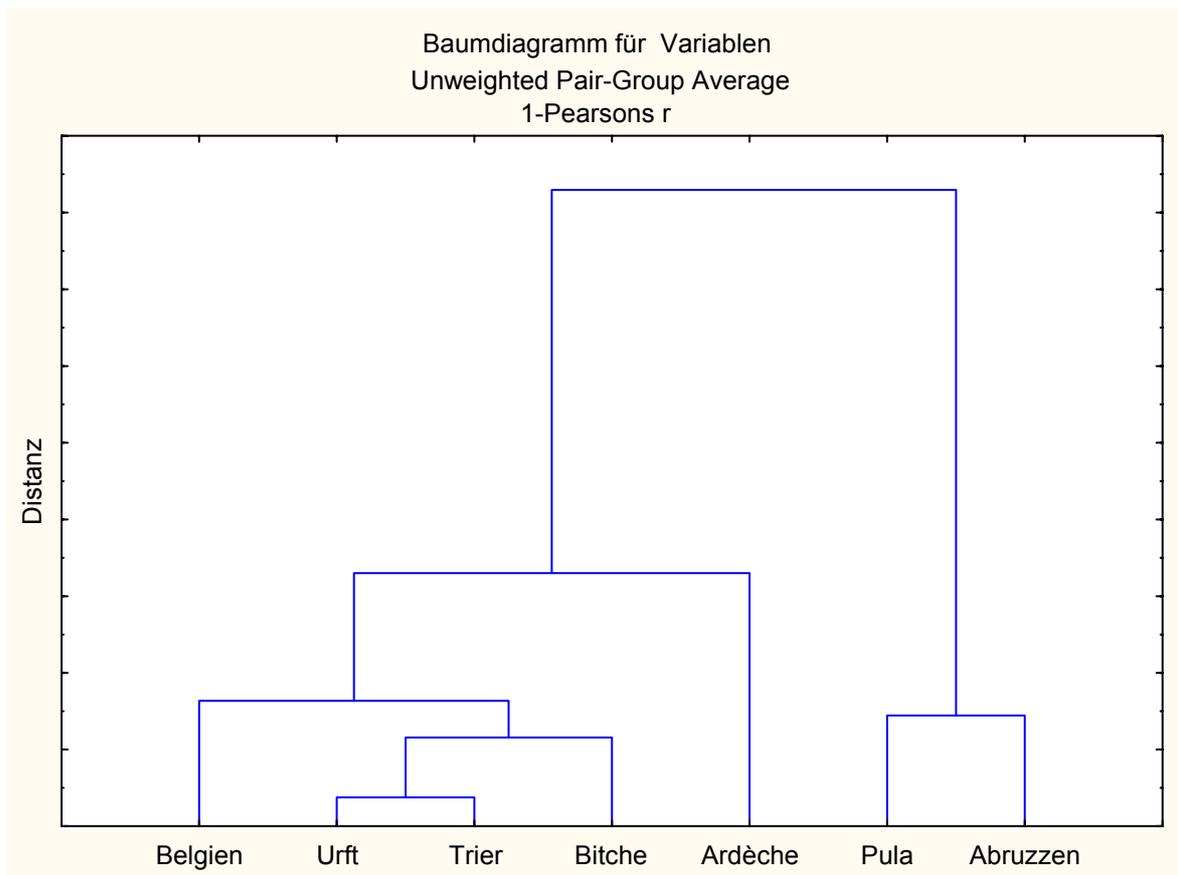


Abb. 50: UPGMA-Dendrogramm der Clusteranalyse über alle Populationen (1-Pearsons r), ermittelt über genetische Distanzen (NEI 1972)

In Abb. 50 ist das UPGMA-Dendrogramm der Clusteranalyse über die genetischen Distanzen (NEI 1972) grafisch dargestellt. Sichtbar wird eine Unterteilung in zwei Hauptgruppen, wobei die Standorte Abruzzen und Pula zusammen clustern und von den restlichen Populationen deutlich getrennt sind. Innerhalb der zweiten Gruppe clustern die Populationen Trier und Urft mit dem geringsten Abstand, gefolgt, in aufsteigender Entfernung, von den Populationen Bitche, Anhée und Ardèche. Der Standort Ardèche liegt der Gruppe mit den Populationen Abruzzen und Pula am Nächsten. Durch die Länge der Äste wird die genetische Distanz angezeigt.

6.5.6 Diskriminanzanalyse

Ausgehend von der Herkunft der Individuen besteht grundsätzlich die Möglichkeit, jedes Individuum einer geographischen Gruppe zuzuordnen. Diese Gruppierung kann anschließend mit einer Diskriminanzanalyse auf Basis der genetischen Marker geprüft werden. Sie dient der Analyse von Gruppen- bzw. Klassenunterschieden. Mit dieser Methode ist es möglich Gruppen unter Berücksichtigung von mehreren Variablen zu ermitteln. Im Unterschied zur Clusteranalyse ist die Diskriminanzanalyse kein exploratives, sondern ein konfirmatorisches Verfahren (s. Kap. 5.8.4). Durch die Diskriminanzanalyse werden keine Gruppen gebildet, sondern man geht von einer vorhandenen Gruppierung aus und überprüft die Qualität dieser Gruppierung. Mit Hilfe der Diskriminanzanalyse lässt sich analysieren,

- ob die vorliegende, möglicherweise durch Clusteranalyse ermittelte Gruppierung optimal ist, oder ob sie verbessert werden kann;
- welche Variablen für die Gruppenbildung besonders geeignet sind, bzw. auf welche Variablen sich die Gruppenunterschiede hauptsächlich zurückführen lassen;

Der in der Praxis am häufigsten auftretende Fall ist der Mehr-Gruppen-Fall. Bei diesem Fall reicht eine Diskriminanzfunktion nicht mehr aus, um die Gruppen zufrieden stellend zu trennen. Nach der Ermittlung der ersten Diskriminanzachse sind in der Regel die Überlappungsbereiche so groß, dass weitere Achsen bestimmt werden können. Im vorliegenden Fall sind 3 Funktionen ausreichend. Mit

Hilfe der ersten 3 Roots werden 88,4 % der Varianz erklärt. (Root 1: 59,7 %; Root 2: 16,8 %; Root 3: 11,8 %; Root 4: 9,5 %; Root 5: 1,2 %).

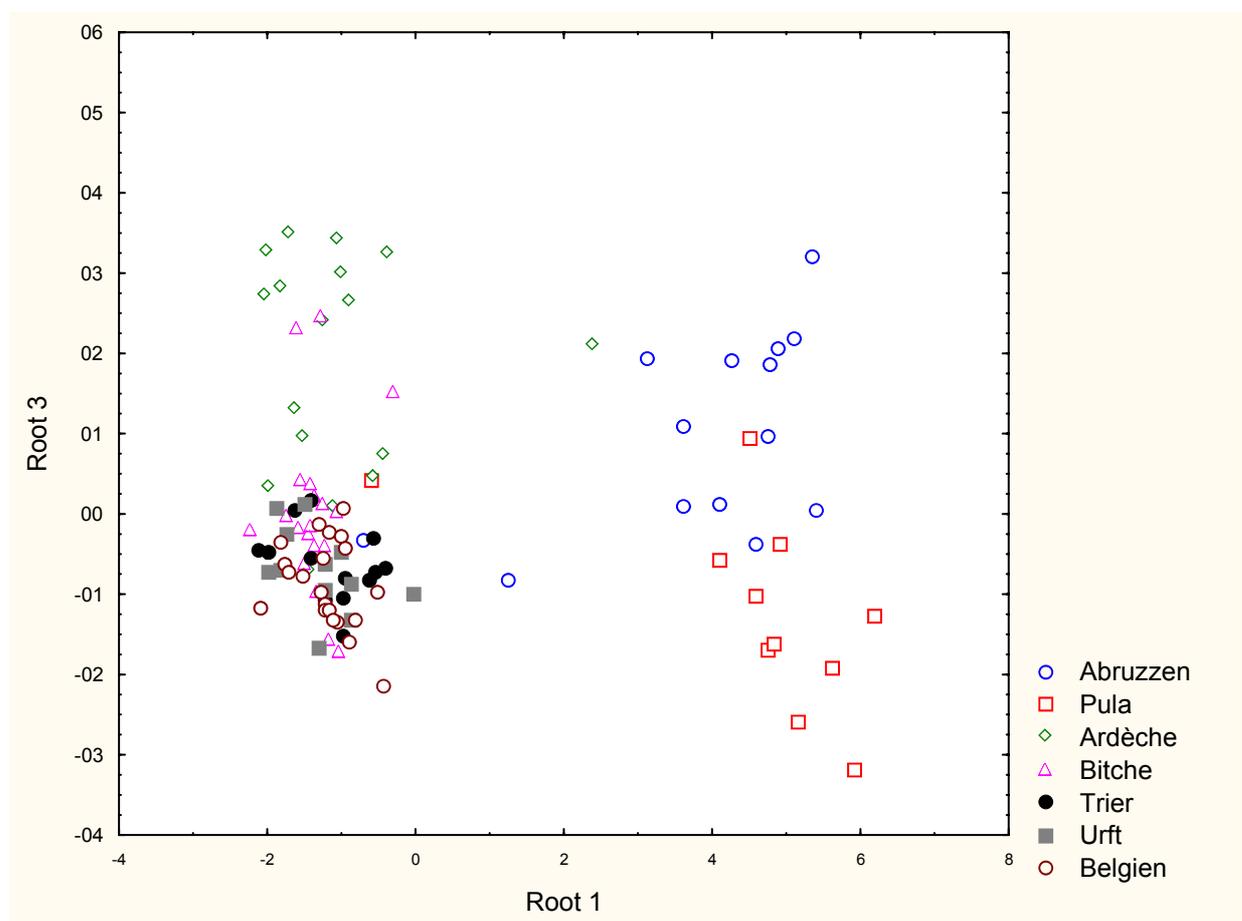


Abb. 51: Diskriminanzanalyse über alle Loci und alle Tiere. Root 1 – Root 3, Root 1: 59,7 %; Root 3: 11,8 %

Deutlich werden bei der Darstellung Root 1 - Root 3 die Populationen Abruzzen, Pula und Ardèche von den übrigen Populationen getrennt. Die übrigen Populationen liegen nahe beieinander, mit Ausnahme einiger Tiere von Bitche (Abb. 51).

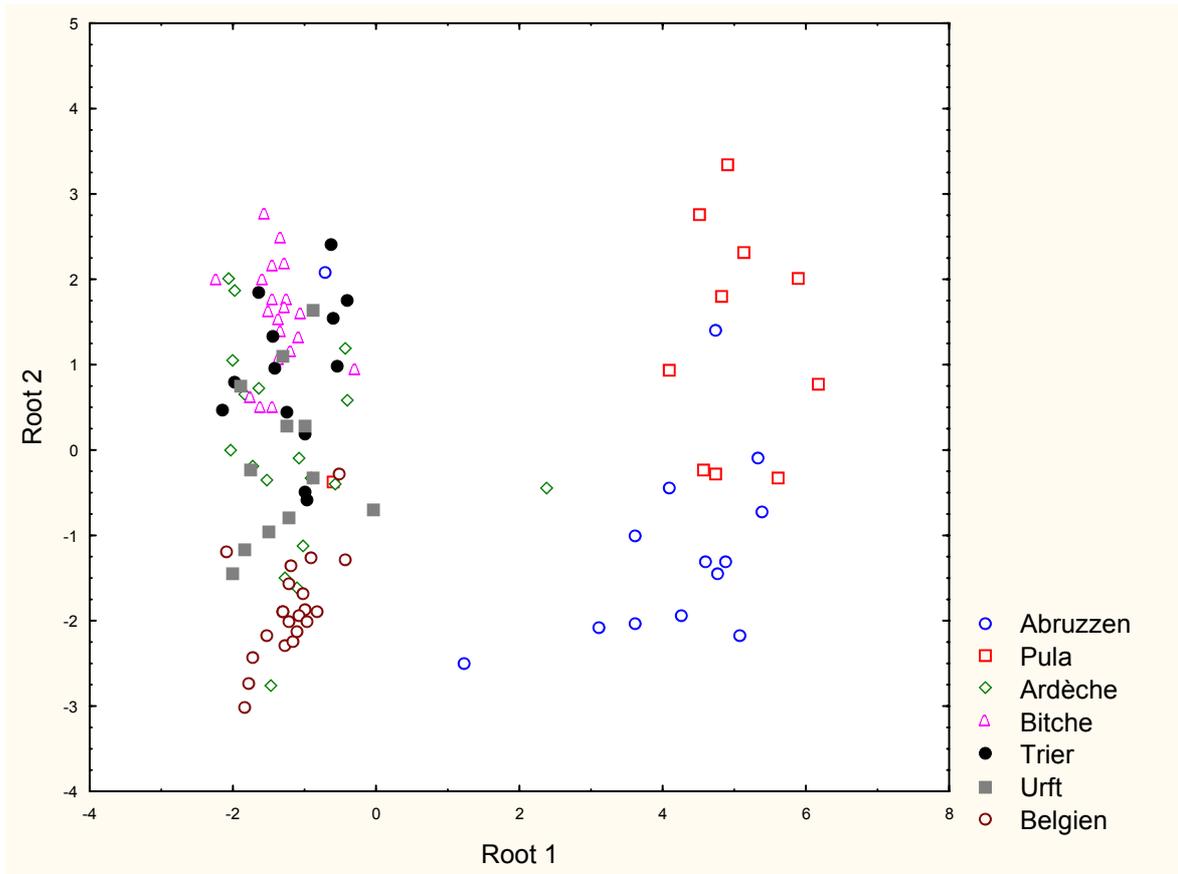


Abb. 52: Diskriminanzanalyse über alle Loci und alle Tiere. Root 1 – Root 2; Root 1: 59,7 %; Root 2: 16,8 %

In Abb. 52 ist die Diskriminanzanalyse Root 1 – Root 2 dargestellt. Ähnlich wie in Abb. 51 werden die Populationen Abruzen und Pula deutlich von den anderen Populationen getrennt. Eine Trennung der Ardèche von den übrigen Populationen erfolgt hier aber nicht, dagegen wird die Population Belgien von den übrigen Populationen getrennt. In Tabelle 42 ist die prozentuale richtige Zuordnung der Tiere zu ihren Standorten angegeben.

Bei der Betrachtung der Klassifikationsmatrix der Diskriminanzanalyse (Tabelle 42) zeigt sich wie viel Prozent der Tiere ihren jeweiligen Populationen richtig zugeordnet werden. Innerhalb der Population Abruzen werden 79 % der Tiere richtig zugeordnet. Jeweils ein Tier wird den Standorten Pula, Bitche und Anhée falsch zugeordnet. 91 % der Tiere werden dem Standort Pula richtig zugeordnet. Nur ein Tier wird dem Standort Ardèche falsch zugeschrieben. Der Population Ardèche werden 67 % der Tiere richtig zugeordnet. Drei Tiere werden dem

Standort Bitche, ein Tier dem Standort Trier und zwei Tiere dem Standort Anhée falsch zugeordnet. Alle falsch zugeordnete Tiere werden einem nördlichen Standort zugeschrieben, keines einem Südlichen. Der Population Bitche werden 75 % der Tiere richtig zugeordnet. Drei Tiere werden dem Standort Ardèche und zwei Tiere dem Standort Trier falsch zugeordnet. Bei Betrachtung der Klassifikationsmatrix für den Standort Trier fällt die mit 46 % geringste richtige Zuordnung auf. Vier Tiere werden dem Standort Bitche, drei dem Standort Urft falsch zugeschrieben. Kein Tier wird einem südlichen Standort und kein Tier wird dem Standort Anhée falsch zugeordnet. Dem Standort Urft werden 67 % der Tiere richtig zugeordnet. Je ein Tier werden den Standorten Bitche und Trier und zwei Tiere werden dem Standort Anhée falsch zugeordnet. Dem Standort Anhée werden mit 95 % die meisten Tiere richtig zugeordnet. Nur ein Tier wird dem Standort Urft falsch zugeschrieben. Zwischen den drei südlichen Standorten Abruzzen, Pula und Ardèche werden mit nur zwei Tieren sehr wenige Fehlzuordnungen vorkommen. Kein Tier der Ardèche wird einem anderen südlichen Standort falsch zugeordnet, und nur ein Tier des Standortes Pula wird der Ardèche zugeschrieben. Die Tiere der Ardèche die falsch zugeordnet werden, werden einer nördlichen Population zugeschrieben. Insgesamt werden 75 % der Tiere richtig ihren Standorten zugeordnet.

Tabelle 42 Klassifikationsmatrix der Diskriminanzanalyse (Root 1-6)

	%t	Abruzzen	Pula	Ardèche	Bitche	Trier	Urft	Anhée
Abruzzen	79	11	1	0	1	0	0	1
Pula	91	0	10	1	0	0	0	0
Ardèche	67	0	0	12	3	1	0	2
Bitche	75	0	0	3	15	2	0	0
Trier	46	0	0	0	4	6	3	0
Urft	67	0	0	0	1	1	8	2
Anhée	95	0	0	0	0	0	1	20
Gesamt	75	11	11	16	24	10	12	25

6.5.7 Faktorenanalyse

Die Faktorenanalyse ist ein datenreduzierendes und hypothesengenerierendes Verfahren, das eine große Anzahl von Variablen gemäß ihrer korrelativen Beziehungen zueinander in wenige, voneinander unabhängige Variablengruppen ordnet (MANLY 1994, BORTZ 1993) (s. Kap. 5.8.2). Ziel der Faktorenanalyse ist

es, den Grad der Komplexität, der durch eine Vielzahl von Variablen dargestellt wird, durch möglichst wenige Faktoren wiedergeben zu können. Diese Variablengruppen werden Faktoren (bzw. Hauptkomponenten in der Hauptkomponentenanalyse) genannt.

Die Rotation dient dazu, die gefundenen Faktoren graphisch so darzustellen, dass eine sinnvolle Interpretation der Daten stattfinden kann.

Die am weitesten verbreitete Faktorenanalyse ist die Hauptkomponentenanalyse (HKA, engl.: principal component analysis, PCA). Bei der HKA-Analyse werden sukzessive die Achsen ermittelt, welche die Varianzen im Datensatz maximal beschreiben. Als erste Hauptkomponente (HK) wird diejenige ausgewiesen, die den größten Teil der Gesamtstreuung aller Variablen im statistischen Sinne erklärt. Die zweite Hauptkomponente ist entsprechend diejenige, die den zweitgrößten Teil erklärt (usw.). Ziel der Hauptkomponentenanalyse ist also die Identifizierung von wichtigen Trends innerhalb der erhobenen Daten.

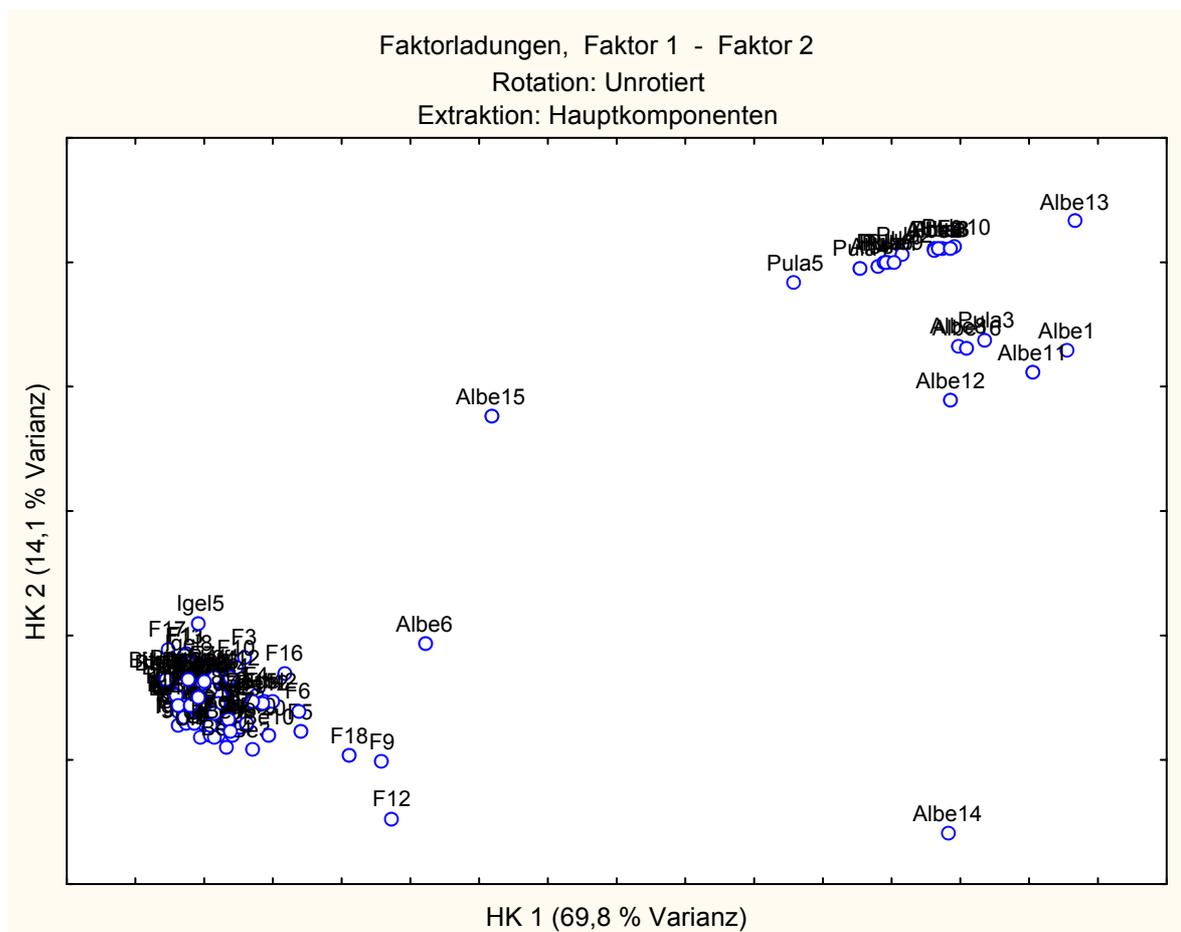


Abb. 53: Faktorenanalyse mittels HKA über alle Tiere, unrotiert

In Abb. 53 ist die Faktorenanalyse über alle Tiere dargestellt. Man erkennt eine deutliche grafische Trennung der Tiere der Abruzzen und Pulas als eine Gruppe von den Tieren der übrigen Populationen, mit Ausnahme einiger Tiere aus der Ardèche. In Abb. 54 ist der Bereich aus Abb. 53 unten links vergrößert dargestellt. In dieser Darstellung ist keine eindeutige Gruppierung ablesbar.

