

Übersetzung der Arbeit „MANJA U. BÖHME, NORBERT SCHNEEWEISS, UWE FRITZ, JIŘÍ MORAVEC, IGOR MAJLÁTH, VIKTÓRIA MAJLÁTHOVÁ & THOMAS U. BERENDONK (2006): Genetic differentiation and diversity of *Lacerta viridis viridis* (LAURENTI, 1768) within the northern part of its range: an investigation using mitochondrial haplotypes. – Salamandra, Rheinbach, 42(1): 29-40“.

Genetische Differenzierung und Diversität von *Lacerta viridis viridis* (LAURENTI, 1768) im nördlichen Teil ihrer Verbreitung: Eine Studie unter Verwendung von mitochondrialen Haplotypen

Zusammenfassung: Die Verbreitung von *Lacerta viridis viridis* ist das Ergebnis einer schnellen nach-eiszeitlichen Ausbreitung mit nachfolgenden, die Verbreitung einschränkenden Geschehnissen, die zur Isolation der heutigen nördlichen Reliktpopulationen geführt haben. Die gegenwärtigen Schutzbestrebungen konzentrieren sich auf diese gefährdeten nördlichen isolierten Populationen. Das Verständnis der genetischen Diversität dieser Populationen ist eine Voraussetzung für Schutzmaßnahmen in jeder Form. Um derartige Daten zur Verfügung zu stellen, analysierten wir die mtDNS-Sequenzvariation von 57 *L. v. viridis* aus dem nördlichsten Bereich der Verbreitung dieser Unterart, einschließlich Vertretern von isolierten Reliktpopulationen in Brandenburg und Nord-Böhmen (Tschechische Republik). Wir stießen dabei auf eine positive Relation zwischen den genetischen Distanzen der mtDNS-Sequenzen und den geographischen Entfernungen, die gut mit dem Migrationsverhalten von *L. v. viridis* übereinstimmt. Weiterhin zeigen unsere Daten die große Bedeutung einer vergleichenden Analyse für das Abschätzen der genetischen Diversität von gefährdeten Taxa wie *Lacerta v. viridis* auf.

Schlagwörter: Reptilia; *Lacerta viridis viridis*; Randpopulation; mitochondriale Haplotypen; Cytochrom-*b*; Kontrollregion; genetische Distanz.

Einleitung

Periphere Populationen werden für moderne Schutzstrategien immer wichtiger. Während zentral verbreitete Populationen einer Art gewöhnlich nicht gefährdet sind, stellen die eher bedrohten Randpopulationen eine bedeutende Quelle für Adaptationen und damit für die evolutionäre Zukunft der betreffenden Art dar (LESICA & ALLENDORF 1995). Im Vergleich zu den Populationen im Zentrum des Verbreitungsgebietes dieser Art bewohnen Randpopulationen oftmals atypische und weniger geeignete Habitate. Folglich stehen die Individuen einer Randpopulation häufig unter einem starken Umweltdruck, der sich von den Zuständen im Zentrum des Verbreitungsgebietes unterscheidet. Diese Bedingungen nahe der Verbreitungsgrenzen werden als Auslöser für die Ausbildung von genetischen und/oder morphologischen Besonderheiten angesehen (LESICA & ALLENDORF 1995). Ihr Vorkommen an der Verbreitungsgrenze und ihre geringe Populationsgröße machen diese Populationen an-

fälliger für Gründereffekte, Inzucht und Gendrift. Es ist gut bekannt, dass eine abnehmende genetische Diversität zu einem erhöhten Aussterberisiko führen kann, vor allem bei kleinen Populationen. Diese Probleme sind der Kernpunkt zahlreicher dem Artenschutz dienender Untersuchungen (PRIOR et al. 1997, MOCKFORD et al. 1999, EDENHAMN et al. 2000, GARNER et al. 2004).