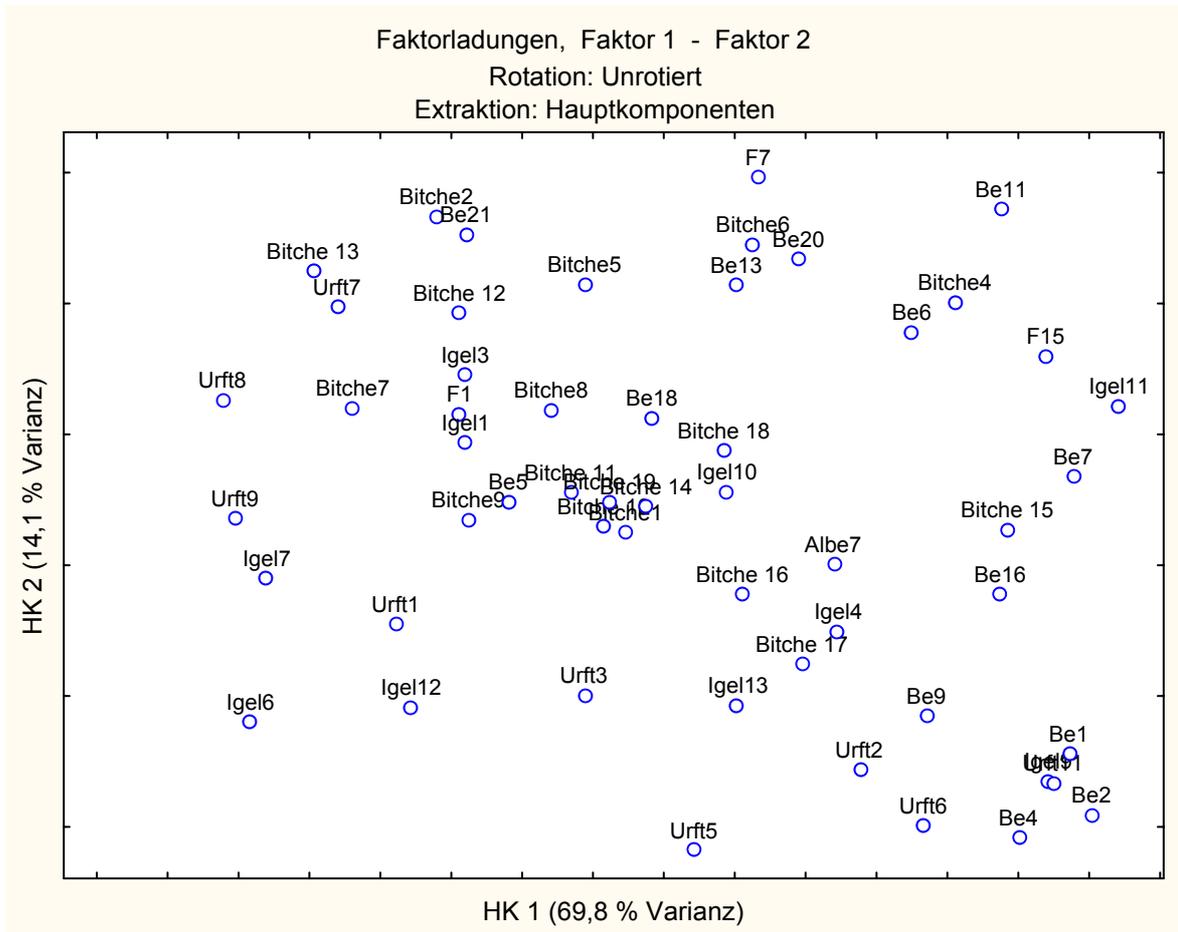


Abb. 54: Faktorenanalyse mittels HKA über alle Individuen (Ausschnitt aus Abb. 53, unten links, vergrößert), unrotiert

Der deutlicheren Darstellung wegen wurde eine Faktorenanalyse über die genetischen Distanzen (NEI 1972) durchgeführt. Wie in Abb. 55 ersichtlich trennen die einzelnen Standorte deutlich mit Ausnahme der Populationen Trier und Urft.

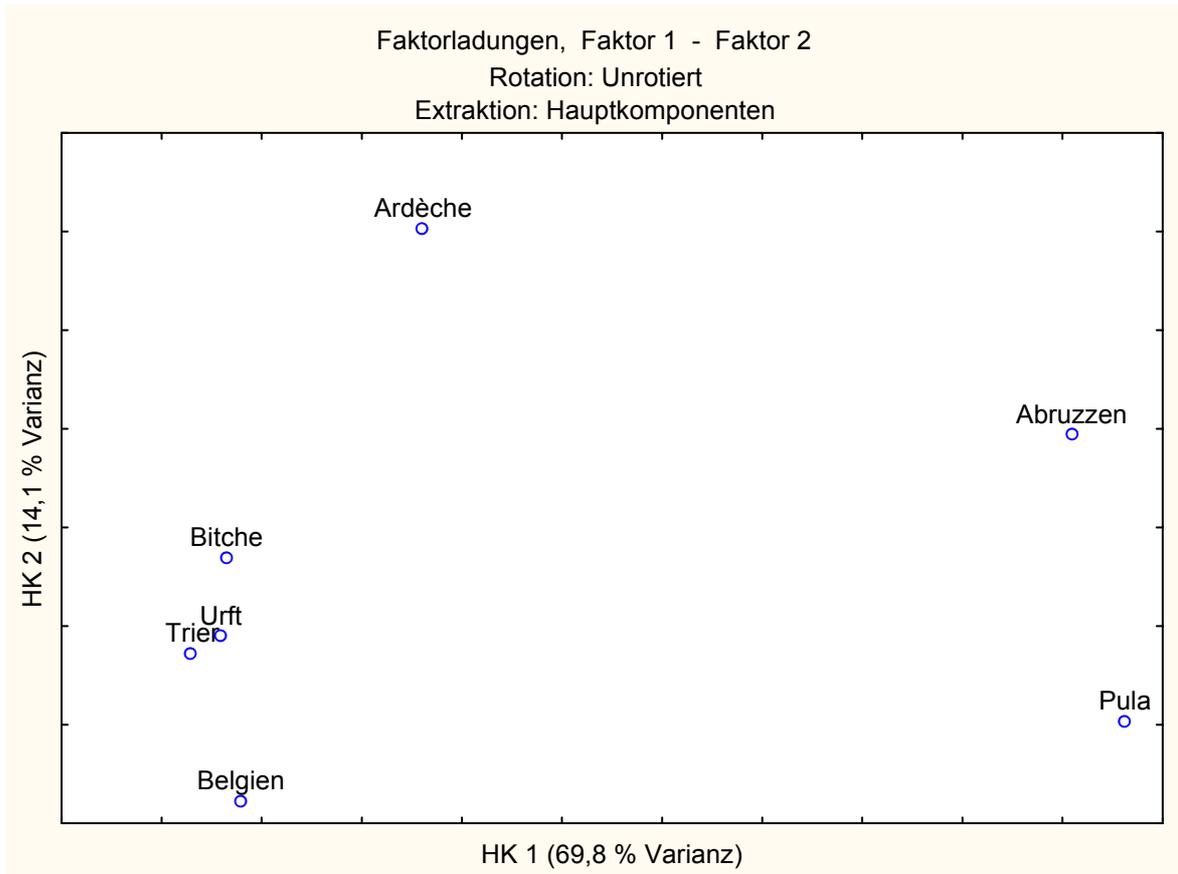


Abb. 55: Faktorenanalyse mittels HKA über genetische Distanzen (NEI 1972), unrotiert

Man erkennt eine deutliche Trennung der Populationen, wobei die Standorte Abruzzen und Pula deutlich von den anderen Populationen separiert werden und der Standort Ardèche intermediär steht. Die Standorte Bitche, Trier, Urft und Belgien können als eine weitere Gruppe zusammengefasst werden. Innerhalb dieser Gruppe zeigt sich aber eine Differenzierung der Standorte, die eine Eigenständigkeit des Standortes Belgien rechtfertigen lässt. Die große Nähe der Standorte Urft und Trier zueinander ist unverkennbar. Interessanterweise wird der Standort Urft dem Standort Bitche näher gestellt als der Standort Trier zu Bitche und der Standort Trier näher zu Belgien gestellt als der Urft, obwohl Trier geographisch näher zu Bitche und Urft näher zu Belgien liegt. Über die Hauptkomponente 1, die 69,8 % der Varianz erklärt, lässt sich eine Trennung der Standorte Bitche, Trier, Urft und Belgien fast nicht darstellen, die Trennung der Standorte wird erst über die Hauptkomponente 2 (14,1 %) erklärt.

In Abb. 56 ist die Faktorenanalyse über 3 Faktoren mittels HKA dargestellt. Hierbei wird die dreidimensionale Darstellung mit der Rotation Varimax dargestellt. Hauptkomponente 1 stellt dabei 69,8 % der Varianz, Hauptkomponente 2 14,1 %, Hauptkomponente 3 7,3 %, dar.

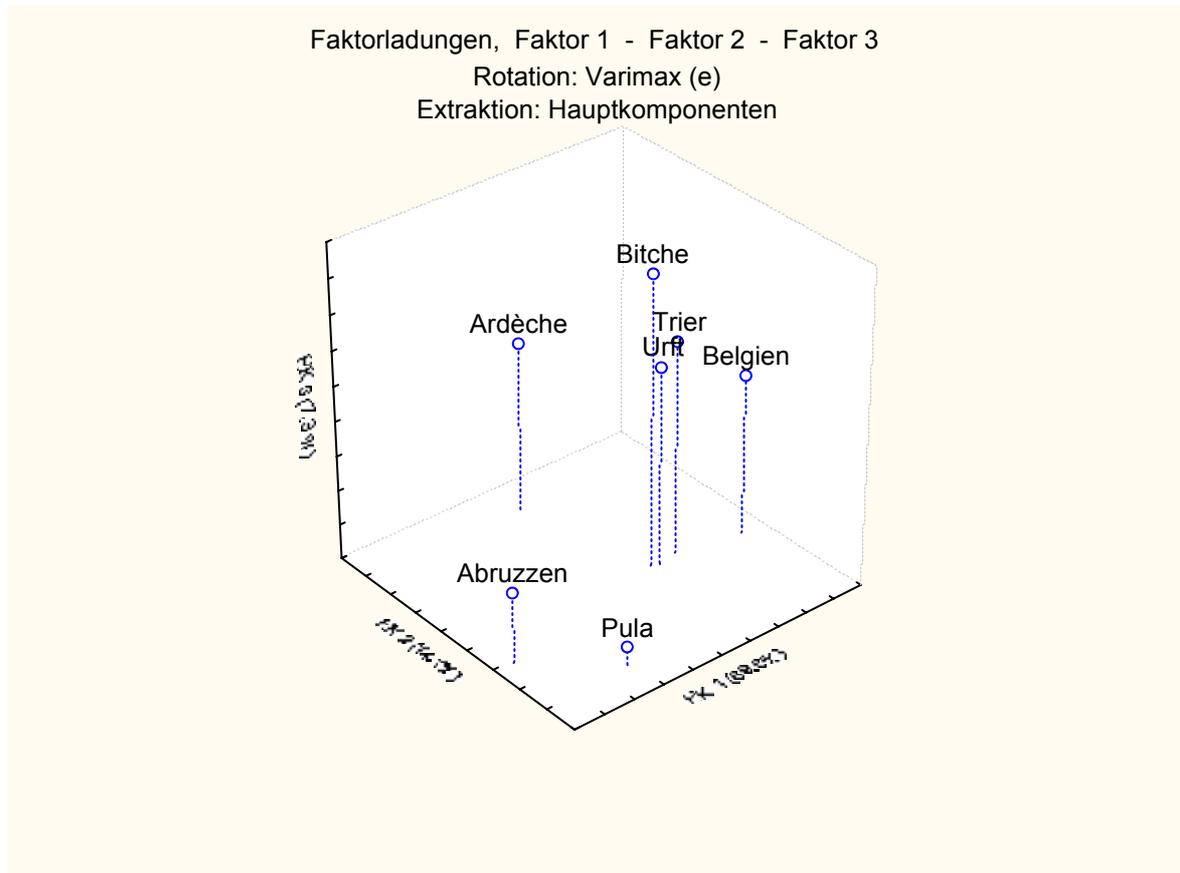


Abb. 56: Faktorenanalyse, HKA über genetische Distanzen (NEI 1972)
dreidimensionale Darstellung, Rotation Varimax

Tabelle 43 Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse, Datenbasis: Genetische Distanzen (NEI 1972)

HK	Eigenwert (EW)	Varianz (%)	Kummul. EW	Kummul. %
1	4,884118	69,77312	4,884118	69,77312
2	0,986465	14,09236	5,870583	83,86548
3	0,509984	7,28548	6,380567	91,15096
4	0,429993	6,14275	6,810560	97,29371
5	0,124348	1,77640	6,934908	99,07011

6.6 Diskussion

Die genetische Struktur von sieben Populationen der Mauereidechse wurde mittels acht spezifischer Mikrosatelliten-Primer untersucht. Als Untersuchungsgebiete wurden Standorte in Italien (Alba fucens, Abruzzen), Kroatien (Pula, Istrien), Südfrankreich (St. Martin d'Ardèche, Provence), Lothringen (Bitche), Rheinland-Pfalz (Igel bei Tier, Mosel), Nordrhein-Westfalen (Gemünd, Urft-See) und Belgien (Anhée, Maas) ausgewählt und beprobt.

Die untersuchten Loci erwiesen sich alle als polymorph und zum Teil als hoch variabel.

Am Locus B3 konnten für alle untersuchten Mauereidechsen insgesamt 38 Marker nachgewiesen werden. Locus B3 erwies sich als der Variabelste aller untersuchten Loci. Der H_o -Wert (*observed Heterozygotie*) beträgt über alle Populationen 0,66, er reicht von 1,0 (Abruzzen) bis zu 0,28 (Bitche). Damit bleibt der in der vorliegenden Arbeit ermittelte H_o -Wert knapp unterhalb des von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) angegebenen H_o von 0,75. Betrachtet man die Allelfrequenzen, so lässt sich eine Gruppierung der Standorte in südliche und nördliche vornehmen. Innerhalb der südlichen Standorte wurden 21 (Abruzzen), 12 (Pula) und 19 (Ardèche) Marker detektiert. An den nördlichen Standorten wurden nur 8 (Bitche), 8 (Trier), 5 (Urft) und 3 (Anhée) Marker nachgewiesen. Die Allelfrequenzen nehmen von Süd nach Nord deutlich ab. Innerhalb der südlichen Standorte weist der Standort Pula mit 12 Markern deutlich weniger Marker als die beiden anderen südlichen Populationen auf. Die Variabilität der Allellängen ist an den beiden südlichen Standorten Abruzzen und Ardèche deutlich größer als an den nördlichen Standorten. Innerhalb der südlichen Standorte weist der Standort Pula mit Allellängen von 157-177 bp eine viel geringere Spannbreite auf als die beiden anderen südlichen Populationen (141-183 bp). Es kommt an den nördlichen Standorten, besonders an der Urft und Anhée mit nur 8 bzw. 3 Markern zur Allelfixierung und zu einem Verlust der genetischen Variabilität. Es wurden für den Locus B3 unter anderem Allele mit nur einem Basenpaar Unterschied detektiert. Dies ist möglich, da es sich um einen zusammengesetzten Mikrosatelliten handelt, bei dem mehrere Mutationen in verschiedenen

Repeateinheiten abgelaufen sein können. So lässt sich ein Ein-Basenpaar-Unterschied mit dem Fehlen eines 4er Repeats und dem Dazukommen eines 3er Repeats oder mit dem Dazukommen eines 2er Repeats und dem Fehlen eines 3er Repeats erklären. GARDNER et al. (2000) untersuchten Mikrosatelliten-Mutationen in 19 Gelegen der Australischen Echse *Egernia stokesii*. Sie fanden einige der bis dahin höchsten beschriebenen Mutationsraten bei 2 Loci. Sie untersuchten 150 Tiere mittels 7 Loci. Pro Locus konnten sie 7 bis 24 Marker nachweisen. Die von ihnen beobachtete Heterozygotie lag zwischen 0,793 und 0,915. Die ermittelten Allellängen variierten pro Locus bis zu 78 bp Länge. Damit sind die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Werte der Markerzahlen mit denen von GARDNER vergleichbar, wobei bei Locus B3 für *Podarcis muralis* sogar 38 Marker nachgewiesen wurden. An allen anderen Loci konnten mit der Untersuchung von GARDNER vergleichbare Markerzahlen nachgewiesen werden.

Am Mikrosatelliten-Primer B4 konnten insgesamt 13 Marker detektiert werden. Der über alle Populationen ermittelte beobachtete Heterozygotie von 0,28 liegt deutlich unter dem von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) ermittelten Wert (H_o : 0,53). Nur die Populationen Ardèche (0,44) und Bitche (0,50) haben ähnlich hohe H_o -Werte wie von NEMBRINI & OPPLIGER angegeben. Die Populationen Abruzzen (0,14), Pula (0,27), Trier (0,31), Urft (0,16) und Anhée (0,10) haben sehr geringe H_o -Werte. Die Anzahl der Marker ist mit 13 mehr als doppelt so groß als von NEMBRINI & OPPLIGER beschrieben (6 Allele). Bei Betrachtung der Allelfrequenzen lässt sich ein ähnliches Bild wie beim Locus B3 mit Abnahme der Markerzahl von Süd nach Nord beobachten. Der Standort Pula weist mit 4 verschiedenen Allelen deutlich weniger Allele auf als die beiden anderen südlichen Standorte Abruzzen (8 Allele) und Ardèche (9 Allele). Die nördlichen Standorte weisen mit 5 (Bitche), 3 (Trier), 4 (Urft) und 2 (Anhée) deutlich reduzierte Allelfrequenzen auf. Es kommt an den nördlichen Standorten zur Allelfixierung und zu einem Verlust der genetischen Variabilität. Auch am Standort Pula kommt es mit nur 4 Allelen zu einer Allelfixierung und einer eingeschränkten genetischen Diversität.

Am Microsatelliten-Locus B7 wurden 20 Marker detektiert. NEMBRINI & OPPLIGER (2003) gaben eine H_o von 0,80 an. Sie ermittelten 4 verschiedene Allele bei 5 Tieren. Mit 20 Allelen beträgt der von mir ermittelte Wert das 5-fache. In der vorliegenden Arbeit wurde über alle Populationen ein H_o -Wert von 0,61 ermittelt. Die Allelfrequenzen sind über alle Populationen gleichmäßig verteilt. Bei den Standorten Anhée und Bitche kommt es mit nur 4 bzw. 6 ermittelten Markern zu einer leichten Allelfixierung. Alle anderen Standorte weisen mit 8 bis 11 Markern eine vergleichbare Markerzahl auf. Es lässt sich, anders als bei den Loci B3 und B4, keine eindeutige Populationsstrukturierung in eine südliche und eine nördliche Gruppe nachweisen. Alle Allele, die in Anhée detektiert werden, treten auch am Standort Ardèche auf. So kommt das Allel mit 137 bp nur an diesen beiden Standorten vor. Eine Verbindung der beiden Standorte, zumindest in historischer Zeit, ist somit gegeben.

Am Locus C9 konnten insgesamt 19 verschiedene Marker ermittelt werden. Es wurden Allellängen von 130 bis 181 Basenpaaren (bp) detektiert. Von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) wurden 4 verschiedene Allele bei 14 Tieren detektiert. Die in der hier vorliegenden Arbeit ermittelte H_o ist mit 0,50 identisch mit der von NEMBRINI & OPPLIGER beschriebenen H_o . Mit 19 ermittelten verschiedenen Allelen weicht der Wert in der vorliegenden Arbeit erheblich von dem von NEMBRINI & OPPLIGER angegebenen Wert (4) ab. Lediglich an den nördlichen Standorten wurden nur 4 (Bitche, Trier, Urft) bzw. 2 Allele (Anhée) ermittelt. An den südlichen Standorten wurden 10 (Abruzzen), 6 (Pula) und 8 (Ardèche) Marker ermittelt. Ähnlich wie bei den beiden Loci B3 und B7 lässt sich eine Abnahme der Allelfrequenzen von Süd nach Nord nachweisen, wobei auch wieder der Standort Pula mit 6 ermittelten Allelen eine geringere Allelfrequenz aufweist als die beiden anderen südlichen Populationen. Am Standort Anhée lässt sich deutlich eine Allelfixierung nachweisen. Bei den nördlichen Populationen lässt sich eine verringerte genetische Variabilität erkennen. Von allen ermittelten Allelen kommt nur Allel 1 (130 bp) in den südlichen und in einer nördlichen Population (Urft) vor. Ansonsten konnten an den südlichen und den nördlichen Standorten ausschließlich populationsspezifische Marker nachgewiesen werden. Dies lässt sich mit einer Mutation im Bereich zwischen den Mikrosatelliten-Repeats erklären.

Da es sich um einen zusammengesetzten Mikrosatelliten mit zwei 3er Repeats und drei Basenpaaren zwischen den Repeats handelt, lässt sich der Ein-Basenpaar-Unterschied mit dem Wegfall oder dem Dazukommen eines Basenpaares in der Region außerhalb des Mikrosatelliten erklären. Dies scheint umso wahrscheinlicher, da der Ein-Basenpaar-Unterschied zwischen Tieren der südlichen und Tieren der nördlichen Populationen auftritt. Tiere, bei denen z. B. das Allel mit 154 bp detektiert wurde, kommen nur in den südlichen Populationen Abruzzan, Pula und Ardèche vor, das 155 bp Allel kommt nur in den nördlichen Populationen Bitche, Trier, Urft und Belgien vor.

Mit dem Mikrosatelliten-Primer C24 wurden insgesamt 14 Marker mit Allellängen von 171 bis 298 bp detektiert. Diese Allellängenunterschiede sind größer als von GARDNER et al. (2000) beschrieben. Sie konnten Allellängenunterschiede von maximal 78 bp bei 2 Loci der Australischen Echse *Egernia stokesii* nachweisen. Die populationstypischen Allele 1 (171 bp) und 14 (298 bp) wurden nur am Standort Abruzzan nachgewiesen. Dieser Standort ist für die große Spanne (127 bp) der Allellängen verantwortlich. Über die anderen Standorte beträgt die Spanne der Allellängen lediglich 20 bp (190-210 bp). Allel 1 (171 bp) ist 19 bp kürzer als das nächst größere Allel, Allel 14 (298 bp) ist 88 bp länger als das nächst kürzere Allel. Welche Art von Mutation die großen Längenunterschiede der Allele verursacht, kann nicht angegeben werden, da der Locus in der vorliegenden Arbeit nicht sequenziert wurde.

Von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) wurde die Größe des geklonten Allels mit 205 Basenpaaren, 4 verschiedene Allele bei 13 Tieren, sowie eine H_0 von 0,61 angegeben. Mit 14 verschiedenen Allelen wurden mehr als dreimal so viele Allele detektiert, als von NEMBRINI & OPPLIGER angegeben. Dies lässt sich damit erklären, dass in der vorliegenden Arbeit mehrere Standorte und mehr Tiere untersucht wurden. Über alle Populationen hinweg wurde ein H_0 -Wert von 0,51 ermittelt. Marker 10 entspricht dem von NEMBRINI & OPPLIGER geklonten Allel mit 204 bp. Dieses Allel wurde in der vorliegenden Untersuchung am häufigsten detektiert. Am Standort Pula fehlt es völlig. Es wurden Allele mit nur einem Basenpaar Unterschied detektiert. Dies ist möglich, da es sich beim Locus C24 um einen zusammengesetzten Mikrosatelliten handelt, bei dem mehrere

Mutationen in verschiedenen Repeateinheiten abgelaufen sein können. So lässt sich ein Ein-Basenpaar-Unterschied mit dem Wegfall eines 4er Repeats und dem Dazukommen eines 3er Repeats erklären. Im Gegensatz zu den Loci B3, B4 und C9 kommt es beim Locus C24 nur eingeschränkt zu einer Abnahme der Markerzahl von Süd nach Nord. Der Standort Abruzzen zeigt die meisten Allele (9), der Standort Anhée zeigt nur 3 Allele weniger, der Standort Trier zeigt mit 3 Markern eine deutliche Reduzierung der Allelfrequenz. Allel 10 (210 bp) kommt nur bei Tieren der Standorte Bitche und Anhée vor, Allel 11 (207 bp) nur bei Tieren der Standorte Pula und Bitche. Die Allele 4 und 12 sind exklusive Marker des Standortes Anhée. Solche populationstypischen Marker können nur über eine länger dauernde Einschränkung des Genflusses zwischen den Standorten erklärt werden.

Bei der Auswertung der Fragmentlängen des Locus A7 fielen neben den erwarteten Allelen von etwa 182 bp besonders bei Tieren der Standorte Abruzzen und Pula Fragmentlängen von etwa 400 bp auf. Um eine Fehlamplifikation bei der PCR auszuschließen, wurde die Annealing Temperatur schrittweise von den empfohlenen 61°C bis auf 63°C erhöht. Die Amplifikation der Marker bei ca. 400 bp erwies sich als gut reproduzierbar, eine Fehlamplifikation eines Nebenproduktes konnte ausgeschlossen werden. Bei der Auswertung der Fragmente mittels der Kapillarelektrophorese mit dem ABI PRISM™ 310 konnte bestätigt werden, dass es sich um einen Mikrosatelliten handelt. Zur weiteren Abklärung wurden einige Mikrosatelliten-Loci von etwa 400 bp sequenziert. Auch dabei konnte der Mikrosatellit eindeutig nachgewiesen werden. Allellängenunterschiede von 252 bp Länge sind mehr als dreimal größer als von GARDNER et al. (2000) bei 2 Loci bei *Egernia stokesii* beschrieben. Ein solch großer Längenunterschied lässt sich durch eine Insertion eines größeren Basenpaarbereichs erklären.

Die Sequenzierung erfolgt nach SANGER im Cycle Sequencing Verfahren (s. Kap. 5.6.2) unter Verwendung der DNA Taq Polymerase und fluoreszenzmarkierten Primern (*Dye Primer Sequenzung*). Eine im Manual des ABI PRISM™ 310 empfohlene Denaturierung der Cycle-Sequencing-Produkte bei 94°C wurde nach

Rücksprache mit Applied Biosystems nicht durchgeführt. Eine Denaturierung ist überflüssig, da nur Einzelstränge amplifiziert werden.

Von der Sequenzierungssoftware wurde die Basenfolge der Forward-Sequenzierung mit der Basenfolge der Revers-Sequenzierung verglichen und der Unterschied in der Basenfolge mittels ** markiert. Durch die Sequenzierung konnte nachgewiesen werden, dass es sich um einen Mikrosatelliten handelt, bei dem wahrscheinlich mehrere Mutationen stattgefunden haben. Bei den Mutationen handelt es sich zum einen um einen Basenaustausch (** in Abb. 48) von GC und CG zu der von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) angegebenen Basenfolge. Um weitere Unterschiede erkennen zu können, wurde die Basenabfolge des Sequenzierungsergebnisses (Probe Pula 7, Abb. 47) mit der Literatur (NEMBRINI & OPPLIGER 2003) verglichen. In der jeweils oberen Reihe steht das Sequenzierungsergebnis, in der jeweils unteren Reihe steht die erwartete Basenabfolge aus der Literatur. Abweichungen in der Basenabfolge sind in der unteren Reihe fett gedruckt.

FOR-PRIMER: GTT AGG ATG CCT 19 mal GT
 FOR-PRIMER: **GCG CTG AAA CTT CCT GT** *GTT AGG AAT GGC A* 18 mal *GT*
 ATT TCA TGA CTC CGA TGG GGC TGC CCC TGC TGC CAC CTT CTG TGT
ATA TCA TGA CTC CGA TGG GGC TAC CCC TGC TGC CAC CTT CTG TGT
 ATT GCA TTG CAC TAG ATC AGG GGT CTG CAA C
ACT GCA TTG CAC TAG ATG GTC CTT GGG ATA C –REV-Primer

Die in der Literatur aufgeführten Basen nach dem Forward-Primer (GCG CTG AAA CTT CCT GT) fehlen im Sequenzierungsergebnis völlig.

Die folgenden sequenzierten Basen gehen über den Bereich des Revers-Primers in der Literatur hinaus. Übereinstimmungen im Bereich nach dem Revers-Primer zwischen Literatur und Sequenzierung konnten keine gefunden werden.

CT TTA AGA CAA AAA GAG CCA AGA AAA AAA AAA CTG GGA GCC GCA
 AAA CCA TTG CGA CAT TTA AA ACA GTG GGG AGT GTC GGG GCA CAC
 AAT GCG GCT CCT CCC CTT GCT AGT ATC CTC CCC GGA GCC GCG GCA
 AAG GTG TAA AAG AGC CAC ATG CGG CTC CGG AGC CCG GGG TTT GCT

CAC CCC TGC ACT AGA TGG TCC TTG GAC TAC CCT TCC CCT CTG CAA T -
REV-Primer

Im Gegensatz zur Literatur lagert sich bei einigen Tieren aus den Abruzzen und Pula der Reverse-Primer erst nach einer zusätzlichen etwa 200 Basenpaar langen Sequenz an. Da die Sequenzierung vom Forward-Primer sowie vom Revers-Primer ausgehend bis auf den Basenaustausch (**) übereinstimmen, kann von einer korrekten Sequenzierung des Locus ausgegangen werden.

In Abb. 39 sind deutlich die großen Höhenunterschiede der Peaks des Mikrosatelliten erkennbar. Diese würden den Verdacht nahe liegen lassen, dass es sich nicht um einen heterozygoten Mikrosatelliten, sondern bei einem der Peaks um ein Nebenprodukt handelt. Im obigen Fall ist der Höhenunterschied durch die extrem weit entfernten Peaks (206 bp Längenunterschied) zu erklären. Die großen Höhenunterschiede der Peaks erklären sich durch die größere Halbwertsbreite bei zunehmender Retentionszeit. In Abb. 40 ist ein heterozygoter Mikrosatellit (Locus A7, Probe Pula 2) mit Allellängen von 394 und 400 bp abgebildet. Deutlich sichtbar sind im Gegensatz zur Probe Pula 3 (Abb. 39) die gleich hohen Peaks des heterozygoten Mikrosatelliten-Locus. Der Längenunterschied zwischen beiden Peaks in Abb. 41 beträgt nur 6 bp. Diese gleich hohen Peaks bestätigen bei annähernd gleicher Allellänge, dass es sich um einen heterozygoten Mikrosatelliten handelt. In Abb. 41 ist ein heterozygoter Mikrosatellit Locus A7 mit Allellängen von 186 und 198 bp dargestellt. Die Höhenunterschiede der amplifizierten Peaks sind geringer ausgeprägt als in Abb. 39. Diese geringere Höhendifferenz ist durch den geringeren Längenunterschied der Allele (Differenz von 12 bp) zu erklären. Durch das „sägezahnartige“ Ansteigen der beiden Peaks ist eine Identifizierung als heterozygoter Mikrosatelliten-Locus eindeutig möglich.

Am Mikrosatelliten-Primer A7 konnten insgesamt 22 Marker mit Längen von 168 bis 410 bp detektiert werden. NEMBRINI & OPPLIGER (2003) wiesen 7 Allele bei 14 untersuchten Tieren nach. Die Größe des geklonten Allels betrug 182 bp. Sie gaben einen H_o von 0,714 für den Locus A7 an. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Heterozygotie liegt zwischen 0,3 und 0,9. Den höchsten H_o -Wert erreicht die Population Bitche. Mit 22 verschiedenen Allelen liegt die Allelzahl mehr als doppelt so hoch als von NEMBRINI & OPPLIGER (2003) angegeben. Über alle

Populationen hinweg wurde ein H_0 -Wert von 0,63 ermittelt. Es konnte kein Allel der Länge 182 bp (Größe des von NEMBRINI & OPPLIGER geklonten Allels) in der vorliegenden Arbeit detektiert werden. Nur bei Tieren der beiden südlichen Populationen Abruzzen und Pula (außerdem bei einem Tier aus der Ardèche) konnten die deutlich größeren Marker 14 bis 22 (390 bp – 410 bp) nachgewiesen werden. Diese Allele wären, wegen der südlichen Lage, auch bei Tieren des Standortes Ardèche öfters zu erwarten gewesen. Eine länger andauernde Einschränkung des Genflusses zwischen der südlichen Population Ardèche einerseits und den beiden Populationen Abruzzen und Pula andererseits, lässt sich somit mit dem Locus A7 nachweisen.

Ähnlich wie bei den Loci B3, B4, C9 und eingeschränkt C24 lässt sich eine Abnahme der Allelfrequenzen von Süd nach Nord nachweisen, wobei auch wieder der Standort Pula mit 7 ermittelten Allelen eine geringere Allelfrequenz aufweist als die beiden anderen südlichen Populationen (Abruzzen: 14 Marker, Ardèche: 10 Marker). An den nördlichen Standorten wurden in Bitche 6, in Trier 6, in Urft 4 und in Anhée nur 3 Marker nachgewiesen. Die Längenvariation der Allele ist an den beiden südlichen Standorten Abruzzen, Pula und Ardèche deutlich größer als an den nördlichen Standorten. Alle Allele der nördlichen Populationen kommen auch am Standort Ardèche vor, mit Ausnahme des Allels mit 196 bp, welches nur am Standort Bitche auftritt. Insgesamt kann man von einer deutlich höheren genetischen Variabilität der südlichen Standorte gegenüber den nördlichen Standorten für den Locus A7 ausgehen. Besonders die beiden südlichen Standorte Abruzzen und Pula müssen in historischer Zeit in Verbindung gestanden haben, da sonst nicht die Mikrosatelliten-Marker mit 390-410 bp Länge an beiden Standorten vorzufinden wären. An den nördlichen Standorten kommt es zu einer Allelfixierung und zum Verlust der genetischen Diversität, welche beim Standort Anhée am deutlichsten ausgeprägt ist.

Am Locus Lv 4-alpha wurden 16 Marker detektiert. Von ESTOUP et al. (1999) wurden für *Podarcis muralis* Allellängen von 130-158 bp, 14 verschiedene Allele bei 16 untersuchten Tieren vom Mont Lozère, sowie eine beobachtete Heterozygotie von 0,91 angegeben. Der H_0 -Wert von 0,91 konnte in der vorliegenden Untersuchung bei keiner Population ermittelt werden. Den höchsten

H_0 -Wert erreichen die Populationen Urft und Bitche mit jeweils 0,75. Über alle Standorte wurde ein H_0 -Wert von 0,61 ermittelt. Mit 16 verschiedenen detektierten Allelen wurden 2 mehr als von ESTOUP ermittelt. Mit detektierten Allellängen von 98 bis 146 Basenpaaren weichen die ermittelten Allellängen von denen, die ESTOUP ermittelt hat, ab (130-158 bp). An der Ardèche, dem Probenahmegebiet das dem Mont Lozère am Nächsten liegt, wurden Allellängen von 98 bis 126 bp ermittelt. Sie sind alle kürzer als von ESTOUP angegeben. Wie bei den Loci B3, B4, C9, A7 und mit Einschränkungen C24 lässt sich eine deutliche Abnahme der Allelfrequenzen von Süd nach Nord beobachten. In den südlichen Standorten wurden bei Tieren aus den Abruzzern 13, am Standort Pula 8 und am Standort Ardèche 10 Marker detektiert. In den nördlichen Populationen wurde am Standort Bitche 7, am Standort Trier 5, am Standort Urft 8 und am Standort Anhee nur 3 Marker ermittelt. Es kommt am Standort Urft zu einer Zunahme der Marker gegenüber den restlichen nördlichen Standorten. Am Standort Anhee werden, wie bei fast allen anderen Loci auch (mit Ausnahme Locus C24), die wenigsten Marker nachgewiesen. Auch über den Locus Lv 4-alpha lässt sich eine Allelfixierung und eine Abnahme der genetischen Diversität in den nördlichen Populationen nachweisen. Alle Allele, die in den nördlichen Populationen nachgewiesen werden konnten, sind mit Ausnahme des Allels 108 bp (Bitche), auch am Standort Ardèche vorhanden. Betrachtet man in Bezug auf die nördlichen Populationen den Standort Abruzzern, so sind auch hier, mit Ausnahme des Allels von 128 bp, alle Allele detektiert worden. Eine Verbindung zwischen den nördlichen Standorten und den Populationen Ardèche sowie Abruzzern kann somit angenommen werden. Am Standort Pula „fehlen“ 4 Allele, die in nördlichen Populationen nachgewiesen wurden. Zwei Allele kommen nur am Standort Pula vor, 3 nur am Standort Abruzzern. Diese populationsspezifischen Allele lassen auf eine länger andauernde Separierung der Populationen schließen.

Am Locus Lv 3-19 konnten 16 Marker detektiert werden. Mit detektierten Allellängen von 141 bis 173 bp, 16 Markern und einem H_0 -Wert von 0,71 weichen die Werte nur gering von denen durch ESTOUP et al. (1999) für *Podarcis muralis* ermittelten Werten ab. Lediglich die Markerzahl ist doppelt so hoch wie von ESTOUP angegeben. An der Ardèche wurden gleich viele Marker wie von

ESTOUP am Mont Lozère detektiert. Bei Betrachtung der Allelfrequenzen fällt auf, dass die Population von Pula (12 ermittelte Marker) mehr Allele als die beiden anderen südlichen Populationen (Abruzzen 9 Marker, Ardèche 8 Marker) besitzt. An den nördlichen Standorten wurden am Standort Bitche 7, am Standort Trier 7, am Standort Urft 6 und am Standort Anhee auch 6 Marker detektiert. Eine Abnahme der Allelfrequenzen von Süd nach Nord ist auch mit dem Marker Lv 3-19 nachweisbar, die Abnahme fällt aber nicht so deutlich aus wie bei den Loci B3, B4, B7, C9, A7 und Lv 4-alpha. Populationsspezifische Marker wurden nur für die Population Pula nachgewiesen (167, 169, 171, 173 bp).

Über allen Standorten lässt sich über die Allelfrequenzen eine deutliche Abnahme der Markerzahl von Süd nach Nord beobachten (Abb. 57). Die höchsten Markerzahlen und somit die höchste genetische Diversität besitzen die beiden südlichen Standorte Abruzzen (95 Marker) und Ardèche (78 Marker). Je weiter nördlich der Probenahmestandort liegt, desto geringer ist die nachgewiesene Markerzahl. Die drei nördlichen Standorte Bitche, Trier und Urft besitzen mit 42-47 Markern eine ähnlich hohe Markerzahl, der Standort Anhee weist mit 29 deutlich weniger Marker auf als alle anderen Populationen. Gegenüber dem Standort Abruzzen besitzt der Standort Anhee weniger als ein Drittel an Markern.

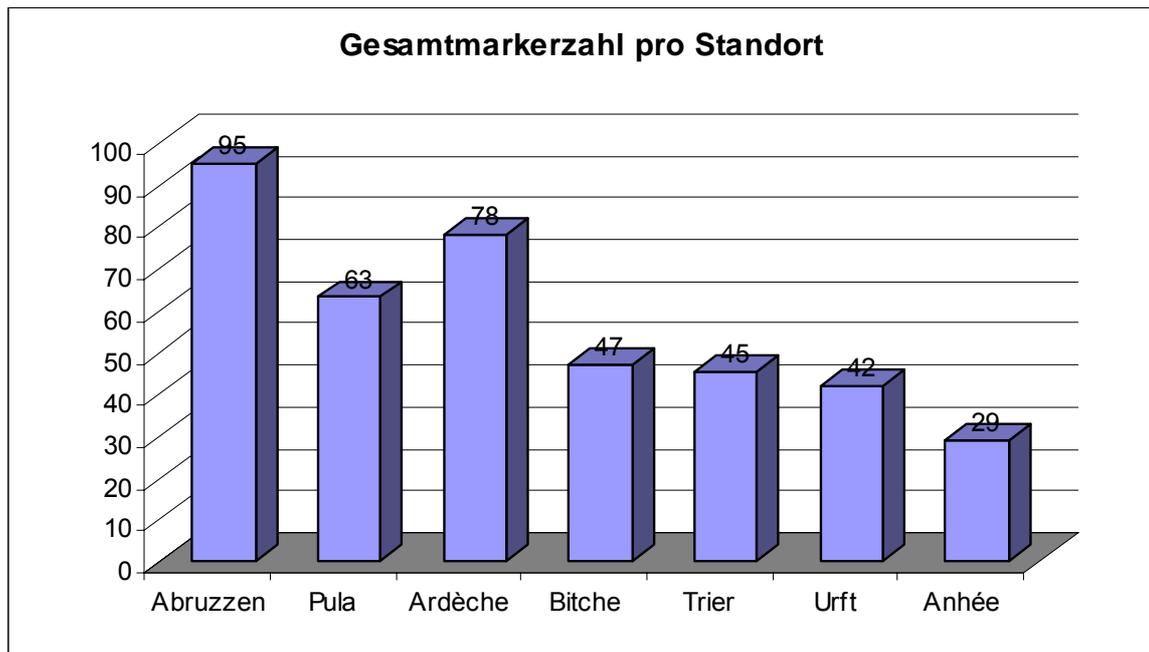


Abb. 57: Gesamtmarkerzahl pro Standort, alle Loci

Das Hauptaugenmerk der Untersuchungen lag auf der Ermittlung der genetischen Diversität. Sie beschreibt die Vielfalt in der genetischen Zusammensetzung der *Podarcis muralis*-Populationen (Kap. 5.7 und 6.5). Die genetische Diversität ist das Ergebnis der Evolution und folglich das Resultat der Wirkung verschiedener Evolutionsfaktoren, insbesondere von Mutation, Selektion, genetischer Drift und der Migration von Populationen.

Bei Betrachtung der Heterozygotie-Statistik zeigt sich in allen untersuchten Populationen eine durchschnittliche beobachtete Heterozygotie (H_o). Population Anhée weist dabei mit 0,44 die geringste, die Populationen Ardèche und Bitche weisen mit 0,67 beziehungsweise 0,62 die höchste beobachtete Heterozygotie auf. Die H_{exp} -Werte liegen über alle Loci höher als die ermittelten H_o -Werte. Dies deutet auf Inzucht („Inbreeding“) hin. Aus den ermittelten Heterozygotie-Werten lässt sich eine durchschnittliche Heterozygotie über alle Populationen ableiten und eine gewisse Inzucht („Inbreeding“) besonders für Population Anhée interpretieren.

Betrachtet man im Folgenden die genetischen Ähnlichkeiten, so wird die geringste genetische Ähnlichkeit mit 0,205 zwischen den Populationen Pula und Bitche berechnet. Die größte genetische Ähnlichkeit besteht mit 0,782 zwischen den

Populationen Trier und Urft. Die größte genetische Ähnlichkeit für Population Abruzzen besteht zur Population Pula mit 0,555, die zweitgrößte genetische Ähnlichkeit für Population Abruzzen besteht mit 0,425 zur Population Ardèche. Auffallend sind die geringen genetischen Ähnlichkeiten (unter 0,33) zwischen der Population Pula und allen anderen Populationen (außer zum Standort Abruzzen). Die Population Bitche hat trotz geographisch geringerer Distanz zur Population Anhéé eine geringere genetische Ähnlichkeit als zur viel weiter entfernten Population Ardèche. Relativ hoch sind die genetischen Ähnlichkeiten zwischen den Populationen Trier und Urft, Trier und Anhéé sowie Urft und Anhéé, wobei bei vergleichbarer geographischer Entfernung die genetischen Ähnlichkeiten zur Population Anhéé bei allen Populationen abnimmt. Eine Korrelation der genetischen Ähnlichkeiten und der geographischen Lage der Populationen zueinander ist, mit Ausnahme der Population Anhéé, gegeben. Die genetische Ähnlichkeit zwischen den Populationen Urft und Anhéé ist viel geringer (um eine Differenz von 0,21) als zur Population Trier, trotz vergleichbarer geographischer Entfernung.

Im Weiteren werden die genetische Distanz und der Genfluss zwischen den untersuchten Populationen betrachtet. Genfluss ist der Austausch von Allelen zwischen Populationen durch Austausch von Individuen (Migration). Die wichtigste Auswirkung von Genfluss ist die Einbringung neuer Allele und somit die Erhöhung der genetischen Variabilität. Zur Untersuchung des Genflusses werden aufgrund ihrer geographischen Lage Populationen zu Gruppen zusammengefasst. Dabei liegt es nahe, südliche Populationen (Abruzzen, Pula, Ardèche) und nördliche Populationen (Bitche, Trier, Urft und Anhéé) zu unterscheiden. Der Genfluss kann unter anderem durch die „Inzucht-Werte (F_{IS}), die genetische Distanz (F_{ST}) und die Genflussrate (Nm^*) beurteilt werden. Bei der Betrachtung der „Inzucht-Werte (F_{IS}) kann eine nur geringe Separierung der Gruppen beobachtet werden. Dies ändert sich auch nicht, wenn man Population Ardèche zur nördlichen Gruppe hinzunimmt. Betrachtet man die F_{ST} -Werte zur Beschreibung der genetischen Distanz, so lassen sich eine vergleichsweise geringe genetische Distanz zwischen den südlichen Populationen und eine relativ große genetische Distanz innerhalb der nördlichen Gruppe und zwischen allen Populationen nachweisen. Über Genflussschätzungen wird geprüft, ob sich die Populationen in Gruppen mit

hohem und geringem genetischen Austausch gliedern lassen. Die Genflussrate ist innerhalb der Gruppe 1 (Süd, $Nm^* = 2,1649$) höher als in Gruppe 2 (Nord, $Nm^* = 1,2852$). Sie ist fast doppelt so hoch als über alle Populationen ($Nm^* = 1,0974$).