Die Smaragdeidechse *Lacerta viridis* (LAURENTI, 1768) ist eine von acht Arten in der Gattung *Lacerta* im engeren Sinne (NETTMANN 2001). Gegenwärtig werden von *L. viridis* fünf Unterarten anerkannt (RYKENA et al. 2001): *L. v. viridis* (LAURENTI, 1768), *L. v. guentherpetersi* (RYKENA et al., 2001), *L. v. infrapunctata* (SCHMIDTLER, 1986), *L. v. meridionalis* (CYREN, 1924) und *L. v. paphlagonica* (SCHMIDTLER, 1986). *Lacerta v. viridis* bewohnt ein weites Gebiet, das von der Balkan-Halbinsel nordwärts durch das Karpathenbecken bis zu den mehr isoliert vorkommenden Randpopulationen in der Tschechischen Republik und den nördlichsten Vorkommen im Osten Deutsch-

lands reicht. Diese Unterart ist in Deutschland und der Tschechischen Republik hochgradig gefährdet (ELBING 2001a, MIKÁTOVÁ 2001), und viele der unternommenen Schutzbemühungen dienen dem Erhalt der bestehenden Populationen.

Die deutschen Populationen befinden sich in zwei kleinen Gebieten: zum Einen unweit von Passau in Bayern und andererseits in der Niederlausitz in Brandenburg. Die brandenburgischen Habitate unterscheiden sich erheblich von den typischen Lebensräumen von *L. v. viridis*. Die isolierten Populationen in der Niederlausitz stellen Relikte dar, die nach einer raschen Ausbreitung aus einem südlicher gelegenen Eiszeitrefugium während der holozänen Warmzeit zurückgeblieben sind. PETERS (1970) zufolge begann die Ausbreitung dieser mesophilen Eidechse in den Osten Deutschlands vor 8000-7000 Jahren zu präborealen Zeiten. Natürliche Veränderungen wie nacheiszeitliche Klimaschwankungen, Vegetationsabfolgen und menschliche Einflussnahmen auf Habitate verursachten dann vermutlich eine zunehmende Fragmentierung der Lebensräume. Diese Vorkommnisse führten schließlich zu der heute bestehenden Situation des flickenhaft verstreuten Vorkommens nur kleiner und isolierter Populationen im Osten Deutschlands (Brandenburg). Aufgrund ihrer Seltenheit in Brandenburg hat *L. v. viridis* schon seit den 1930ern Aufmerksamkeit auf sich gezogen (HECHT 1930, MERTENS & SCHNURRE 1946, 1949, ELBING 1996, 2001a, b, SCHNEEWEISS et al. 2004). Diese Untersuchungen zeigten den Zusammenbruch der meisten brandenburgischen Bestände im Laufe des 20. Jahrhunderts auf. Ein gegenwärtiges Schutzprogramm überwacht die bestehenden Populationen und schließt eine Zuchtpopulation ein für Wiederansiedlungsmaßnahmen in Gebieten, in denen die Unterart bereits ausgestorben ist (SCHNEEWEISS 2001). Im weiteren Verlauf dieses Beitrags wollen wir uns auf diese Zuchtgruppe als die Gefangenschaftspopulation beziehen. Aufgrund der Gefährdung in Brandenburg sind Informationen über die phylogeographische Herkunft und genetische Variation der frei lebenden Populationen eine Notwendigkeit. Unsere Untersuchungen der Genetik von *L. v. viridis* sind Bestandteil dieses Programms und dienen dem Vergleich der genetischen Variation der brandenburgischen Smaragdeidechse mit anderen im Norden und im Zentrum des Verbreitungsgebietes vorkommenden Populationen.

Als genetischen Marker verwenden wir dazu das sich schnell evolvierende mitochondriale DNS-

Fragment (mtDNS), welches das Cytochrom-*b* Gen (*cyt b*) und die Kontrollregion (CR) enthält.

Diese DNS-Fragmente haben sich bisher als bedeutende Werkzeuge zum Aufspüren von phylogeographischen Mustern und holozänen Verschiebungen der Verbreitung erwiesen (LENK et al. 1999, HARING et al. 2000, SEDDON et al. 2001, BABIK et al. 2004). Weiterhin enthalten diese mitochondrialen Fragmente Informationen über die genetischen Verwandtschaftsbeziehungen von Populationen und selbst über die genetische Variation innerhalb kleiner Gebiete (GÜBITZ et al. 2000, PAULO et al. 2002, HIROTA et al. 2004).