Im Folgenden wird die Gruppenzusammensetzung anders gewählt. In Gruppe 1 werden die Populationen Abruzzen und Pula zusammengefasst und den restlichen Populationen (inkl. Ardèche) gegenübergestellt. Innerhalb der Gruppe 1 steigt der Genfluss auf 3,420, innerhalb der Gruppe 2 bleibt die Genflussrate mit 1,262 fast unverändert. Somit lässt sich innerhalb der drei südlichen Standorte eine engere genetische Verbindung zwischen den Standorten Abruzzen und Pula als zum Standort Ardèche ableiten. Dass die Genflussrate zwischen den nördlichen Standorten annähernd gleich bleibt, ist umso bedeutender, da mit dem Standort Ardèche eine ca. 600 km entfernte Population mit einbezogen wird. Hier wäre eine Abnahme der Genflussrate zu erwarten gewesen.

Mit Hilfe des Genflusses wird überprüft, ob eine Differenzierung der Populationen über die geographische Entfernung gegeben ist. (*Isolation by distance* – Modell). Grundlage dieses Modells ist, dass mit zunehmender geographischer Entfernung die Wahrscheinlichkeit des Genaustauschs sinkt und somit die Maße der genetischen Distanz ansteigen. Der Zusammenhang von Genfluss und geographischer Entfernung ist mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,596$ positiv. Es besteht ein signifikanter Zusammenhang (Mantel-Test: $p < 0,0001$). Damit kann ein gewisser Einfluss der geographischen Entfernung auf die genetische Differenzierung nachgewiesen werden, der aber nicht stark ausgeprägt ist.

Bei der genetischen Struktur kann für die analysierten *Podarcis muralis* – Populationen eine eher geringe genetische Strukturierung mittels AMOVA nachgewiesen werden. Die genetische Variation zwischen den sieben Populationen erklärt 18,6 % der Gesamtvariation, wobei über 80 % der Gesamtvarianz innerhalb der untersuchten Populationen zu finden ist. Unterteilt man die Populationen in zwei Gruppen (erste Gruppe: Abruzzen und Pula, sowie als zweite Gruppe: Ardèche, Bitche, Trier, Urft und Belgien), ergibt die Varianzanalyse, dass noch 16,4 % der genetischen Varianz zwischen den Populationen innerhalb der beiden Gruppen liegen, wobei nur 4,3 % der genetischen Varianz zwischen den beiden Gruppen zu finden ist, was auf eine nur

geringe Populationsstrukturierung hinweist. Die genetische Varianz innerhalb der untersuchten Populationen bleibt mit 79,4 % auf ähnlich hohem Niveau. Alle berechneten Differenzierungen der Populationsstruktur erweisen sich als hochsignifikant ($P < 0,001$).

BENDER (1999) untersuchte in ihrer Arbeit sechs deutsche Mauereidechsen-Populationen (Rüdesheim, Kaub am Rhein, Offenburg, Heilbronn, Marienthal an der Ahr und Zell an der Mosel) und eine italienische Referenz-Population (Gardasee). Ein Hauptinteresse galt der Analyse der genetischen Struktur der Populationen, insbesondere hinsichtlich der Auswirkungen anthropogener Habitatveränderungen. Die AMOVA der deutschen Populationen zeigte, dass der mit Abstand höchste Varianzanteil (fast 94 %) innerhalb der Populationen zu finden war. Selbst bei Hinzunahme der italienischen Population vom Gardasee erhöhte sich der Varianzanteil zwischen den Populationen nur von etwa 6 auf 16 %, was auf eine eher nur geringe genetische Strukturierung der Populationen hindeutete. Vor allem die deutschen Eidechsen-Populationen zeigten eine hohe genetische Homogenität bei relativ hohem Genfluss zwischen den analysierten Populationen. Dies wurde als Hinweis auf einen gemeinsamen Genpool und damit einen regen Austausch von Migranten angesehen. Die in der hier vorliegenden Untersuchung analysierten *P. muralis* -Populationen zeigen eine ähnliche genetische Strukturierung. Die AMOVA aller sieben Populationen ergab, dass der ermittelte Varianzanteil zwischen den Populationen mit 18,6 % ähnlich hoch ausfällt wie in der Untersuchung von BENDER (1999). GASSERT (2000) untersuchte isolierte Populationen der Mauereidechse (*Podarcis muralis*) in Trier mittels der RAPD-PCR Methode. Die AMOVA aller vier Populationen ergab, dass der ermittelte Varianzanteil zwischen den Populationen 36 % betrug, also etwa doppelt so hoch als bei BENDER (1999), sogar zwischen den isolierten Trierer Populationen betrug der Varianzanteil noch 23 %. Die Migrationsbarrieren, die einen Genfluss völlig unterbinden, scheinen für den hohen Varianzanteil verantwortlich. BAHL et al. (1997) untersuchten mit der RAPD-Methode die genetische Substrukturierung von fünf Zauneidechsen (*Lacerta agilis*)-Populationen in der Region Halle-Leipzig, um die Bedeutung verschiedener Isolationsfaktoren zu bewerten. Es zeigte sich, dass die Saale eine größere Isolationsbarriere zwischen ihr gegenüberliegenden Eidechsen-Populationen

(räumliche Distanz ca. 5 km) darstellt als die geographische Distanz von etwa 60 km auf der gleichen Flussseite. Auch bei dieser Untersuchung (BAHL 1997) ergab die AMOVA mit 84,3 % Varianzanteil innerhalb der analysierten Populationen eine im Vergleich zu den hier vorliegenden Untersuchung von *P. muralis* (Varianzanteil innerhalb der Populationen 81,4 %) nur vergleichsweise geringe genetische Substrukturierung zwischen den Populationen, was wiederum zu vergleichbaren Ergebnissen führt. Die Autoren folgerten aus ihren Ergebnissen, dass schon Barrieren von geringer räumlicher Ausdehnung den Austausch zwischen den Zauneidechsen-Populationen stark beeinträchtigen können.

Mit Hilfe einer Clusteranalyse wurden die untersuchten Mauereidechsen-Populationen hinsichtlich genetischer Ähnlichkeiten eingeteilt. Im UPGMA-Dendrogramm wird eine Unterteilung in zwei Hauptgruppen sichtbar, wobei die Standorte Abruzzen und Pula zusammen gruppiert werden und von den restlichen Populationen deutlich getrennt sind. Innerhalb der zweiten Hauptgruppe clustern die Populationen Trier und Urft mit dem geringsten Abstand, gefolgt in aufsteigender Entfernung von den Populationen Bitche, Anhée und der Population Ardèche. Die Population Ardèche liegt der Hauptgruppe mit den Populationen Abruzzen und Pula am nächsten, was den geographischen Gegebenheiten entspricht.

Die Zugehörigkeit der einzelnen Tiere zu ihren Herkunftsgebieten wurde mittels Diskriminanzanalyse überprüft. Durch die Diskriminanzanalyse werden keine Gruppen gebildet, sondern man geht von einer vorhandenen Gruppierung (den sieben Populationen) aus und überprüft die Qualität dieser Gruppierung. Nach der Ermittlung der ersten Diskriminanzachse sind in der Regel die Überlappungsbereiche so groß, dass weitere Achsen bestimmt werden können. Im vorliegenden Fall sind 3 Funktionen ausreichend. Mit Hilfe der ersten 3 Roots werden 88,35 % der Fälle erklärt. Eine klare Gruppierung der Tiere wird erkennbar. Deutlich werden bei der Darstellung Root 1 - Root 3 die Populationen Abruzzen, Pula und Ardèche von den übrigen Populationen getrennt. Die übrigen Populationen gruppieren nahe zusammen, mit Ausnahme einiger Tiere von Bitche. Mit der Darstellung Root 1 – Root 2 können die Populationen Abruzzen und Pula, sowie Ardèche deutlich von den anderen Populationen getrennt werden. Ähnlich wie in der Darstellung Root 1 – Root 3 können die Populationen Abruzzen und

Pula deutlich von den anderen Populationen getrennt werden, eine Trennung der Ardèche von den übrigen Populationen erfolgt nicht, dagegen wird die Population Anhéé von den übrigen Populationen getrennt.

Bei der Betrachtung der Klassifikationsmatrix der Diskriminanzanalyse zeigt sich, wie viel Prozent der Tiere ihren jeweiligen Populationen richtig zugeordnet werden. Innerhalb der Population Abruzzen werden 79 % der Tiere richtig zugeordnet. Jeweils ein Tier wird den Standorten Pula, Bitche und Anhéé falsch zugeordnet. 91 % der Tiere werden dem Standort Pula richtig zugeordnet. Nur ein Tier wird dem Standort Ardèche falsch zugeschrieben. Der Population Ardèche werden 67 % der Tiere richtig zugeordnet. Drei Tiere werden dem Standort Bitche, ein Tier dem Standort Trier und zwei Tiere dem Standort Anhéé falsch zugeordnet. Alle falsch zugeordneten Tiere werden einem nördlichen Standort zugeschrieben, keines einem Südlichen, obwohl dies aufgrund der geographischen Entfernung eher zu erwarten gewesen wäre. Der Population Bitche werden 75% der Tiere richtig zugeordnet. Drei Tiere werden dem Standort Ardèche und zwei Tiere dem Standort Trier falsch zugeordnet. Bei Betrachtung der Klassifikationsmatrix für den Standort Trier fällt die mit 46 % geringste richtige Zuordnung auf. Vier Tiere werden dem Standort Bitche, drei dem Standort Urft falsch zugeschrieben. Kein Tier wird einem südlichen Standort und kein Tier wird dem Standort Anhéé falsch zugeordnet. Dem Standort Urft werden 67 % der Tiere richtig zugeordnet. Je ein Tier werden den Standorten Bitche und Trier und zwei Tiere werden dem Standort Anhéé falsch zugeordnet. Dem Standort Anhéé werden mit 95 % die meisten Tiere richtig zugeordnet. Nur ein Tier wird dem Standort Urft falsch zugeschrieben. Eine Separierung der Population Anhéé von den anderen Populationen scheint trotz geringer geographischer Entfernung gegeben. Bei Betrachtung der Klassifikationsmatrix fällt auf, dass zwischen den drei südlichen Standorten Abruzzen, Pula und Ardèche mit nur zwei Tieren sehr wenige Fehlzuordnungen vorkommen. Kein Tier der Ardèche wird einem anderen südlichen Standort falsch zugeordnet, und nur ein Tier des Standortes Pula wird der Ardèche zugeschrieben. Die Tiere der Ardèche, die falsch zugeordnet werden, werden einer nördlichen Population zugeschrieben. Ein Genaustausch zwischen dem Standort Ardèche und nördlichen Populationen und zwar von Süd nach Nord scheint wahrscheinlich. Ein Genaustausch der anderen südlichen Populationen

mit den nördlichen Populationen scheint nur für die Population Abruzzen gegeben. Innerhalb der nördlichen Populationen scheint ein Genaustausch zwischen den Populationen Trier, Urft und Bitche sehr wahrscheinlich. Der Standort Anhéé dürfte nur mit dem Standort Urft und eventuell mit dem Standort Ardèche in Verbindung stehen. Südliche und nördliche Standorte können deutlich getrennt werden, wobei der Standort Ardèche wegen der Falschzuordnungen eher den nördlichen Populationen zugeordnet werden muß.

Abschließend wurde eine Hauptkomponentenanalyse über die genetischen Distanzen (NEI 1972) durchgeführt. Über die Hauptkomponente 1 werden 69,8 %, über die Hauptkomponente 2 14,1 % der Varianz erklärt. Die einzelnen Standorte lassen sich trennen. Als eine Gruppe können die beiden Standorte Abruzzen und Pula zusammengefasst werden. Der Standort Ardèche liegt intermediär. Die anderen Standorte können als eine zweite Gruppe zusammengefasst werden. Am nächsten zueinander liegen die Populationen Trier und Urft. Eine ihrer geographischen Lage entsprechende Trennung aller Populationen wurde abgebildet. Auch in der dreidimensionalen Darstellung wird eine entsprechende Trennung bestätigt.

In ihr nördliches Verbreitungsgebiet wanderte die Mauereidechse im Zuge der Ausbreitung aus zentralitalienischen oder evtl. spanischen bzw. südwestmediterranen, in Südfrankreich gelegenen Refugialräumen im Laufe des trocken-warmen Postglazial (beginnend ca. 6000-5000 v. Chr., Littorina-Zeit) ein (BAMMERLIN et al. 1996). Im Subboreal (ab ca. 2500 v. Chr.) dürfte eine Aufsplitterung und Arealregression thermophiler Arten an der nördlichen Verbreitungsgrenze erfolgt sein, was durch das Vordringen der Buche erklärt werden kann. Jedoch wurden die klimatisch begünstigten Lagen von Rheinland-Pfalz, Nordrhein-Westfalen, Luxemburgs und Belgiens als alte menschliche Siedlungsgebiete bereits im Neolithikum gerodet, was eine Wiederbesiedlung aus relikttären oder geschlossenen Vorkommen ermöglichte. Im 13.-16. Jhdt. drang die Mauereidechse aufgrund der Klimagunst in weitaus höhere, heute nicht mehr genutzte Lagen vor (Zusammenstellung in: BAMMERLIN et al. 1996). Dieses Vordringen in weitaus höhere Lagen wirft für die Eruiierung der Einwanderungswege der Mauereidechse in ihr nördliches Verbreitungsgebiet wichtige Fragen auf. Laut BAMMERLIN et al. (1996) sind die isolierten

Vorkommen am Nordrand des Areals als Relikte einer ursprünglich (17. Jhdt.) wesentlich ausgedehnteren Verbreitung zu werten. Folglich wäre das Auftreten der zwei Unterarten *P. m. brogniardi* (Belgien, Nordeifel) und *P. m. merremia* (Rhein, Mosel, Bitch) wenig plausibel.

Ausgehend von südwestfranzösischen Refugialräumen lassen sich drei Einwanderungswege annehmen:

4. Über die Burgundische Pforte in den Oberrheingraben, möglicherweise über das untere Nahetal, den Ober- und Mittelrhein bis in die Gegend von Bonn.
5. Über den Saar-, Sauer- und Obermoselraum zur Untermosel und den Mittelrhein, ggf. auch über das Blietal zum oberen Nahebergland. Eine Besiedlung von der lothringischen Obermosel her (vgl. BEDRIAGA 1878) wird durch die benachbarten deutschen anknüpfenden Vorkommen (vgl. GUILLAUME 1982) unterstrichen.
6. Über die Maas-Rur-Ebene bis zu den auf nordrhein-westfälischem Gebiet gelegenen Vorkommen in der Rureifel und dem Vennvorland (HAESE in GEIGER & NIEKISCH 1983).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die genetische Variabilität der Mauereidechse (*Podarcis muralis*) von Süd nach Nord abnimmt. Als Refugialraum der nördlichen (deutschen, lothringischen) Populationen kommt, von den untersuchten südlichen Standorten, der südfranzösische Standort Ardèche am Ehesten in Frage. Am wenigsten wahrscheinlich als Refugialraum für die untersuchten nördlichen Populationen konnte der Standort Pula ermittelt werden. Vom Standort Abruzzen scheinen Tiere nach Norden in Richtung Pula und Ardèche gewandert zu sein. Die genetischen Unterschiede zwischen den Standorten Ardèche und den beiden anderen südlichen Standorten sind so groß, dass eine Postulierung als Refugialraum der nördlichen Populationen für den Standort Südfrankreich (Ardèche) gerechtfertigt scheint. Die Vorkommen der Mauereidechse an ihrem nördlichen Verbreitungsrand sind teilweise genetisch separiert (Anhée von den anderen nördlichen Populationen).

Ein Genaustausch der Trierer (Mosel) und der Urfter (Eifel) Tiere untereinander besteht. Eingeschränkt besteht der Genaustausch auch mit den Bitcher (Lothringen) Tieren, wohingegen der Genaustausch mit den Belgischen (Anhée) Tieren schon lange eingeschränkt ist, oder nicht stattgefunden hat. Aufgrund der im Verhältnis zu den anderen Populationen stark reduzierten Allelzahl der Population Anhée muß für diesen Standort von einem so genannten *bottleneck* (Flaschenhals) ausgegangen werden.

Ausgehend von der Hypothese, die heutigen Populationen sind Relikte einer im 17. Jhdt. wesentlich ausgedehnten Verbreitung der Mauereidechse (BAMMERLIN et al. 1996), wären die genetischen Unterschiede, zumindest die der drei nördlichen Populationen Trier, Urft und Anhée etwa gleich ausgeprägt, da eine Trennung der Populationen klimatisch bedingt wohl in der gleichen Zeit entstanden sein dürfte. Da die genetischen Ähnlichkeiten zwischen den Populationen Trier und Urft größer ist, als die genetischen Ähnlichkeiten einer der beiden Populationen zu Anhée, müssen unterschiedliche Einwanderungswege der Populationen Anhée angenommen werden. Die eher geringen genetischen Unterschiede der Population Bitche zu den beiden anderen nördlichen Populationen (Trier, Urft), lassen sich über einen evtl. unterschiedlichen Einwanderungsweg (Rhône, Rhein) und einen anschließenden Genaustausch mit Populationen von Mosel (Trier), Saar, Blies erklären.

Die Einwanderung der Mauereidechse dürfte von den Südfranzösischen Populationen (Ardèche) durch das Rhônetal, die Burgundische Pforte, das Rheintal bis zur, in der vorliegenden Arbeit untersuchten Population von Bitche, erfolgt sein (Einwanderungsweg 1). Die Trierer und Urfter Tiere dürften über die Rhône und den Obermoselraum eingewandert sein. Die Urfter Tiere können von der Mosel aus über die Kyll in die Eifel eingewandert sein. Ein Genaustausch über die Saar zu den Bitcher Tieren scheint möglich, zumal an Saar sowie der Blies (eigene Beobachtungen) und in der Umgebung zu Bitche viele Fundpunkte der Mauereidechse gemeldet sind (Einwanderungsweg 2). Die Belgische Population (Anhée) dürfte über Frankreich an die Maas eingewandert sein. Die Population Anhée scheint über andere Einwanderungswege als die restlichen drei nördlichen Populationen besiedelt worden zu sein. Ob es sich beim Standort um eine andere Unterart handelt, kann in der vorliegenden Arbeit nicht abschließend beantwortet

werden. Der Verdacht, dass sich die zwei Unterarten *P. m. brogniardi* (Anhée) und *P. m. merremia* (Urft, Trier, Bitche) unterscheiden lassen, scheint sich eher zu erhärten, als zu entkräften.

Die in dieser Arbeit angewandte Mikrosatelliten-Methode hat sich als fortschrittliche Methode erwiesen, die weiterhin zur Erhellung ungelöster populationsgenetischer Fragen erfolgreich beitragen dürfte.

7 Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in der vergleichenden Untersuchung der genetischen Variabilität und Diversität ausgewählter Mauereidechsen-Populationen aus ihrem rezenten mitteleuropäischen Verbreitungsgebiet und ihren Refugialräumen südlich der Alpen. Weiterhin sollte überprüft werden, ob aus den erhaltenen Daten Rückschlüsse auf eventuell unterschiedliche Einwanderungswege der nördlichen Populationen aus den Refugialräumen mittels molekular-genetischer Methoden gezogen werden können. Als Untersuchungsmethode wurde die Mikrosatelliten-DNA (SSR-) Analyse gewählt. Gegenüber der in vorhergehenden Untersuchungen angewandten RAPD-PCR Methode besitzt die Analyse von DNA-Mikrosatelliten den großen Vorteil, über die direkte Bestimmung von Allelfrequenzen wichtige populationsgenetische Daten berechnen zu können. Isoenzymatische Voruntersuchungen an Mauereidechsen erwiesen sich als wenig geeignet. Die SSR-Methode ist besonders gut geeignet, die genetische Diversität und Populationsdifferenzierungen zu ermitteln. Mittels acht spezifischer Mikrosatelliten-Loci wurde die genetische Struktur von sieben Populationen der Mauereidechse untersucht. Die Auswertung der PCR-Produkte erfolgte im ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer mittels Kapillarelektrophorese. Als Untersuchungsgebiete wurden Standorte in Italien (Alba fucens, Abruzzen), Kroatien (Pula, Istrien), Südfrankreich (St. Martin d´Ardèche, Provence), Nordfrankreich (Bitche, Lothringen), Rheinland-Pfalz (Igel bei Tier, Mosel), Nordrhein-Westfalen (Gemünd, Urft-See) und Belgien (Anhée) ausgewählt und beprobt.

Die untersuchten Loci erwiesen sich alle als polymorph und zum Teil als hoch variabel. Im Rahmen der populationsgenetischen Analysen wurden zahlreiche deskriptive und populationsgenetische Parameter zur Charakterisierung der Populationen verwendet. Es wurden die Markeranzahl, die Allelfrequenzen, die genetischen Ähnlichkeiten, die genetische Distanz, die genetische Diversität, die Heterozygotie-Statistik, Schätzungen zu Genfluss und zur *isolation by distance*, die genetische Struktur mittels AMOVA, die Clusteranalyse, die Diskriminanzanalyse und die Hauptkomponentenanalyse mittels genetischer Distanzen als wichtige populationsgenetische Parameter untersucht.

Wegen unerwarteter Ergebnisse bei der Auswertung der Fragmente des Locus A7 von Proben aus den Abruzzen und Pula wurden exemplarisch einige Allele von etwa 400 bp sequenziert (zu erwarten waren 182 bp). Die Sequenzierung erfolgt nach SANGER im Cycle Sequencing Verfahren unter Verwendung der DNA Taq Polymerase und fluoreszenzmarkierten Primern (*Dye Primer Sequenzierung*). Dabei konnte zusätzlich außer dem Mikrosatelliten eine etwa 200 bp lange Sequenz eindeutig nachgewiesen werden, die wahrscheinlich durch eine Insertion entstanden ist. Außerdem wurde ein Basenaustausch (G-C, C-G) beim Vergleich der FORWARD- und REVERS- Sequenzierung festgestellt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die Vorkommen der Mauereidechse an ihrem nördlichen Verbreitungsrand teilweise separiert sind. Ein Genaustausch der Trierer (Mosel) und der Urfter (Eifel) Tiere untereinander besteht. Eingeschränkt besteht der Genaustausch auch mit den Bitcher (Lothringen) Tieren, wohingegen der Genaustausch mit den Belgischen (Anhée) Tieren wohl schon lange eingeschränkt ist oder nur sehr eingeschränkt stattgefunden hat. Die Einwanderung der Mauereidechse in ihr nördliches Verbreitungsgebiet dürfte von den Südfranzösischen Populationen (Ardèche) durch das Rhôneetal, die Burgundische Pforte, das Rheintal bis zur, in der vorliegenden Arbeit untersuchten Population von Bitche, erfolgt sein. Die Trierer und Urfter Tiere dürften über den Obermoselraum eingewandert sein. Die großen genetischen Unterschiede der Belgischen Population (Anhée) zu den anderen nördlichen Populationen lassen sich am ehesten durch eine Einwanderung über Frankreich an die Maas und einen stark eingeschränkten Genfluss zwischen der Belgischen Population und den restlichen nördlichen Populationen erklären. Die Population Anhée scheint somit über andere Einwanderungswege als die restlichen drei nördlichen Populationen besiedelt worden zu sein. Aufgrund der im Verhältnis zu den anderen Populationen stark reduzierten Allelzahl der Population Anhée muss für diesen Standort von einem so genannten *bottleneck* (Flaschenhals) ausgegangen werden. Ob es sich um eine andere Unterart am Standort Anhée handelt, kann in der vorliegenden Arbeit nicht abschließend beantwortet werden. Der Verdacht, dass sich die zwei Unterarten *P. m. brogniardi* (Belgien) und *P. m. merremia* (Nordeifel, Mosel, Bitche) unterscheiden lassen, scheint sich eher zu erhärten, als zu entkräften.

Ausblickend lässt sich sagen, dass eine eingehende Untersuchung der genetischen Struktur von Populationen der Mauereidechse an ihrem nördlichen Verbreitungsrand unter verstärktem Einbezug Nord-Ostfranzösischer, Luxemburgischer und Belgischer Populationen, sowie von Populationen vom Rhein und der Burgundischen Pforte, die Frage der unterschiedlichen Einwanderungswege der Populationen in ihr nördliches Verbreitungsgebiet abschließend wird klären können.

8 Literaturverzeichnis

- ALLEGRUCCI, G., CACCONI, A., CATAUDELLA, S., POWELL, JR., SBORDONI, V. (1995): Acclimation of the European sea bass to freshwater: monitoring genetic changes by RAPD polymerase chain reaction to detect DNA polymorphisms. *Marine Biology* 121: 591-599.
- ALLENDORF, F. W., R. F. LEARY (1986): Heterozygosity and fitness in natural populations of animals. In: SOULÉ M. E. (Hrsg.): *Conservation Biology. The Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.: 57-76.
- AMLER, K., BAHL, A., HENLE, K., KAULE, G., POSCHOLD, P. & J. SETTELE (1999): *Populationsbiologie in der Naturschutzpraxis*. Ulmer-Verlag, Stuttgart (Hohenheim).
- ASHLEY, M. V. (1999): Molecular Conservation Genetics. Tools for assaying the structure of DNA prove valuable in protecting endangered species. *American scientist* 87: 28-35.
- ASHLEY, M. V. & B. D. DOW: The use of microsatellite analysis in population biology: Background, methods and potential applications. In SCHIERWATER, B. (Hrsg.) (1994): *Molecular ecology and evolution: Approaches and applications*: 185-203. Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin.
- ASMUSSEN, U. (1997): Untersuchungen zur Habitatwahl der *Podarcis muralis* (LAURENTI, 1768) im Ahrtal und Vergleichspopulationen. Diplomarbeit. Univ. Bonn.
- ASHWORTH, D., BISHOP, M., CAMPBELL, K., COLMAN, A., KIND, A., SCHNIEKE, A., BLOTT, S., GRIFFIN, H., HALEY, C., MCWHIR, J., WILMUT, W. (1998): DNA microsatellite analysis of Dolly. *Nature*: 394-329.
- AVISE, JC. (1994): *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall New York.
- AVISE, JC., HAMRICK, JL. (1995): *Conservation genetics. Case Histories from Nature*. Chapman & Hall, New York.
- BACHTROG, D., M. AGIS, M. IMHOF, C. SCHLÖTTERER (2000): Microsatellite variability differs between dinucleotide repeat motifs-evidence from *Drosophila melanogaster*. *Molecular Biology and Evolution*, 17: 1277-1285.
- BAHL, A., LAUE, Ch. MÄRTENS, B., PFENNINGER, M. (1997): Einfluß verschiedener Isolationsfaktoren auf den Genfluß von Zauneidechsen-Populationen (*Lacerta agilis*). *Verh. d. Gesellschaft für Ökologie*, 27: 101-105.

-
- BALLOUX, F., LUGON MOULIN, N. (2002): The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11: 155-165.
- BAMMERLIN, R., BITZ, A. & R. THIELE (1996): Mauereidechse - *Podarcis muralis* (LAURENTI, 1768). IN BITZ, A., FISCHER, K., SIMON, L., THIELE, R., VEITH, M. (Hrsg.): Die Amphibien und Reptilien in Rheinland-Pfalz. Band 2, Landau: 387-402.
- BARTEL, M. (1998): Populationsgenetische Untersuchungen von Brassern (*Abramis brama* L.) aus dem Rhein zur Überprüfung der Repräsentativität von Umweltproben. Diplomarbeit. Univ. Saarbrücken.
- BAUWENS, D., DIAZ-URIARTE, R. (1997): Covariation of life-history traits in lacertide lizards: A comparative study. *The American Naturalist*. Vol. 149: 91-111.
- BEDRIAGA, J. von (1886): Beiträge zur Kenntnis der Lacertiden-Familie (*Lacerta*, *Algiroides*, *Tropidosaura*, *Zerzunia* und *Bettaia*). Abh. Senckenbergische Naturforsch. Ges. Frankfurt a.M. 14: 17-444.
- BENDER, C. (1995): Demographische und populationsgenetische Grundlagen zum Schutz der Mauereidechse (*Podarcis muralis*). *Verh. d. Gesellschaft für Ökologie*, 24. 187-191.
- BENDER, C. (1999): Populationsgefährdungsanalyse der Mauereidechse (*Podarcis muralis*): demographische und genetische Grundlagen. Dissertation. Johann Wolfgang Goethe-Univ. Frankfurt am Main.
- BENDER, C., HILDEBRANDT, H., SCHMIDT-LOSKE, K., GRIMM, V., WISSEL, C., HEHNLE, K. (1996): Consolidation of vineyards, mitigations, and survival of the common wall lizard (*Podarcis muralis*) in isolated habitat fragments. In SETTELE, J., MARGULES, C.R., POSCHOLD, P., HEHNLE, K. (Hrsg.): Species survival in Fragmented Landscapes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 248-261.
- BENDER, C., SCHMIDT-LOSKE, K., ASMUSSEN, U., HILDEBRANDT, H., (1999): Analyse der Gefährdungsursachen von Tiergruppen mittlerer Mobilität am Beispiel der Mauereidechse (*Podarcis muralis*). In: AMLER, K., BAHL, A., HENLE, K., KAULE, G., POSCHOLD, P., SETTELE, J. (Hrsg.): Populationsbiologie in der Naturschutzpraxis. Ulmer- Verlag, Stuttgart (Hohenheim): 161-172.
- BIELAWSKI, J. P., NOACK, K. & PUMO, D. E. (1995): Reproducible Amplification of RAPD markers from vertebrate DNA. *BioTechniques* 18: 856-860.
- BIJLSMA, R., OUBORG, N. J., VAN TREUREN, R. (1994): On genetic erosion and population extinction in plants: A case study in *Scabiosa columbaria* and *Salvia pratensis*.

-
- BLAB, J.(1980): Reptilienschutz, Grundlagen - Probleme - Lösungsansätze. Salamandra 16: 89-113.
- BLAB, J., GÜNTHER, R., NOWAK, E. (1994): Rote Liste und Artenverzeichnis der in Deutschland vorkommenden Kriechtiere (Reptilia). In NOWAK, E., BLAB, J., BLESS, R. (Hrsg.): Rote Liste der gefährdeten Kriechtiere in Deutschland. Kilda Verlag, Greven: 109-124.
- BÖHME, W. (1989): Klimafaktoren und Artenrückgang am Beispiel mitteleuropäischer Eidechsen (Reptilia: Lacertidae). Schriftenreihe Landschaftspfl. Naturschutz 29: 195- 202.
- BORTZ, J. (1993): Statistik. 4. vollst. Überarb. Aufl. Springer Verlag, Berlin.
- BOULENGER, G. A. (1887): Catalogue of the Lizards in the British Museum (Natural history), Volume III, London.
- BOULENGER, G. A. (1920): Monograph of the Lacertidae. Volume I, London.
- BOWDITCH, B.M., ALBRIGHT, D.G., WILLIAMS, J.G.K. & BRAUN, M.J. (1993): Use of randomly amplified polymorphic DNA markers in comparative genome studies. Methods Enzymol 224(21): 294-309.
- BRAKEFIELD, P. M., (1992): Population dynamics and genetic variation: consequences for the survival of butterflies in a fragmented landscape: In Future of butterflies in Europe: Strategies for Survival. Proceedings of the International Congress.
- BURKE, T., HANOTTE, O., BRUFORD, M.W. & E. CAIRNS (1991): Multilocus and single locus minisatellite analysis in population biological studies. In BURKE, T., DOLF, G., JEFFREYS, A.J., WOLF, R. (Hrsg): DNA Fingerprinting: Approaches and Applications. Birkhäuser Verlag, Basel: 154-168.
- CAPULA, M. (1997): High Genetic Variability in Insular Populations of the Lacertid Lizard, *Podarcis muralis*. Biochemical Systematics and Ecology, Vol. 25, No. 5: 411-417.
- CHARLESWORTH, B., CHARLESWORTH, D. (1987): Inbreeding depression and its evolutionary consequences. Annual Review of Ecology and Systematics 18: 237-268.
- CHIAPPERO, M. B., GARDENAL, C. N. (2001): Inheritance of random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR) markers and their use in population genetic studies of *Calomys musculinus* (Rodentia, Muridae), the reservoir of Argentine hemorrhagic fever. Hereditas 135: 85-93.
- CLARK, A.G. & LANIGAN, C.M.S. (1993): Prospects of estimating nucleotide divergence with RAPDS. Mol Biol Evol 10: 1096-1111.

-
- CLAUSING, G., VICKERS, K., KADEREIT, J. W. (2000): Historical biogeography in a linear system: genetic variation of sea rocket (*Cakile maritima*) and sea holly (*Eryngium maritimum*) along European coasts. *Molecular Ecology* 9: 1823-33.
- COMERON, J. M.; Kreitman, M.; Aguade, M., (1999): Natural selection on synonymous sites is correlated with gene length and recombination in *Drosophila*. *Genetics* 151 (1): 239-249.
- DALBECK, L., HACHTEL, M. (2000): Die Mauereidechse, *Podarcis muralis*, am Urftsee bei Gemünd, Nordrhein-Westfalen, mit Anmerkung zur Herpetofauna des Gebiets. *Zeitschrift für Feldherpetologie* 7: 167-176.
- DESVIGNES, J. F., LAROCHE, J., DURAND, J. D., BOUVET, Y. (2001); Genetic variability in reared stocks of common carp (*Cyprinus carpio* L.) based on allozymes and microsatellites. *Aquaculture* 194: 291-301.
- DEXEL, R. (1984): Untersuchungen zur Populationsökologie der Mauereidechse, *Podarcis muralis* (Laurenti, 1768) im Siebengebirge. Diplomarbeit. Univ. Bonn.
- DEXEL, R. (1986a): Zur Ökologie der Mauereidechse *Podarcis muralis* an ihrer nördlichen Arealgrenze. I. Verbreitung, Habitat und Lebensweise. *Salamandra* 22: 63-78.
- DEXEL, R. (1986b): Zur Ökologie der Mauereidechse *Podarcis muralis* an ihrer nördlichen Arealgrenze. II. Populationsstruktur und -dynamik. *Salamandra* 22: 259-271.
- DUDASH, M. R. (1990): Relative Fitness of selfed and outcrossed progeny in a self compatible, protandrous species, *Sabatia angularis* L. (Gentianaceae) of three environments. *Evolution* 44: 1129-1139.
- EDWARDS, A., CIVITELLO, A., HAMMOND, H. A., CASKEY, C. T. (1991): DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 49: 746-756.
- EFRON, B. (1979): Bootstrap methods: another look at the jackknife. *Annals of Statistics* 7: 1-26.
- EFRON, B. (1982): The jackknife, the bootstrap and other resampling plans, vol. 38 of CMBS NSF Regional Conference Series in Applied Mathematics, SIAM, Philadelphia, USA.
- EHRL, A. & M. WOLF (1987): Zur Wiederansiedlung von Mauereidechsen im Gewann Ranzenberg in Weinsberg, Landkreis Heilbronn. Unveröff. Gutachten i. A. des Regierungspräsidiums Stuttgart, Bezirksstelle für Naturschutz und Landschaftspflege.
- EISENBARTH, D. (1998): Genetische Verwandtschaftsanalysen von *Martes*-Populationen im nördlichen Saarland. Diplomarbeit. Univ. Saarbrücken.

-
- EISENBARTH, D. (2003): Genetische Untersuchungen zur Fortpflanzungsstrategie von *Microtus arvalis* und ihre genetische Variabilität auf unterschiedlich genutzten Flächen. Dissertation. Univ. Trier.
- ENGELMANN, W. E. (1993): Lurche und Kriechtiere Europas. Neumann Verlag, Radebeul.
- ERLICH, H. A., GELFAND, D. H. & J. J. SNINSKY (1991): Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science* 252: 1643-1651.
- EFRON, B. (1979): Bootstrap methods: another look at the jackknife. *Annals of Statistics* 7, 1-26.
- EFRON, B. (1982): The jackknife, the bootstrap and other resampling plans, vol. 38 of CMBS NSF Regional Conference Series in Applied Mathematics, SIAM, Philadelphia, USA.
- ERLICH, H.A., GELFAND, D. H., SNINSKY, J. J. (1991): Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science* 252: 1643-1651.
- ESTOUP, A. (1999): Comparison of methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 1(Bd. 153): 1989-2000.
- ESTOUP, A. (1999): Development and cross-species comparison of microsatellite markers in two lizard species, *Lacerta vivipara* and *Podarcis muralis*. *Mol. Ecol* (Bd. 8): 518-520
- EWENS, W. J. (1982): On the concept of effective population size. *Theor. Pop. Biol.* 21: 373-378.
- EXCOFFIER, L., SMOUSE, P., QUATTRO, J. M. (1992): Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- FELSENSTEIN, J. (1995): PHYLIP (Phylogeny Inference Package). Release 3.57c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- FERNHOLZ, L. T. (2001): Statistics in genetics and in environmental sciences. Birkhäuser Verlag, Basel.
- FORMANN, F. (1981): Eine Mauereidechsen-Population bei Osnabrück. *Osnabrücker naturwiss. Mitt.* 8: 133-134.
- FRANKEL, O. H., BROWN, A. H. D., BURDON, J. J. (1995): The conservation of plant biodiversity. University press, Cambridge.
- FRANKEL, O. H. & M. E. SOULÉ (1981): Conservation and Evolution. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

-
- FRANKHAM, R., BALLOU, J. D. & D. A. BRISCOE (2002): Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge.
- FRETEY, J. (1975): Guides des Reptiles et Batraciens de France. Hatier, Paris.
- FRITSCH, P. & L.H. RIESEBERG (1996): The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in conservation genetics. In SMITH, T.B. & R.K. WAYNE (Hrsg.): Molecular Genetic Approaches in Conservation. Oxford University Press, Oxford: 54-73.
- FRITZ, K. (1987): Die Bedeutung anthropogener Standorte als Lebensraum für die Mauereidechse (*Podarcis muralis*). Beih. Veröff. Naturschutz und Landschaftspfl. Bad.-Württ. 41: 427-462.
- FROESCH-FRAZON, P. (1982): Holzbock (*Ixodes ricinus*) an freilebenden *Podarcis muralis* und *Lacerta viridis*. Herpetofauna, Weinstadt, 19: 13-15.
- FUTUYMA, D. J. (1990): Evolutionsbiologie. Birkhäuser Verlag, Basel.
- GARDNER, M.G., BULL, C.M., COOPER, J.B., DUFFIELD, G.A. (2000): Microsatellite mutations in litters of the Australian lizard *Egernia stokesii*. J. Evol. Biol. 13: 551-560.
- GASSET, F. (2000): Genetische Isolation der Mauereidechsenpopulationen *Podarcis muralis* (Laurenti 1768) der Stadt Trier. Diplomarbeit. Univ. Trier.
- GASSET, F., KAUTENBURGER, R., MÜLLER, P. (2002): Populationsgenetische Untersuchungen isolierter Mauereidechsenpopulationen (*Podarcis muralis* LAURENTI, 1768) der Stadt Trier. Mitt. Biog. 26: 1-14.
- GEIGER, A. & M. NIEKISCH (1983): Die Lurche und Kriechtiere im nördlichen Rheinland – vorläufiger Verbreitungsatlas. BUND NRW, Neuss.
- GILLIES, A. C., NAVARRO, C., LOWE, A. J., NEWTON, A. C., HERNANDEZ, M., WILSON, J., CORNELIUS, J. P. (1999): Genetic diversity in mesoamerican populations of mahogany (*Swietenia macrophylla*), assessed using RAPDs. Heredity 83: 722-732.
- GILPIN, ME., SOULÉ, ME. (1986): Minimum viable populations. GILPIN, ME., SOULÉ, ME. (Hrsg.): Conservation biology, the science of scarcity and diversity. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Association: 19-34.
- GOODALL, D.W. (1954): Objective methods for the classification of vegetation. III. An essay in the use of factor analysis. Australian Journal of Botany 2: 304-324.
- GOODWIN, B. (1997): Der Leopard der sein Flecken verliert. Evolution und Komplexität. Piper Verlag, München.

-
- GOLDSTEIN, D. B. & Ch. SCHLÖTTERER (Hrsg.) (1999): Microsatellites. Evolution and Applications. Oxford University Press, Oxford.
- GOMES, C., DALES, R. B., OXFORD, H. A. (1998): The application of RAPD markers instock discrimination of the four-wing flyfish, *Hirundichtys affinis* in the central western Atlantic. Mol. Ecol. 7: 1029-1039.
- GRUSCHWITZ, M. & W. BÖHME (1986): *Podarcis muralis* (Laurenti 1768) - Mauereidechse. In BÖHME, W. (Hrsg.): Handbuch der Amphibien und Reptilien Europas. Bd. 2/II. Echsen III (*Podarcis*). Aula Verlag, Wiesbaden: 155-208.
- GRUSCHWITZ, M. (1981): Verbreitung und Bestandssituation der Amphibien und Reptilien in Rheinland-Pfalz. Naturschutz und Ornithol. Rhld.-Pfalz. 2: 298-390.
- GRUSCHWITZ, M. (1990): Die Mauereidechse *Podarcis muralis* (Laurenti 1768) (Familie Eidechsen - Lacertidae). In KINZELBACH R. & M. NIEHUIS (Hrsg.): Wirbeltiere. Beiträge zur Fauna von Rheinland-Pfalz. Mainzer Naturwiss. Archiv, Beih. 13.
- GUILLAUME, C.-P. & B. LANZA (1982): Comparaison électrophorétique de quelques espèces de lacertidés méditerranéens, Genera *Podarcis* et „*Archaeolacerta*“. Amphibia- Reptilia 4: 361-375.
- GÜNTHER, R., LAUFER, H. & M. WAITZMANN (1996): Mauereidechse - *Podarcis muralis* (LAURENTI, 1768). In GÜNTHER, R. (Hrsg.): Die Amphibien und Reptilien Deutschlands. G. Fischer Verlag, Jena: 600-617.
- HABERBOSCH, R. & G. MAY-STÜRMER (1987): Ökologische Ansprüche der Mauereidechse (*Podarcis muralis*) an Weinbergsmauern auf der Gemarkung Heilbronn. Beiheft Naturschutz u. Landschaftspfl. Bad.-Würtbg. 41: 407-426.
- HAESE, U. (1990): Artenhilfsprogramm Mauereidechse (Lacertidae: *Podarcis muralis*). Artenschutzprogramm NW, Merkblatt 86.
- HAESE, U. (1981): Ein weiteres Vorkommen der Mauereidechse (*Lacerta muralis* Laur.) in der Nordeifel (Aachen). Decheniana 134: 175.
- HAIG, S. M. (1998): Molecular Contributions to Conservation. Ecology 79: 413-425.
- HAIG, S. M., RHYMER, J.M., HECKEL, D.G. (1994): Population differentiation in randomly amplified polymorphic DNA of red-cockaded woodpeckers *Picoides borealis*. Molecular Ecology 3: 581-595.
- HANSKI, I. & GILPIN, M., (1991): Metapopulation dynamics. Brief history and conceptual domain. In GILPIN, M. & HANSKI, I. (Hsg.): Metapopulation dynamics: Empirical and theoretical Investigations. Biol. J. Linn. Soc. 42: 3-16.
- HARDING, G. C., KENCHINGTON, E. L., BIRD, C. J., PEZZACK, D. S. & D. C LANDRY (1997): Genetic relationships among subpopulations of the American Lobster

- (*Homarus americanus*) as revealed by random amplified polymorphic DNA. *Can J Fish Aquat Sci* 54(8): 1762-1771.
- HARDYS, H., BALICK, M. & B. SCHIERWATER (1992): Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Mol Ecol* 1: 55-63.
- HARTL, DL., CLARK, AG. (1989): *Principles of Population Genetics*, 2nd Ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- HECHT, G. (1928): Zur Kenntnis der Nordgrenzen der mitteleuropäischen Reptilien. *Zool. Mitt. Mus. Berlin* 14(3/4): 501-597.
- HEDRICK, P. H. (1992): Population genetics: Shooting the RAPDs. *Nature* 355: 679-680.
- HEDRICK, P. H. (2000): *Genetics of populations*. Sudbury, MA, Jones and Bartlett.
- HENLE, K. & B. STREIT (1990): Kritische Betrachtungen zum Artenrückgang bei Amphibien und Reptilien und zu dessen Ursachen. *Natur u. Landschaft* 65: 347-361.
- HENLE, K., BENDER, C., SCHMIDT-LOSKE, K., ASMUSSEN, U. (1999): PVAs in der Eingriffsplanung am Beispiel der Flurbereinigung von Weinbergen. In: AMLER, K., BAHL, A., HENLE, K., KAULE, G., POSCHOLD, P., SETTELE, J. (Hrsg.): *Populationsbiologie in der Naturschutzpraxis*. Ulmer-Verlag, Stuttgart (Hohenheim). 241-248.
- HENNIG, W. (1998): *Genetik*. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio, Hong Kong, Barcelona, Budapest.
- HEWITT, G. M. (2004): Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *The Royal Society, London B* (2004) 359: 183-195.
- HEWITT, G. (2001): Speciation, hybrid zones and phylogeography – or seeing genes in space and time. *Mol. Ecol.* 10: 537-549.
- HEWITT, G. (2000): The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*. Vol. 405: 907-913.
- HEWITT, G. (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., BUTLIN, RK. (1997): Causes and consequences of population structure. In:
- HEY, J., (1999): The neutralist, the fly and the selectionist. *Trends Ecol. Evol.* 14: 35-38.
- HILDEBRANDT, H., BENDER, C., GRIMM, V. & K. HENLE (1995): Ein Individuenbasiertes Modell zur Beurteilung der Überlebenschancen kleiner

- Populationen der Mauereidechse (*podarcis muralis*). Verh. Ges. Ökol. 24: 207-214.
- HILLIS, D.M., CRAIG, M., MABLE, K. (1996): Molecular Systematics. Sinauer Associates Incorporated, New York.
- HOELZEL, A. R. (Eds.) (1992, 1998): Molecular Genetic Analysis of populations. A practical approach. Oxford Press, Oxford, New York, Tokio.
- HOVESTADT, T., ROESER, J. & M. MÜHLENBERG (1991): Flächenbedarf von Tierpopulationen. Forschungszentrum Jülich.
- INNIS, M. A., MYAMBO, K. B., GELFAND, D. H., BROW MAD (1988): DNA sequencing with *Termus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction-amplified DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 85: 9436-9440.
- IRGANG, K. (2001): Vergleich von Inzucht- und Homozygotieentwicklung anhand molekulargenetischer Marker in einer geschlossenen New Hampshire Linie. Inaugural-Dissertation, FU Berlin.
- JAGGI, C., WIRTH, T., BAUR, B. (2000): Genetic variability in subpopulations of the asp viper (*Vipera aspis*) in the Swiss Jura mountains: implications for a conservation strategy. Biological Conservation 94: 69-77.
- JAHNKE, J., JORDAN, C. & H. WIEGEL (1980): Eine Population der Mauereidechse , *Lacerta muralis* Laur. (Reptilia, Lacertidae) in der Nordeifel (Urft-Talsperre). Decheniana 133: 57-61.
- JAIN, S. K. & BRADSHAW, A. D., (1966): Evolutionary divergence among adjacent plant populations." Heredity 21: 407-441.
- JAKOBS, B. (1976): Aus der Tierwelt des Trierer Raumes. Vögel, Säugetiere, Lurche und Kriechtiere. Artenliste. Trier.
- JAKOBS, B. (1981): Ergänzende Angaben zur Verbreitung der Amphibien und Reptilien im Bereich des Regierungsbezirkes Trier. Aus der Tierwelt des Trierer Raumes, Informationen Nr. 8.
- JANNING, W. & E. KNUST (2004): Genetik. Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- JARNE, P. & P. J. L. LAGODA (1996): Microsatellites, from molecules to population and back. TREE 11: 424-429.
- JÄTZOLD, R. (1990): Die Verbreitung und Zukunft der Riesling-Steillagen Deutschlands, insbesondere der noch terrassierten Hänge. Mainzer Geogr. Studien 34: 177-194.
- JEFFREYS, A.J., WILSON, V. & S.L. THEIN (1985a): Individual-specific fingerprints of human DNA. Nature 314: 67-73.

- JEFFREYS, A.J., WILSON, V & S.L. THEIN (1985b): Hypervariable minisatellites regions in human DNA. *Nature* 316: 76-79.
- JEFFREYS, A.J. & S.D.J. PENA (1993): Brief introduction to human DNA fingerprinting. In: PENA, S.D.J., CHAKROBORTY, R. EPPLER, J.T. & A.J. JEFFREYS (Hrsg.): *DNA- Fingerprinting State of the Science*. Birkhäuser Verlag, Basel - Boston – Berlin: 1-20.
- JETSCHKE, G. & H. FRÖBE (1994): Ausbreitung und Überleben von kleinen Populationen in fragmentierten Habitaten. *Z. Ökologie u. Naturschutz* 3: 179-187.
- JOHANSSON, I. (1980): *Meilensteine der Genetik*. Parey, Hamburg.
- KAMBHAMPATI, S., BLACK, W.C.T., RAI, K.S. (1992): Random amplified polymorphic DNA of mosquito species and populations (Diptera: Culicidae): techniques, statistical analysis and applications. *J Med Entomol* 29: 939-945.
- KANTANEN, J., VILKKI, J., ELO, K. & MÄKI-TANILA, A. (1995): Random amplified polymorphic DNA in cattle and sheep – application for detecting genetic variation. *Animal Genetics* 26: 315-320.
- KAUTENBURGER, R., EISENBARTH, D., GASSERT, F., LANGER, M., MÜLLER, P. (2001b): Genetic analyses of natural populations in agriculturally used ecosystems in the Trier region. *Verh. Ges. Ökologie* 31: 271.
- KAUTENBURGER, R. (2004): *Molekularökologische und chemische Methoden zur Charakterisierung von Populationen*. Habilitationsschrift. Univ. Trier.
- KIMURA, M. (1983): *The Neutral Theory of Evolution*. Cambridge.
- KIMURA, M., CROW, JF. (1964): The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49: 725–738.
- KIMURA, M. & T. OHTA (1971): *Theoretical Aspects of Population Genetics*. Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey.
- KONOLD, W.(1980): Zum Schutz anthropogener Ökosysteme am Beispiel aufgelassener Weinberge. *Verh. Ges. Ökologie* 8: 175-184.
- KRAWCZAK, M. & J. SCHMIDTKE (1994): *DNA-Fingerprinting*. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg. Berlin, Oxford.
- KREBS, J. R. & DAVIES, NB. (Hrsg.): *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach*. Oxford: Blackwell Science Ltd: 350-372.
- KRUGER, A. M., HELLWIG, F. H., OBERPRIELER, C. (2002): Genetic diversity in natural and anthropogenic inland populations of salt-tolerant plants: random amplified polymorphic DNA analyses of *Aster tripolium* L. (Compositae) and *Salicornia ramosissima* Woods (Chenopodiaceae). *Molecular Ecology* 11: 1647-1655.

-
- KULIKOVA, I. V., CHELOMINA, G. N., ZHURAVLEV, I. U. N. (2002): RAPD-PCR analysis of genetic diversity in the Manchurian pheasant. *Genetika* 38: 836-841.
- KÜHN, A. (1984): Grundriß der Vererbungslehre. Quelle und Meyer. Heidelberg
- LANGER, M. (2003): Einfluss von Flächennutzung auf die genetische Variabilität und genetische Populationsstruktur von *Arion lusitanicus* Mabille (Gastropoda, Pulmonata). Dissertation. Univ. Trier.
- LAUFER, H. (1998): Ein bedeutendes Vorkommen der Mauereidechse, *Podarcis muralis*, am Bahnkörper nördlich von Offenburg (Baden-Württemberg). *Zeitschr. f. Feldherpet.* 5: 55-64
- LEBAS, N. R. & SPENCER, P. B. S., (2000): Polymorphic microsatellite markers in the ornate dragon lizard, *Ctenophorus ornatus*. *Mol Ecol*, 9: 365-366.
- LESSA, E. P. (1992): Analysis of DNA sequence variation at population level by Polymerase Chain Reaction and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Methods in Enzymology*, Vol. 224. Academic Press Inc.
- LINHART, Y. B., (1974): „Intra-population differentiation in annual plants. *Veronica peregrina* raised under non-competitive conditions.“ *Evolution* 28: 232-243.
- LITT, M., HAUGE, X., SHARMA, V. (1993): Shadow bands seen when typing polymorphic repeats. *BioTechniques* 15: 280-284.
- LITT, M., LUTY, J. A. (1989): A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics* 44: 397-401.
- LOESCHKE, V. (1988): Populationsgenetik und Artenschutz. *Naturwiss. Rundschau* 41: 310- 314.
- LUBJUHN, T., SCHARTL, M. & J.T. EPPLEN (1994): Methodik und Anwendungsgebiete des genetischen Fingerabdruckverfahrens. *Biologie in unserer Zeit* 24 (1): 9-14.
- LYNCH, M. (1991): Analysis of Population Genetic Structure by DNA Fingerprinting. In: BURKE, T., DOLF, G., JEFFREYS, A.J. & R. WOLFF (Hrsg.): *DNA Fingerprinting - Approaches and Applications*. Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin: 113-126.
- LYNCH, M. & B.G. MILLIGAN (1994): Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol.* 3: 91-99.
- MACARANAS, J. M., MATHER, P. B., HOEBEN, P., CAPRA, M. F. (1995): Assessment of genetic variation in wild populations of the redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*, von Martens 1868) by means of allozyme and RAPD-PCR markers. - *Mar Freshwater Res* 46: 1217-1228.

- MADER, H.-J. (1990): Die Isolation von Tier- und Pflanzenpopulationen als Aspekt einer europäischen Naturschutzstrategie. *Natur u. Landschaft* 1: 9-12.
- MANLY, B. F. J. (1994): *Multivariate Statistical Methods: A Primer*. 2nd edn. Chapman & Hall, London.
- MANTEL, N. (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- MAYER, W. (1981): Elektrophoretische Untersuchungen an europäischen Arten der Gattungen *Lacerta* und *Podarcis*. *Podarcis tiliguerta* - Art oder Unterart? *Zool. Anz. Jena* 3/4: 151-157.
- MAYER, W. & F. TIEDEMANN (1980): Elektrophoretische Untersuchungen an europäischen Arten der Gattungen *Lacerta* und *Podarcis*. I. Die *Podarcis*-Formen der griechischen Inseln Milos und Skiros. *Z. zool. Systematik u. Evolutionsforschung* 18(2): 147-152.
- MAYER, W., TIEDEMANN, F. (1982): Chemotaxonomical investigations in the collective genus *Lacerta* (*Lacertidae*, Sauria) by means of protein electrophoresis. – *Amphibia-Reptilia*, Leiden, 2: 349-355.
- MCPHERSON, M.J., ECKSTEIN, P.E., SCOLES, G.J. & GAJADHAR, A.A. (1993): Variability of the random amplified polymorphic DNA assay among thermocyclers and effects of primer and DNA. *Molecular and Cellular Probes* 7: 193-299.
- MCPHERSON, M.J., JONES, K.M. & GURR, S.J. (1993): PCR with highly degenerate primers. In: MCPHERSON, M.J., QUIRKE, P. & TAYLOR, G.R. (Hrsg.): *PCR – A Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokio: 171-186.
- MENGES, E. S., (1991): The application of minimum viable population theory to plants. *Genetics and conservation of rare plants*: 45-61.
- MENGES, E. S., (1991): Seed germination percentage increases with population size in a fragmented prairie species. *Conservation Biology* 5 (2): 158-164.
- MICHELI, M.R., BOVA, R., CALISSANO, P. & E. D'AMBROSIO (1993): Randomly amplified polymorphic DNA fingerprinting using combinations of oligonucleotide primers. *Bio Techniques* 15: 388-390.
- MILLIGAN, B.G., LEEBENS-MACK, J. & A.E STRAND (1994): Conservation genetics: beyond the maintenance of marker diversity. *Mol Ecol.* 3: 423-435.
- MISHRA, M., DUBEY, N., TOTEY, S.M., BHAT, K.V., BABU, S., AWASTHI-KALIA, M., ANAND, R.K. (2002): Phylogenetic relationships and genetic polymorphisms in wild Indian mice. *Biomol Eng* 18: 281-288.

-
- MITTON, JB. (1993): Theory and data pertinent to the relationship between heterozygosity and fitness. In THORNHILL NW (Hrsg.): The natural history of inbreeding and outbreeding. Chicago: The University of Chicago Press: 17-41.
- MITTON, JB., GRANT, MC. (1984): Associations among protein heterozygosity, growth rate and developmental homeostasis. Annual reviews of Ecology and systematics 15: 479-499.
- MOSER, D. (1999): Polymorphismen der UCP-Gene und des β 3-AR-Gens im Zusammenhang mit dem Phänotyp der Adipositas. Diplomarbeit. Philips-Univ. Marburg.
- MÖLLER, A., BRINKMANN, B. (1994): Locus ACTBP2 (SE33). Sequencing data reveals considerable polymorphism. Int J Leg Med 106: 262-267.
- MÜHLENBERG, M. & T. HOVESTADT (1991): Flächenanspruch von Tierpopulationen als Kriterien für Maßnahmen des Biotopschutzes und als Datenbasis zur Beurteilung von Eingriffen in Natur und Landschaft. In HENLE, K. & G. KAULE (Hrsg.): Arten und Biotopschutzforschung für Deutschland. Bd. 4, Forschungszentrum Jülich: 142-157.
- MÜHLENBERG, M. (1993): Freilandökologie, Heidelberg.
- MÜLLER, P. (1968): Zur Verbreitung der Mauereidechse *Lacerta muralis* (LAURENTI 1768) im Saarland. - Faun.-flor. Not. Saarland, 1 (1): 5-6.
- MÜLLER, P. (1976): Arealveränderungen von Amphibien und Reptilien in der Bundesrepublik Schr.-R. Vegetationskunde. 10: 269-293, Bonn-Bad Godesberg.
- MÜLLER, P. (1976): Tiere als Belastungsindikatoren und ökologische Kriterien. Daten und Dokumente zum Umweltschutz 19: 153-171.
- MÜLLER, P. (1980): Biogeographie. Ulmer-Verlag, Stuttgart.
- MÜLLER, P. (1984): Die für ein Biomonitoring interessanten Reptilien von Saarbrücken. In: Ökomodell Saarbrücken (Ökologische Stadtkataster) - [Forschungsbericht im Auftrag des Umweltbundesamtes].
- MÜLLER, P., KAUTENBURGER, R., ELLE, O., GASSERT, F., HE, X., LANGER, M., BÜRGER, K., TU, N. (2002): Flächennutzungsinduzierte Anpassungsprozesse, molekulargenetische Veränderungen und Indikationsbedeutung von Organismen in der Region Trier als Grundlagen für verbesserte Umweltmanagementstrategien. In: MÜLLER, RUMPF & MONHEIM: Umwelt und Region – Aus der Werkstatt des Sonderforschungsbereichs 1: 137-142.
- MÜLLER, P., KAUTENBURGER, R., ELLE, O., SCHMITT, TH., EISENBARTH, D., GASSERT, F., LANGER, M., QUACK, M., PETER, T., T. RÖLKER (2002):

Veränderungen und Anpassungsprozesse von Tier- und Pflanzenpopulationen in agrarisch und forstlich genutzten Ökosystemen der Region. Ergebnisbericht des Sonderforschungsbereichs 522 – Umwelt und Region: 165-188.

- MURALDIHARAN, K. & E. K. WAKELAND (1993): Concentration of primer and template qualitatively affects products in random-amplified polymorphic DNA PCR. *Bio Techniques* 14: 362-364.
- NADEAU, J. H., BEDIGIAN, H. G., BOUCHARD, G., DENIAL, T., KOSOWSKY, M., NORBERG, G., PUGH, S., SARGEANT, E., TURNER, R. & B. PAIGEN (1992): Multilocus markers for mouse genome analysis - PCR amplification based on single primers of arbitrary nucleotide sequence. *Mamm Genome* 3: 55-64.
- NEI, M. (1972): Genetic distance between populations. *Am Nat* 106: 283-292.
- NEI, M. & LI, W.H. (1973): Linkage disequilibrium in subdivided populations. *Genetics* 75: 213-219.
- NEI, M., MARUYAMA, T. & R. CHAKRABORTY (1975): The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29: 1-10.
- NEI, M. (1987): Genetic distance and molecular phylogeny. In: RYMAN, N. & UTTER, F. (Hrsg.): *Population genetics and Fishery Management*. 89-120. Univ. of Wash. Press, Seattle, London.
- NEMBRINI, M. & OPPLIGER, A., (2003): Characterization of microsatellite loci in the wall lizard *Podarcis muralis* (Sauria: *Lacertidae*). *Mol Ecol Notes* 3: 123-124.
- NEVO, E. (2001): Evolution of genome-phenome diversity under environmental stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 98: 6233-6240.
- NEWTON, C.R. & A. GRAHAM (1994): *PCR*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford.
- O'BRIEN; S.J., ROELKE, M.E., MARKER, L., NEWMAN, A., WINKLER, C.A., MELTZER, D., COLLY, L., EVERMANN, J.F., BUSH, M, WILDT, D.E. (1985): Genetic basis for species vulnerability in the cheetah. *Science* 227: 1428-1434.
- O'BRIEN, S.J., WILDT, D.E. & M. BUSH (1986): The cheetah in genetic peril. *Scientific American* 254: 84-92.
- O'BRIEN, S.J., WILDT, D.E., GOLDMAN, D., MERRILL, C.R., BUSH, M. (1983): The cheetah is depauperate in genetic variation. *Science* 221: 459-462.
- ORR, H. A., (1998): Testing natural selection vs. genetic drift in phenotypic evolution using quantitative trait locus data. *Genetics* 149 (4): 2099-2104.

- PARENT, G. H. (1974): Mise au point sur l'Herpétofaune de la Belgique, du Grand-Duché de la Luxembourg et des Territoires adjacentes. Bull. Soc. Nat. Luxemb., 79: 79-131.
- PARENT, G. H. (1976): Quelques problèmes écologiques et biogéographiques en rapport avec l'Herpétofaune de la Belgique et des régions limitrophes. In: Congr. Sci. Bruxelles, 27. XII. 1976: B1.1-B1.8.
- PARENT, G. H. (1978): Contribution à la connaissance du peuplement herpétologique de la Belgique. La caractéristique relictuelle d'âge Atlantique de l'aire du lézard des murailles, *Lacerta muralis muralis* (Laurenti) au Benelux. Nat. Belg., Bruxelles, 59: 209-222.
- PASSARGE, E. (1994): Taschenatlas der Genetik, Thieme Verlag.
- PEREZ, T., ALBORNOZ, J. & A. DOMINGUEZ (1998): An evaluation of RAPD fragment reproducibility and nature. Mol. Ecol. 7: 1347-1357.
- PUERS, C., HAMMOND, H. A., JIN, L., CASKEY, C. T., SCHUMM, J. W. (1993): Identification of repeat sequence heterogeneity at the polymorphic short tandem repeat locus HUMTH01 [AATG]_n and reassignment of alleles in population analysis by using a locus-specific allelic ladder. Am J Hum Genet 53: 953-958.
- QUACK, M. (2004): Molekulargenetische Untersuchungen zur Variabilität der Fichte (*Picea abies* [L.] Karst.) in Deutschland. Dissertation. Univ. Trier.
- QUACK, M. (1998): Populationsgenetische Untersuchungen an Brassen (*Abramis brama* L.) aus der Elbe zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit jährlicher Probenahmen im passiven Biomonitoring. Diplomarbeit. Univ. Saarbrücken.
- QUESADA, H.; WENNE, R.; SKIBINSKI, D. O. F., (1999): Interspecies transfer of female mitochondrial DNA is coupled with role-reversals and departure from neutrality in the mussel *Mytilus trossulus*. Molecular Biology and Evolution 16 (5): 655-665.
- RAYMOND, M., ROUSSET, F. (1995): GENEPOP (version 3.4): population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal of Heredity 86: 248-249.
- REYNOLDS, J., WEIR, B. S., COCKERHAM, C. C. (1983): Estimation of coancestry coefficient: basis for a short term genetic distance. Genetics 105: 767-779.
- RICHARD, M. & THORPE, R. S., (2000): Highly polymorphic microsatellites in the lacertid *Gallotia galloti* from the western Canary Islands. Mol Ecol 9: 1919-1920.
- RICHTER, K. (1994): Eine neue Population der Mauereidechse (*Podarcis muralis*) bei Leipzig (Sachsen). Die Eidechse 5(11): 8-10.
- RIDLEY, M. (1990): Evolution. Akademie-Verlag, Berlin.

- ROMERO MARTIN, M. (1998): Untersuchungen zur Ökologie der Mauereidechse (*Podarcis muralis*, L.) in Heidelberg. Die Eidechse 9(1): 10-21.
- SAIKI, R. K. (1990): Amplification of genomic DNA. In: INNIS, M.A., GELFAND, D.H., SNINSKY, J.J. & T.J. WHITE (Hrsg.): PCR Protocols - A Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego: 13-20.
- SAIKI, R.K., GELFAND, D.H., STOFFEL, S., SCHARF, S.J., HIGUCHI, R., HORN, G.T, MULLIS, K.B. & H.A. ERLICH (1988): Primer-directed enzymatic amplifications of DNA with a thermostabile DNA polymerase. Science 239: 487-491.
- SAITOU, N., NEI, M. (1987): The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4: 406-425.
- SANGER, F., MICKLEN, S., COULSON, A. R. (1977): DNA sequencing and chain terminating inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 74: 5463-5467.
- SCHIERWATER, B., METZLER, D., KRÜGER, K., STREIT, B., LIEBERMANN, M. (1996): The effects of nested primer binding sites on the reproducibility of PCR: Mathematical modeling and computer simulation studies. J. Computational Biology 3(2): 235-251.
- SCHIERWATER, B. (Hrsg.) (1994): Molecular ecology and evolution: Approaches and applications. Birkhäuser Verlag. Basel, Boston, Berlin.
- SCHLÖTTERER, C. & J. PEMBERTON: The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations. In SCHIERWATER, B. (Hrsg.) (1994): Molecular ecology and evolution: Approaches and applications: 203-215.
- SCHMIDT-LOSKE, K. (1997): Some remarks on habitat use by *Podarcis muralis* LAURENTI, 1768 in vine-growing parts of the Ahr valley near Bad Neuenahr-Ahrweiler (Rhineland-Palatinate). In BÖHME, W., BISCHOFF, W. & T. ZIEGLER (Hrsg.): Herpetologia Bonnensis: 331-340.
- SCHNEIDER, S., ROESSLI, D., EXCOFFIER, L., (2000): Arlequin. A software for population genetics data analysis. Ver. 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva.
- SETTELE, S., FELDMANN, R., HENLE, K., KOCKELKE, K. & H-J. POETHKE (1998): Populationsgrößen-schätzung bei Tieren - ausgewählte Verfahren für den Einsatz in Populationsökologie und Naturschutz. Naturschutz und Landschaftsplanung 30(6): 174- 181.
- SEYFFERT, W. (1998): Lehrbuch der Genetik. Fischer, Stuttgart.
- SHAO, J., TU, D. (1995): The jackknife and the bootstrap. Springer, New York: 516.

-
- SILVA, E.P. & RUSSO, C. (2000): Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. *Hydrobiologia* 42: 119-135.
- SINCLAIR, E. A., N. J. WEBB, A. D. MARCHAND, C. R. TIDEMANN (1996): Genetic variation in the little red flying-fox *Pteropus scapulatus* (Chiroptera, Pteropodidae): implications for management. *Biological Conservation* 76: 45-50.
- SLATKIN, M., BARTON, N. H. (1989): A comparison of three methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43: 1358-1368.
- SLATKIN, M.; VOELM, L. (1991): F_{ST} in a hierarchical island model. *Genetics* 127 (3): 627- 629.
- SNEATH, P.H.A., SOKAL, R.R. (1973): *Numerical Taxonomy*. WH Freeman and Co., San Francisco.
- SORK, V. L., NASON, J., CAMPBELL, D. R. & FERNANDEZ- M., J. F. (1999): Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. In revision, *Trends in Ecology and Evolution*.
- SOCHUREK, E. (1957): Herpetologische Beobachtungen um Triest. *Aquaristik* 3: 71-74.
- SOULÉ, M.E. (1987): *Viable Populations for Conservation*. Cambridge Universität Press, Cambridge.
- SPERLICH, D. (1988): *Populationsgenetik - Grundlagen und experimentelle Ergebnisse*. 2. Aufl. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart , New York.
- STEPNIAK, E., ZAGALSKA, M. M., SWITONSKI, M. (2002): Use of RAPD technique in evolution studies of four species in the family Canidae. *J Appl Genet* 43: 489-499.
- STREIFF, R. (2000): Comparison of microsatellites and amplified fragment length polymorphism markers of parentage analysis. *Mol. Ecol*: 1037-1048.
- STRIJBOSCH, H., & J.J. VAN GELDER (1997): Population structure of lizards in fragmented landscapes and causes of their decline. In BÖHME, W., BISCHOFF, W. & T. ZIEGLER (Hrsg.): *Herpetologia Bonnensis*: 347-351.
- STRIJBOSCH, H., BONNEMAYER, J.J.A.M. & P.J.M. DIETVORST (1980a): De muurhagedis (*Podarcis muralis*) in Maastricht, I: Structuur en dynamiek van de populatie. *Naturhist. Maandbl.* 69: 210-217.
- STRIJBOSCH, H., BONNEMAYER, J.J.A.M. & P.J.M. DIETVORST (1980b): De muurhagedis (*Podarcis muralis*) in Maastricht, II: Biotoop en Biotoopgebruik. *Naturhist. Maandbl.* 69: 240-246.
- STRIJBOSCH, H., BONNEMAYER, J.J.A.M. & P.J.M. DIETVORST (1980c): The northernmost population of *Podarcis muralis* (Lacertilia, Lacertidae). *Amphibia-Reptilia* 1: 161-172.

Système d'informations sur la biodiversité en Wallonie (2001): Atlas herpétologique en Wallonie.

TABERLET, P., L. FUMAGALLI, A.-G. WUST-SAUCY, J.-F. COSSON (1998): Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Mol. Ecol.* 7: 453-464.

TABOR, S. RICHARDSON, CC. (1987): Selective oxidation of the exonuclease domain of bacteriophage T7 DNA polymerase. *J Biol Chem* 262:15330-15333.

THELANDER, G. (1994): *Life on the Edge: A Guide To California's Endangered Natural Resources*. Ten Speed Press, Berkeley, CA.

URQUHART, A., OLDROYD, N. J., KIMPTON, C. P., GILL, P. (1995): Highly discrimination heptaplex short tandem repeat PCR system for forensic identification. *BioTechniques* 18: 116-121.

TURKINGTON, R., W. AARSON, (1984): Local-Scale differentiation as a result of competitive interactions. *Perspectives on plant population ecology*, Dierzo R. und Sarukhan, J.. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates Inc.

VAN HINTUM, T. JL. (1995): Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants: 23-34. In: HODGKIN, T. BROWN, AHD. VAN HINTUM, T.JL. & MORALES, EAV. (Hrsg.): *Core Collections of Plant Genetic Resources*. John Wiley and Sons, New York.

VEITH, M., BAHL, A. & A. SEITZ (1999): Populationsgenetik im Naturschutz - Einsatzmöglichkeiten und Fallbeispiele. In: AMLER, K., BAHL, A., HENLE, K., KAULE, G., POSCHOLD, P. & J. SETTELE (Hrsg.): *Populationsbiologie in der Naturschutzpraxis*. Ulmer- Verlag, Stuttgart (Hohenheim): 112-126.

VEITH, M., BAHL, A. & A. SEITZ (1999): Quantifizierung von Isolation - das Beispiel der Zauneidechse (*Lacerta agilis*) in der Halleschen Porphyrkuppenlandschaft. In: AMLER, K., BAHL, A., HENLE, K., KAULE, G., POSCHOLD, P. & J. SETTELE (Hrsg.): *Populationsbiologie in der Naturschutzpraxis*. Ulmer-Verlag, Stuttgart (Hohenheim): 121- 123.

WÄGELE, J. W. (2001): *Grundlagen der Phylogenetischen Systematik*. Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München: 320.

WEIR, B. S, COCKERHAM, C. C. (1984): Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.

WHITE, T., ARNHEIM, N. & ERLICH, H. A. (1989): The polymerase chain reaction. *Trends in Genetics* 5(6): 185-189.

- WILLIAMS, J. G. K., HANAFFY, M. K., RAFALSKI, J. A. & S. V. TINGEY (1993): Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Methods Enzymol* 218: 704-740.
- WILLIAMS, J. G. K., KUBELIK, A. R., LIVAK, K. J., RAVALSKI, J. A. & S. V. TINGEY (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl Acids Res* 18(22): 6531-6535.
- WISSEL, C., STEPHAN, T. & S. H. ZASCHKE (1994): Modelling extinctions of small populations. In REMMERT, H. (Hrsg.): *Minimal Animal populations (Ecological Studies 106)*. Springer Verlag, Berlin: 67-102.
- WRIGHT, S. (1951): The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323-354.
- WRIGHT, S. (1978): *Evolution and the Genetics of Populations*. Universität of Chicago Press, Chicago.
- WU, C. F. J., (1986): Jackknife, bootstrap and other resampling methods in regression analysis (with discussion). *Annals of Statistics* 14: 1261-1350.
- YEH, F.C., BOYLE, T.J.B., (1997): Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany* 129: 157.
- ZAMUDIO, K. R. & WIECZOREK, A. M., (2000): Microsatellites for studies of ecology, behaviour, and evolution in Yarrow's spiny lizard (*Sceloporus jarrovii*). *Mol Ecol*, 9: 1667-1669.
- ZHOU, L., WANG, Y., GUI, J. F. (2000): Analysis of genetic heterogeneity among five gynogenetic clones of silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch, based on detection of RAPD molecular markers. *Cytogenet Cell Genet* 88: 133-139.
- ZHOU, L., WANG, Y., GUI, J. F. (2000): Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) as revealed by RAPD assays. *J Mol Evol* 51: 498-506.
- ZIMMERMANN, P. (1989): Zur Ökologie und Schutzproblematik der Mauereidechse (*Podarcis muralis*). *Veröff. Naturschutz Landschaftspflege Bad.-Württbg.* 64/65: 221-236.
- ZIMMERMANN, M. (2003): Isolierung und Charakterisierung von DNA-Mikrosatelliten zur Beschreibung der genetischen Variabilität von *Carabus splendens* OLIVIER 1790 (Coleoptera, Carabidae). Diplomarbeit. Univ. Bremen.

Anhang

Verwendete und ausgewertete Primer:

Locus	Primer Sequenz (5'-3') Fluoreszenzmarkiert auf dem Forward-Primer	T _a (°C)	Repeat Motif	Größe der klonierten Allele (bp)
C9	F: HEX-CAT TGC TGG TTC TGG AGA AAG R: CCT GAT GAA GGG AAG TGG TG	57	(CAA) ₇ CCA (CAA) ₃	130
B7	F: FAM-GGG GAA AGC TAC TGG CTA CAC R: AGT CCA GGT GAA TTT GCA GAG	60	(AG) ₁₉	129
A7	F: FAM-TGC TTA TGG GTG ATG ACT GG R: AGA ATT GCA GAG GTG GAA GG	61	(GT) ₁₈	182
B3	F: HEX-CTG TCC TCT CAC AGT TCA CTC C R: AAA GAG CTA AGA AGC GAA GAC C	57	(GAA) ₃ (GA) ₁₄ (TAGA) ₃ (GA) ₁₄	177
B4	F: HEX-AAT CTG CAA TTC TGG GAT GC R: AGA AGC AGG GGA TGC TAC AG	57	(AG) ₁₆	139
C24	F: FAM-AGA GTG GCT GGG GGA AAC R: GTA AGT AAA CGG GCG GCT TG	60	(TAAA) ₃ (CAA) ₁₀ (AAT) ₃	205
Lv-4-alpha	F: FAM-CTG CAG GGA ACA GAA TTA ACC R: CTG CCC AGA AAG CAT TTC C	60	(AC) ₁₄ A(GA) ₁₁ (CAGAGA) ₉ CAGAT(AG) ₃	130- 158
Lv-3-19	F: HEX-CTG TTG CTA TTT TGT ATG CTT AC R: CCT GTG ACT GTC CTC AGA GG	55	(AC) ₂₂	149- 169

Weiterhin getestete Primer:

Lv-4-72	F: CCC TAC TTG AGT TGC CGT C R: CTT TGC AGG TAA CAG AGT AG	53	(AC) ₁₈	103- 130
Lv-4-X	F: CTG AAA CAT GGA TTA GAG GC R: GCA CTC CTT GCG TGG C	54	(GT) ₂₂	117- 139

Software

ArcView GIS 3.0a ESRI Geoinformatik GmbH, Kranzberg GIS
 STATISTICA 6.0 Statsoft, Tulsa Clusterdiagramm,
 Faktoranalyse, Diskriminanzanalyse
 ARLEQUIN 2.000 Schneider et al. 2000 AMOVA
 POPGENE Ver. 1.32 YEH et al. 1997 Diversität
 GENEPOP Ver. 3.4 RAYMOND & ROUSSET 1995 isolation by distance
 ABI PRISM 310 COLLECTOR SOFTWARE 1.2- Applied Biosystems
 Weiterstadt Fragmentanalyse, Sequenzanalyse
 GENESCAN ANALYSIS SOFTWARE 3.0 Applied Biosystems,
 Weiterstadt Fragmentanalyse

DNA SEQUENCING SOFTWARE 2.1 Applied Biosystems, Weiterstadt Sequenzanalyse

Polymerase, dNTPs und Längenstandard

Es wurde DyNAzyme™ II DNA Polymerase der Firma FINNZYMES verwendet. Es handelt sich um thermostabile Polymerase (2U/μl), die aus *Thermus brockianus* F500 isoliert wird. Im dNTP-Mix sind die Desoxynukleosidtriphosphate dATP, dGTP, dCTP und dTTP in sterilem H₂O_{bidest.} gelöst. (pH 7, Menge pro dNTP 200μM in der Stammlösung)

Für die DNA-Polymerasereaktion optimierter Puffer:

PCR-Puffer 10x (PrimeZyme™ Biometra)

100 mM	Tris-HCl (pH 8.8)
15 mM	MgCl ₂
500 mM	KCl
1 %	Triton X-100

Als Längenstandard für die gelelektrophoretische Auftrennung wurde der 100 bp PCR Molecular Ruler (Konz. 200μg/ml) der Firma Bio-Rad Laboratories verwendet. Er trennt in 100 bp Schritten 30 Banden im Bereich von 100 bp bis 3000 bp.

Für die Kapillarelektrophoretische Auftrennung wurde der GeneScan™ -500 ROX™ Standard der Firma Applied Biosystems (Produkt P/N 401734E) verwendet.

Sequenzierungskit

ABI PRISM® Big Dye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit, Part. No. 433674, Applied Biosystems

Gel Extraktions Kit

E.Z.N.A.® Gel Extraktion Kit peqLab Biotechnologie GmbH Classic line, 91052 Erlangen

Puffer und Lösungen

*Agarose (SERVA) for DNA Electrophoresis - Analytical Grade
(Boehringer Ingelheim Bioproducts)*

*Agarose Type 1
(AMRESCO Inc., Solon, Ohio, USA)*

BigDye® Terminator v1.1, v3.1 5xSequencing Buffer, Applied Biosystems

Bisbenzimid-Lösung (Hoechst) 10⁻³ mol/l Bisbenzimid (H33258×3HCl×5 H₂O)

Chloroform p.a.

*DyNAzyme™ DNA Polymerase Kit (FINNZYMES, Espoo, Finnland)
mit 10x Puffer aus*

10 mM Tris-HCl (pH 8.8,)
1.5 mM MgCl₂
50 mM KCl
0.1 % Triton® X-100

Ethanol absolut, unvergällt

Ethanol 80%, unvergällt in sterilem H₂O_{deion.}

Ethanol 70%, unvergällt in sterilem H₂O_{deion.}

Ethidiumbromid-Lösung (Boehringer Ingelheim Bioproducts 1 µg/ml)

Formamid (Applied Biosystems, Warrington, UK)

Gene-Scan Längenstandard GS 500 ROX (Applied Biosystems, Warrington, UK)

Genetic Analyzer-Puffer mit EDTA (Applied Biosystems, Warrington, UK)

H₂O *bidest.*

H₂O *deion.*

6 M NaCl-Lösung in H₂O *deion.*

Na-Acetat-Lösung

3.0 M Na-Acetat

PCR-Puffer 10x (PrimeZyme™ Biometra)

100	mM	Tris-HCl (pH 8.8)
15	mM	MgCl ₂
500	mM	KCl
1	%	Triton X-100

Performance Optimized Polymer 6 (POP-6™) (Applied Biosystems, Warrington, UK)

SE-Puffer

25	mM	NaCl
75	mM	EDTA
1	%	SDS
		pH 8.0

Stop-Lade-Mix

20	mg	Bromphenolblau
40	%	Sacharose
0.1	M	Na ₂ EDTA

TBE-Puffer

0.089	M	Tris-HCl
0.089	M	Borsäure

0.002 M Na₂EDTA
pH 8.0-8.2

TE-Puffer

10 mM Tris-HCl
1 mM Na₂EDTA
pH 7.5

Tris-HCl

0.9 M NaCl
0.1 M Tris
0.05 M MgCl₂ bei pH 9.5

Geräte und Sonstiges

Agarose Agarose (SERVA) for DNA Electrophoresis - Analytical Grad
(Boehringer Ingelheim Bioproducts)
Agarose Type I (AMRESCO Inc., Solon, Ohio, USA)

Elektrophoreseausrüstung

Elektrophorese-Kammer (GNA 200, Pharmacia Biotech, Freiburg)
Gelgiesstand (BIO-RAD)
Geltrog (Pharmacia Biotech, 20x20 cm)
Netzgerät (CONSORT E 865, Turnhout, Belgien)
Slotkamm (22 Slots, Pharmacia Biotech)

Filme Polaroid Typ 667, Schwarzweiß-Sofort-Packfilm, ISO 3000
(Polaroid, U.K.)

Kamera Polaroid MP-4, Filter #15 orange (Polaroid, U.K.)

Mikrowelle AEG Micromat 135

Photometer Gene Quant II (Pharma Biotech, Cambridge, England)
Sequenzierer ABI PRISM™310 Genetic Analyzer, PE Applied
Biosystems, Weiterstadt

Thermocycler Gene A. PCR System 9700, PE (Applied Biosystems),
(Perkin Elmer, Norwalk, USA)

UV-Transilluminator N - 90 M (INTAS), (Konrad Bender)

Vortex Genie 2

Zentrifuge Universal-Tischkühlzentrifuge Z 320K (Firma Hermle GmbH & Co)

Statistikwerte

Nei's Original Measures of Genetic Identity (oberhalb Diagonalen) und Genetic distance (unterhalb Diagonalen) Nei (1972)

9	04.06.2003	P. muralis	Pula	m.	65	90	155	Regenerat
10	04.06.2003	P. muralis	Pula	w.	58	70	128	Regenerat
11	04.06.2003	P. muralis	Pula	m.	63	100	163	
1	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	m.	58	84	142	Regenerat
2	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	m.	61	82	143	Regenerat
3	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	w.	48	85	133	
4	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	m.	59	99	158	
5	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	w.	52	68	120	Regenerat
6	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	w.	55	99	154	
7	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	m.	62	105	167	
8	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	w.	57	72	129	Regenerat
9	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	w.	57	94	151	
10	23.04.2001	P. muralis	St. Martin	m.	59	71	130	Regenerat
11	02.08.2002	P. muralis	St. Martin	m.	62	106	168	
12	02.08.2002	P. muralis	St. Martin	w.	55	107	162	
13	02.08.2002	P. muralis	St. Martin	m.	62	112	174	
14	02.08.2002	P. muralis	St. Martin	w.	59	100	159	
15	02.08.2002	P. muralis	St. Martin	m.	58	102	160	
16	02.08.2002	P. muralis	St. Martin	w.	57	105	163	
17	02.08.2002	P. muralis	St. Martin	m.	60	108	168	
18	02.08.2002	P. muralis	St. Martin	m.	59	109	168	
1	14.06.2002	P. muralis	Bitche	w.	53	63	116	Regenerat
2	14.06.2002	P. muralis	Bitche	w.	56	96	152	
3	14.06.2002	P. muralis	Bitche	m.	60	107	167	
4	14.06.2002	P. muralis	Bitche	w.	57	98	155	
5	14.06.2002	P. muralis	Bitche	m.	59	74	133	Regenerat
6	14.06.2002	P. muralis	Bitche	m.	62	113	175	
7	14.06.2002	P. muralis	Bitche	w.	55	93	148	
8	14.06.2002	P. muralis	Bitche	m.	61	84	145	Regenerat
9	14.06.2002	P. muralis	Bitche	m.	62	112	174	
10	14.06.2002	P. muralis	Bitche	w.	56	89	145	
11	14.06.2002	P. muralis	Bitche	w.	57	69	126	Regenerat
12	14.06.2002	P. muralis	Bitche	m.	61	108	169	
13	14.06.2002	P. muralis	Bitche	w.	59	107	166	
14	12.07.2002	P. muralis	Bitche	m.	60	110	170	
15	12.07.2002	P. muralis	Bitche	m.	61	81	142	Regenerat
16	12.07.2002	P. muralis	Bitche	w.	52	90	142	
17	12.07.2002	P. muralis	Bitche	m.	62	111	173	
18	12.07.2002	P. muralis	Bitche	m.	60	83	143	Regenerat
19	12.07.2002	P. muralis	Bitche	w.	54	66	120	Regenerat
20	12.07.2002	P. muralis	Bitche	m.	61	109	170	
1	28.08.2001	P. muralis	Igel	w.	52	52	104	Regenerat
2	28.08.2001	P. muralis	Igel	w.	55	69	124	Regenerat
3	28.08.2001	P. muralis	Igel	m.	60	100	160	
4	28.08.2001	P. muralis	Igel	m.	61	102	163	
5	28.08.2001	P. muralis	Igel	m.	59	98	157	
6	28.08.2001	P. muralis	Igel	w.	55	70	125	Regenerat
7	28.08.2001	P. muralis	Igel	w.	60	93	153	
8	28.08.2001	P. muralis	Igel	m.	62	80	142	
9	28.08.2001	P. muralis	Igel	m.	61	99	160	
10	28.08.2001	P. muralis	Igel	w.	58	78	136	Regenerat
11	28.08.2001	P. muralis	Igel	w.	59	93	152	
12	28.08.2001	P. muralis	Igel	m.	62	88	150	Regenerat

13	28.08.2001	P. muralis	Igel	m.	63	90	153	
1	28.08.2001	P. muralis	Urft	w.	56	97	153	
2	18.04.2003	P. muralis	Urft	m.	61	102	163	
3	18.04.2003	P. muralis	Urft	w.	58	99	157	
4	18.04.2003	P. muralis	Urft	m.	59	78	137	Regenerat
5	18.04.2003	P. muralis	Urft	m.	62	108	170	
6	18.04.2003	P. muralis	Urft	w.	56	77	133	Regenerat
7	18.04.2003	P. muralis	Urft	w.	58	106	164	
8	18.04.2003	P. muralis	Urft	w.	54	76	130	Regenerat
9	18.04.2003	P. muralis	Urft	m.	62	103	165	
10	18.04.2003	P. muralis	Urft	m.	60	106	166	
11	18.04.2003	P. muralis	Urft	m.	60	72	132	Regenerat
12	18.04.2003	P. muralis	Urft	m.	62	100	162	
1	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	60	108	168	
2	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	62	69	131	Regenerat
3	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	55	69	124	
4	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	58	107	165	
5	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	47	67	114	
6	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	54	67	121	Regenerat
7	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	52	71	123	
8	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	47	70	117	
9	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	63	90	153	
10	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	60	97	157	
11	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	53	82	135	
12	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	52	72	124	Regenerat
13	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	56	85	141	
14	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	58	81	139	
15	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	55	71	126	Regenerat
16	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	45	75	120	Juvenil
17	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	52	82	134	
18	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	60	55	115	Regenerat
19	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	53	70	123	
20	28.06.2004	P. muralis	Anhée	w.	62	74	136	Regenerat
21	28.06.2004	P. muralis	Anhée	m.	60	111	171	

Allelfrequenzen

Nr.	Region	B 3	B 4	B 7	C 24
1	Abruzzen	150 / 177	127	127 / 135	194
2	Abruzzen	165 / 174	123 / 127	99 / 165	196 / 204
3	Abruzzen	166 / 174	131	129	196 / 204
4	Abruzzen	141 / 145	129	115	198 / 204
5	Abruzzen	155 / 177	135	99 / 135	194
6	Abruzzen	159 / 176	127	101 / 131	191
7	Abruzzen	174 / 181	127	101 / 131	193
8	Abruzzen	173 / 183	129	99 / 111	196
9	Abruzzen	164 / 182	127	131	198 / 204
10	Abruzzen	164 / 180	119	107	201
11	Abruzzen	164 / 172	119	101 / 139	171
12	Abruzzen	156 / 177	125	107	204 / 298
13	Abruzzen	154 / 176	121	127	298
14	Abruzzen	167 / 170	127 / 131	101	196

Nr.	Region	B 3	B 4	B 7	C 24
15	Süd-Istrien	166 / 174	133	117	196
16	Süd-Istrien	168 / 172	125 / 131	111 / 131	196
17	Süd-Istrien	164	133	111 / 113	196
18	Süd-Istrien	158 / 176	125 / 131	117	201 / 207
19	Süd-Istrien	167	125	111 / 113	207
20	Süd-Istrien	167	125	113 / 139	196 / 207
21	Süd-Istrien	177	125	111 / 113	196
22	Süd-Istrien	170 / 176	125	111 / 141	196
23	Süd-Istrien	164 / 172	125	117 / 141	196
24	Süd-Istrien	170 / 176	125	133 / 139	196
25	Süd-Istrien	157 / 163	129 / 133	107 / 125	190 / 198
26	Ardeche	151 / 157	129	107 / 131	190 / 204
27	Ardeche	142 / 144	129 / 135	115	204
28	Ardeche	153 / 167	129 / 139	107	193
29	Ardeche	151 / 174	129	107 / 137	190 / 204
30	Ardeche	158 / 167	145	107 / 127	196 / 204
31	Ardeche	157 / 183	125 / 129	133	193 / 204
32	Ardeche	143 / 157	129 / 135	107 / 119	190 / 193
33	Ardeche	176 / 182	127 / 145	127 / 135	194
34	Ardeche	167	125	131 / 135	190 / 204
35	Ardeche	153 / 159	147	131 / 135	190 / 196
36	Ardeche	142 / 149	131	107 / 135	193
37	Ardeche	151 / 157	141 / 145	115 / 135	190 / 204
38	Ardeche	149 / 151	131	107 / 135	190
39	Ardeche	152 / 160	135 / 141	107 / 123	193
40	Ardeche	150 / 155	131	107	193 / 204
41	Ardeche	143 / 179	125	135	190 / 204
42	Ardeche	149	125 / 129	115 / 133	190
43	Ardeche	157 / 167	125	131 / 135	193 / 204
44	Lothringen	142	125	115 / 121	204
45	Lothringen	143	125 / 129	115	198
46	Lothringen	147	125	115 / 121	198
47	Lothringen	142	131 / 133	107 / 115	198
48	Lothringen	142	129 / 131	115	198
49	Lothringen	139 / 145	129 / 131	115	198
50	Lothringen	145	129	107 / 115	198
51	Lothringen	143	129	107 / 115	198
52	Lothringen	139 / 143	125	107 / 115	198 / 204
53	Lothringen	147 / 168	129	115	198 / 210
54	Lothringen	143 / 146	125 / 131	115	198
55	Lothringen	142 / 146	129 / 131	115	198
56	Lothringen	145 / 167	125 / 129	115 / 119	198
57	Lothringen	147	127	107 / 115	198
58	Lothringen	143 / 167	125 / 129	107 / 115	198 / 204
59	Lothringen	145	131	115 / 119	198 / 207
60	Lothringen	139 / 145	125	107 / 115	207 / 210
61	Lothringen	143	129	115	204 / 207
62	Lothringen	145	129 / 131	107 / 115	198 / 204
63	Lothringen	142	125 / 129	107	198 / 204
64	Trier, Mosel	142 / 154	125	115	196 / 204
65	Trier, Mosel	142 / 159	125	141	196 / 204
66	Trier, Mosel	142 / 151	125 / 129	115 / 131	196 / 204

Nr.	Region	B 3	B 4	B 7	C 24
67	Trier, Mosel	151	125	119 / 139	190 / 204
68	Trier, Mosel	147 / 151	125 / 129	115 / 133	190 / 196
69	Trier, Mosel	150 / 153	127	115 / 125	204
70	Trier, Mosel	155	127	117	196 / 204
71	Trier, Mosel	147 / 151	129	115	196
72	Trier, Mosel	142	127	107 / 115	204
73	Trier, Mosel	150 / 159	127	107	204
74	Trier, Mosel	142	125 / 129	107 / 139	196 / 204
75	Trier, Mosel	151	125 / 129	117	204
76	Trier, Mosel	142 / 151	125	115	204
77	Nord-Eifel	148 / 151	125	125	196 / 204
78	Nord-Eifel	155	125	115	196 / 204
79	Nord-Eifel	151 / 155	127	115	193 / 204
80	Nord-Eifel	151 / 155	127	115	196
81	Nord-Eifel	148 / 152	125 / 129	115	204
82	Nord-Eifel	148 / 155	127	115 / 139	204
83	Nord-Eifel	137 / 148	127 / 131	129 / 133	196 / 204
84	Nord-Eifel	148 / 155	125	115 / 135	204
85	Nord-Eifel	148	125	115	204
86	Nord-Eifel	153 / 155	127	139	201 / 204
87	Nord-Eifel	153 / 155	127	123 / 141	201 / 204
88	Nord-Eifel	153 / 155	127	115 / 135	196 / 204
89	Anhee, Bel.	157 / 159	125	107 / 127	204 / 210
90	Anhee, Bel.	159	125	127	204 / 210
91	Anhee, Bel.	155 / 157	125	107 / 137	210
92	Anhee, Bel.	155 / 157	125	127 / 133	208
93	Anhee, Bel.	155 / 159	125	107 / 127	190 / 204
94	Anhee, Bel.	155	125	133 / 137	190 / 204
95	Anhee, Bel.	155	125 / 129	137	204
96	Anhee, Bel.	155 / 159	125	133	204 / 210
97	Anhee, Bel.	155 / 159	125	107 / 133	204
98	Anhee, Bel.	155 / 157	125	137	210
99	Anhee, Bel.	155 / 159	125	137	193 / 204
100	Anhee, Bel.	155 / 157	125	137	193 / 210
101	Anhee, Bel.	157	125	107 / 137	190 / 204
102	Anhee, Bel.	155 / 157	125	127 / 133	210
103	Anhee, Bel.	155	125	137	190 / 210
104	Anhee, Bel.	155	125	133 / 137	204 / 210
105	Anhee, Bel.	155	125	133 / 137	204
106	Anhee, Bel.	155	125	107 / 133	190 / 204
107	Anhee, Bel.	157	125 / 129	133 / 137	204 / 210
108	Anhee, Bel.	155	125	133 / 137	192 / 204
109	Anhee, Bel.	155	125	107 / 137	192 / 204
	H ₀	0,66	0,28	0,61	0,51
	Allele	38	13	20	14

Nr.	Region	C 9	A 7	Lv 3-19	Lv 4-alpha
1	Abruzzen	130 / 154	392 / 398	141 / 159	110 / 120
2	Abruzzen	130 / 151	392 / 400	149 / 151	98 / 118
3	Abruzzen	130	190	143 / 165	118 / 122
4	Abruzzen	148 / 154	188	159	114 / 120
5	Abruzzen	130 / 160	174 / 406	159	102 / 112

Nr.	Region	C 9	A 7	Lv 3-19	Lv 4-alpha
6	Abruzzen	157 / 160	392 / 410	151 / 163	112 / 146
7	Abruzzen	130	394	149 / 163	124
8	Abruzzen	130	188 / 390	151	110 / 114
9	Abruzzen	166 / 175	176 / 406	149	108
10	Abruzzen	166 / 172	168 / 400	149 / 155	110
11	Abruzzen	130	398	149	110 / 118
12	Abruzzen	130	176 / 178	141 / 155	144
13	Abruzzen	130	394 / 398	153 / 163	124
14	Abruzzen	130 / 145	186 / 400	151	102 / 124
15	Süd-Istrien	130 / 175	400	149	110 / 114
16	Süd-Istrien	130	394 / 400	149 / 165	110 / 114
17	Süd-Istrien	130 / 175	194 / 406	149 / 167	112 / 118
18	Süd-Istrien	130	402	149 / 173	114
19	Süd-Istrien	130 / 169	400 / 404	149 / 153	106 / 118
20	Süd-Istrien	130	400	149 / 153	106 / 114
21	Süd-Istrien	130	400	161 / 173	114
22	Süd-Istrien	130	400 / 404	151 / 171	118 / 120
23	Süd-Istrien	130 / 181	400	157 / 169	116
24	Süd-Istrien	130	400	155 / 163	110 / 116
25	Süd-Istrien	154 / 166	188	153 / 165	116 / 128
26	Ardeche	154	188	149 / 157	122
27	Ardeche	151 / 166	186 / 188	151 / 159	110 / 122
28	Ardeche	154 / 160	188 / 198	149 / 157	110 / 122
29	Ardeche	154	188	149	112 / 116
30	Ardeche	154 / 166	184 / 188	155 / 157	112 / 118
31	Ardeche	154 / 160	184 / 190	157	118 / 122
32	Ardeche	154 / 166	188 / 192	155	116 / 120
33	Ardeche	130 / 145	398	143 / 165	98 / 122
34	Ardeche	166 / 178	174 / 188	151	122
35	Ardeche	160 / 166	188 / 192	151 / 155	116 / 124
36	Ardeche	154	188 / 194	153	116
37	Ardeche	154	170	149 / 155	116 / 122
38	Ardeche	154	188 / 190	153	116 / 120
39	Ardeche	154	170 / 194	149 / 157	114 / 116
40	Ardeche	160	192 / 194	155 / 157	114 / 126
41	Ardeche	154 / 160	188 / 194	151 / 153	118
42	Ardeche	154 / 160	188 / 194	151 / 157	112 / 118
43	Ardeche	154 / 181	174 / 188	151	122
44	Lothringen	149 / 161	184 / 196	157 / 159	116 / 118
45	Lothringen	149 / 161	190 / 194	155 / 159	116 / 124
46	Lothringen	155 / 161	190 / 196	157 / 159	116 / 118
47	Lothringen	155	188 / 194	157 / 161	116 / 122
48	Lothringen	155 / 161	188 / 194	151 / 157	120
49	Lothringen	155 / 161	192 / 194	159	120
50	Lothringen	155	188 / 190	149 / 155	116
51	Lothringen	155	184 / 192	151 / 153	116 / 122
52	Lothringen	155 / 161	190 / 192	155	108 / 114
53	Lothringen	155 / 161	190 / 194	149 / 157	118 / 120
54	Lothringen	155 / 164	188 / 190	149 / 159	116 / 118
55	Lothringen	155 / 161	190 / 194	155 / 159	108 / 118
56	Lothringen	155	188 / 194	153 / 157	118 / 122
57	Lothringen	161	188 / 190	149 / 151	116 / 120

Nr.	Region	C 9	A 7	Lv 3-19	Lv 4-alpha
58	Lothringen	155 / 161	190 / 192	157 / 159	122
59	Lothringen	161	188 / 192	149 / 151	108 / 122
60	Lothringen	155	192	155 / 157	118 / 120
61	Lothringen	149 / 155	188 / 194	153	122
62	Lothringen	155 / 161	190 / 192	155	108 / 122
63	Lothringen	149	184	151 / 157	118 / 124
64	Trier, Mosel	155 / 161	188 / 194	153 / 163	122
65	Trier, Mosel	155 / 161	188 / 190	149 / 163	116 / 122
66	Trier, Mosel	155 / 161	192 / 194	163	118
67	Trier, Mosel	155 / 161	184 / 188	157 / 159	116 / 120
68	Trier, Mosel	133 / 155	188 / 198	155 / 161	118
69	Trier, Mosel	155 / 161	188 / 190	153 / 159	116
70	Trier, Mosel	155	188	149 / 155	116
71	Trier, Mosel	152 / 161	192 / 198	163	118
72	Trier, Mosel	155 / 161	188	155	112 / 122
73	Trier, Mosel	155	192 / 194	155 / 161	118
74	Trier, Mosel	155 / 161	190 / 192	153 / 159	118
75	Trier, Mosel	155	188	149 / 155	116
76	Trier, Mosel	155	188	153 / 155	122
77	Nord-Eifel	155 / 161	188	153 / 159	114 / 126
78	Nord-Eifel	161	188	157	112
79	Nord-Eifel	155 / 161	186 / 188	157	114
80	Nord-Eifel	155 / 161	188 / 194	149 / 155	112 / 120
81	Nord-Eifel	155 / 161	186 / 188	155 / 157	114 / 122
82	Nord-Eifel	155 / 161	186 / 188	157	114 / 122
83	Nord-Eifel	155	188 / 194	157 / 159	114 / 124
84	Nord-Eifel	155 / 161	186 / 198	147 / 157	118
85	Nord-Eifel	155	188 / 194	155	112 / 122
86	Nord-Eifel	161	188	155	118 / 120
87	Nord-Eifel	161	188	157	114 / 118
88	Nord-Eifel	130 / 152	188	149 / 155	116 / 118
89	Anhee, Bel.	155	188	141 / 149	118
90	Anhee, Bel.	155	188	151 / 159	126
91	Anhee, Bel.	155	184 / 188	141 / 159	118
92	Anhee, Bel.	155	188	151 / 159	118 / 126
93	Anhee, Bel.	155	188	151 / 159	118
94	Anhee, Bel.	155	188	151	118 / 126
95	Anhee, Bel.	155 / 161	188 / 194	151 / 159	118
96	Anhee, Bel.	155	188	141 / 151	118
97	Anhee, Bel.	155	188	151 / 159	120 / 126
98	Anhee, Bel.	155	188	151	118 / 126
99	Anhee, Bel.	155	188 / 194	151 / 159	118
100	Anhee, Bel.	155	188	141 / 151	118
101	Anhee, Bel.	155	184 / 194	149 / 151	118
102	Anhee, Bel.	155	188	159	118 / 126
103	Anhee, Bel.	155	188	147 / 151	118
104	Anhee, Bel.	155	188 / 194	159	118 / 126
105	Anhee, Bel.	155 / 161	188	149 / 151	118 / 126
106	Anhee, Bel.	155	188	151	118 / 126
107	Anhee, Bel.	155	188	149 / 159	118 / 126
108	Anhee, Bel.	155	188 / 194	159 / 165	118 / 126
109	Anhee, Bel.	155	188 / 194	151	118

Nr.	Region	C 9	A 7	Lv 3-19	Lv 4-alpha
	H ₀	0,5	0,63	0,71	0,61
	Allele	27	22	16	16

Alleltypen

B3		B4		B7		C24		C9		A7		Lv 3-19		Lv 4-alpha	
K	g	E	E	L	P	F	F	A	H	O	Q	A	I	E	J
X	e	C	E	A	T	G	J	A	F	O	R	D	E	A	I
Y	e	G	G	M	M	G	J	A	A	I	I	B	L	I	K
B	F	F	F	F	F	H	J	D	H	H	H	I	I	H	J
P	g	I	I	A	P	F	F	A	K	C	U	I	I	B	F
T	f	E	E	B	N	C	C	J	K	O	V	E	K	F	P
e	j	E	E	B	N	E	E	A	A	P	P	D	K	L	L
d	l	F	F	A	D	G	G	A	A	H	N	E	E	E	G
W	k	E	E	N	N	H	J	N	Q	D	U	D	D	D	D
W	i	A	A	C	C	I	I	N	P	A	R	D	G	E	E
W	c	A	A	B	R	A	A	A	A	Q	Q	D	D	E	I
Q	g	D	D	C	C	J	N	A	A	D	E	A	G	O	O
O	f	B	B	L	L	N	N	A	A	P	Q	F	K	L	L
Z	b	E	G	B	B	G	G	A	C	G	R	E	E	B	L
Y	e	H	H	G	G	G	G	A	Q	R	R	D	D	E	G
a	c	D	G	D	N	G	G	A	A	P	R	D	L	E	G
W	W	H	H	D	E	G	G	A	Q	K	U	D	M	F	I
S	f	D	G	G	G	I	K	A	A	S	S	D	P	G	G
Z	Z	D	D	D	E	K	K	A	N	R	T	D	F	C	I
Z	Z	D	D	E	R	G	K	A	A	R	R	D	F	C	G
g	g	D	D	D	E	G	G	A	A	R	R	J	P	G	G
b	f	D	D	D	S	G	G	A	A	R	T	E	O	I	J
W	c	D	D	G	S	G	G	A	S	R	R	H	N	H	H
b	f	D	D	O	R	G	G	A	A	R	R	G	K	E	H
R	V	F	H	C	K	B	H	H	N	H	H	F	L	H	N
L	R	F	F	C	N	B	J	H	H	H	H	D	H	K	K
C	E	F	I	F	F	J	J	F	N	G	H	E	I	E	K
N	Z	F	J	C	C	E	E	H	K	H	M	D	H	E	K
L	e	F	F	C	Q	B	J	H	H	H	H	D	D	F	H
S	Z	L	L	C	L	G	J	H	N	F	H	G	H	F	I
R	I	D	F	O	O	E	J	H	K	F	I	H	H	I	K
D	R	F	I	C	H	B	E	H	N	H	J	G	G	H	J
f	k	E	L	L	P	F	F	A	C	Q	Q	B	L	A	K
Z	Z	D	D	N	P	B	J	N	R	C	H	E	E	K	K
N	T	M	M	N	P	B	G	K	N	H	J	E	G	H	L
C	J	G	G	C	P	E	E	H	H	H	K	F	F	H	H
L	R	K	L	F	P	B	J	H	H	B	B	D	G	H	K

B3		B4		B7		C24		C9		A7		Lv 3-19		Lv 4-alpha	
J	L	G	G	C	P	B	B	H	H	H	I	F	F	H	J
M	U	I	K	C	J	E	E	H	H	B	K	D	H	G	H
K	P	G	G	C	C	E	J	K	K	J	K	G	H	G	M
D	h	D	D	P	P	B	J	H	K	H	K	E	F	I	I
J	J	D	F	F	O	B	B	H	K	H	K	E	H	F	I
R	Z	D	D	N	P	E	J	H	S	C	H	E	E	K	K
C	C	D	D	F	I	J	J	E	L	F	L	H	I	H	I
D	D	D	F	F	F	H	H	E	L	I	K	G	I	H	L
H	H	D	D	F	I	H	H	I	L	I	L	H	I	H	I
C	C	G	H	C	F	H	H	I	I	H	K	H	J	H	K
C	C	F	G	F	F	H	H	I	L	H	K	E	H	J	J
A	F	F	G	F	F	H	H	I	L	J	K	I	I	J	J
F	F	F	F	C	F	H	H	I	I	H	I	D	G	H	H
D	D	F	F	C	F	H	H	I	I	F	J	E	F	H	K
A	D	D	D	C	F	H	J	I	L	I	J	G	G	D	G
H	a	F	F	F	F	H	M	I	L	I	K	D	H	I	J
D	G	D	G	F	F	H	H	I	M	H	I	D	I	H	I
C	G	F	G	F	F	H	H	I	L	I	K	G	I	D	I
F	Z	D	F	F	H	H	H	I	I	H	K	F	H	I	K
H	H	E	E	C	F	H	H	L	L	H	I	D	E	H	J
D	Z	D	F	C	F	H	J	I	L	I	J	H	I	K	K
F	F	G	G	F	H	H	K	L	L	H	J	D	E	D	K
A	F	D	D	C	F	K	M	I	i	J	J	G	H	I	J
D	D	F	F	F	F	J	K	E	I	H	K	F	F	K	K
F	F	F	G	C	F	H	J	I	L	I	J	G	G	D	K
C	C	D	F	C	C	H	J	E	E	F	F	E	H	I	L
C	O	D	D	F	F	G	J	I	L	H	K	F	K	K	K
C	T	D	D	S	S	G	J	I	L	H	I	D	K	H	K
C	L	D	F	F	N	G	J	I	L	J	K	K	K	I	I
L	L	D	D	H	R	B	J	I	L	F	H	H	I	H	J
H	L	D	F	F	O	B	G	B	I	H	M	G	J	I	I
K	N	E	E	F	K	J	J	I	L	H	I	F	I	H	H
P	P	E	E	G	G	G	J	I	I	H	H	D	G	H	H
H	L	F	F	F	F	G	G	G	L	J	M	K	K	I	I
C	C	E	E	C	F	J	J	I	L	H	H	G	G	F	K
K	T	E	E	C	C	J	J	I	I	J	K	G	J	I	I
C	C	D	F	C	R	G	J	I	L	I	J	F	I	I	I
L	L	D	F	G	G	J	J	I	I	H	H	D	G	H	H
C	L	D	D	F	F	J	J	I	I	H	H	F	G	K	K
I	L	D	D	K	K	G	J	I	L	H	H	F	I	G	M
P	P	D	D	F	F	G	J	L	L	H	H	H	H	F	F
L	P	E	E	F	F	E	J	I	L	G	H	H	H	G	G

B3		B4		B7		C24		C9		A7		Lv 3-19		Lv 4-alpha	
L	P	E	E	F	F	G	G	I	L	H	K	D	G	F	J
I	M	D	F	F	F	J	J	I	L	H	H	G	H	G	K
I	P	E	E	F	R	J	J	I	L	G	H	H	H	G	K
I	I	E	G	M	O	G	J	I	I	H	K	H	I	G	L
I	P	D	D	F	P	J	J	I	L	G	M	C	H	I	I
I	I	D	D	F	F	J	J	I	I	H	K	G	G	F	K
N	P	E	E	R	R	I	J	L	L	H	H	G	G	I	J
N	P	E	E	J	S	I	J	L	L	H	H	H	H	G	I
N	P	E	E	F	P	G	J	A	G	H	H	D	G	H	I
R	T	D	D	C	L	J	M	I	I	H	H	A	D	I	I
T	T	D	D	L	L	J	M	I	I	H	H	E	I	M	M
P	R	D	D	C	Q	M	M	I	I	F	H	A	I	I	I
P	R	D	D	L	O	L	L	I	I	H	H	E	I	I	M
P	T	D	D	C	L	B	J	I	I	H	H	E	I	I	I
P	P	D	D	O	Q	B	J	I	I	H	H	E	E	I	M
P	P	D	F	Q	Q	J	J	I	L	H	K	E	I	I	I
P	T	D	D	O	O	J	M	I	I	H	H	A	E	I	I
P	T	D	D	C	O	J	J	I	I	H	H	E	I	J	M
P	R	D	D	Q	Q	M	M	I	I	H	H	E	E	I	M
P	T	D	D	Q	Q	E	J	I	I	H	K	E	I	I	I
P	R	D	D	Q	Q	E	M	I	I	H	H	A	E	I	I
R	R	D	D	C	Q	B	J	I	I	F	K	D	E	I	I
P	R	D	D	L	O	M	M	I	I	H	H	I	I	I	M
P	P	D	D	Q	Q	B	M	I	I	H	H	C	E	I	I
P	P	D	D	O	Q	J	M	I	I	H	K	I	I	I	M
P	P	D	D	O	Q	J	J	I	L	H	H	D	E	I	M
P	P	D	D	C	O	B	J	I	I	H	H	E	E	I	M
R	R	D	F	O	Q	J	M	I	I	H	H	D	I	I	M
P	P	D	D	O	Q	D	J	I	I	H	K	I	L	I	M
P	P	D	D	C	Q	D	J	I	I	H	K	E	E	I	I

Tabellarischer Lebenslauf

Name: Franz Gassert

Anschrift: Petrusstr. 17
54292 Trier

Geburtsdatum: 16.07.1963

Geburtsort: Blieskastel

Schulbildung: Grundschule Walsheim 1969 - 1973
Realschule i. A. Gersheim 1973 - 1980
Fachoberschule Elektro in Homburg/Saar mit Fachhochschulreife
1980 - 1982
Saarlandkolleg mit Abitur in Saarbrücken 1989 – 1992

Berufsausbildung: Ausbildung zum staatl. Examinierten Krankenpfleger am
Landeskrankenhaus Homburg/Saar 1983 – 1986
Deutsche Akademie für Vermögensberatung, Abschluss
Vermögensberater DAV, BDV 1997 - 1999

Hochschule: Elektrotechnik an der Fachhochschule Trier 1982 – 1983
Geographie an der Universität des Saarlandes;
Spezialisierung Biogeographie 1992 – 2001

Hochschul-
abschluß: Diplomprüfungen in Biogeographie,
Klimageographie, Arten-, Natur- und Umweltschutz
sowie schriftliche Diplomarbeit mit dem Thema: „Genetische Isolation
der Mauereidechsenpopulationen (*Podarcis muralis*) der Stadt Trier.
Gesamtnote: sehr gut Februar 2001

Wissenschaftliche
Tätigkeit: Anstellung als wissenschaftlicher Mitarbeiter
bei der Umweltprobenbank des Bundes 2001

Promotion: Promotionsstudium an der Universität Trier 2001 – 2005

Momentane Tätigkeit: Angestellter im Mutterhaus der Borromäerinnen in Trier als
Krankenpfleger auf Intensivstation seit August 1998

Selbständiger Vermögensberater bei der Deutschen
Vermögensberatung AG mit eigener Agentur seit 1996