Um den genetischen Status der gefährdeten Populationen von *L. v. viridis* in Brandenburg zu überprüfen, bewerteten wir die genetische Distanz dieser Populationen zu den nächstliegenden innerhalb der durchgängigen Verbreitung (Randpopulationen) in der Tschechischen Republik. Wir bewerteten weiterhin die genetische Differenzierung durch den Vergleich mit mehr zentral verbreiteten Beständen der Unterart in der Slowakei, Österreich und Ungarn. Um weitere Informationen zum genetischen Status der gefährdeten Populationen in Raum Brandenburg zu erhalten, führten wir eine Analyse der Differenzierung zwischen den in Gefangenschaft und in freier Natur lebenden brandenburgischen Populationen durch. Dies erscheint uns als Voraussetzung für weitere Wiederansiedlungsprojekte von *L. v. viridis* in Brandenburg.

Material und Methoden

Probennahme und DNS-Extraktion

Es wurden Blutproben von 57 Exemplaren von *L. v. viridis* aus den nördlichen und eher zentralen Teilen der Verbreitung der Unterart gesammelt (Tab. 1). Diese Studie umfasst drei isolierte Reliktpopulationen sowie eine Zuchtpopulation aus Ost-Deutschland, weiterhin vier Populationen aus der Tschechischen Republik, eine aus der Slowakei, drei Populationen aus dem Osten Österreichs und eine aus Nord-Ungarn. Blut wurde durch Punktion aus der Vorderbeinvene entnommen. Die Blutproben wurden in spezieller EDTA-Thymol Pufferlösung bei -20 °C konserviert. Gefangene Exemplare wurden mit einem Punkt aus Nagellack markiert, wodurch ein Wiederfang derselben Exemplare vermieden wurde. Die gesamte genomische DNS wurde mit dem Qiagen Blood Kit gemäß der Anweisungen des Herstellers extrahiert.

Region	Pop	Fundort	Probenumfang
Deutschland, Brandenburg (D)	1	gesichert	6
	2	gesichert	3
	3	gesichert	3
	Cp	Linum	5
Tschech. Republik, Böhmen (CzB)	4	Karlik	4
Tschech. Republik, Mähren (CzM)	5	Podny	2
	6	Pavlov	2
	7	Bzenec	3
Österreich, Niederösterreich (A)	8	Weißkirchen	3
	9	Hundsheim	2
	10	Gumpoldskirchen	11
Ungarn (H)	11	Gödöllö	4
Slowakei, Slowakischer Karst (SK)	12	Turna	9

Tab. 1. Besammelte Regionen, Populationen und Individuen (Probenumfang) dieser Untersuchung. Die Populationen wurden fortlaufend nummeriert (die Nummern werden auch in Abb. 6 verwendet). Wegen der hohen Schutzwürdigkeit (Richtlinien des Artenschutzes) können wir keine genauen geographischen Angaben zu den brandenburgischen Fundorten machen. Die Nummern der Brandenburg-Population entsprechen der Benennung nach denen der von ELBING (2000) verwendeten. Cp steht für die Zuchtpopulation in Deutschland (Brandenburg, Linum).

Amplifikation und Sequenzierung

Um die regionale Differenzierung innerhalb *L. v. viridis* zu ermitteln, amplifizierten wir ein mtDNS-Fragment, welches einen Teil des Cytochrom-*b* Gens, tRNS Thr, tRNS Pro und einen Teil der Kontrollregion (CR) umfasste. Diese Amplifikation wurde bei 47 Proben mit den Primern LvF und LvR1 (Abb. 1, Tab. 2) unter den folgenden Bedingungen durchgeführt: 1 x Puffer (Sigma), 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, je 15 pmol beider Primer und 1 U Taq Polymerase (Sigma). Die PCR erfolgte auf einem Eppendorf Mastercycler mit 35 Zyklen bei 95 °C über 30 s, 60 °C über 30 s, 72 °C über 3 min. Zur Sequenzierung wurden vier interne Primer (Tab. 2) entwickelt. Hierdurch entstand ein

Fragment mit einer endgültigen Länge von etwa 2600 bp. Die gereinigten PCR-Produkte wurden einer zyklischen Sequenzierreaktion ausgesetzt, zu der Terminator Ready Reaction Mix „Big Dye“ Version 3.1 (Applied Biosystems) entsprechend der Anweisungen des Herstellers verwendet wurde; zu ihrer Analyse fand ein ABI 3100 DNA Sequencer Verwendung. Die Verbindung von Teilsequenzen und internen Sequenzen erfolgte mithilfe des Programms DNASIS v.7.0 (Hitachi Software). Die endgültigen Sequenzen wurden visuell mit dem Programm Bioedit Version 7.1 geprüft (HALL 1999). Die GenBank-Zugriffsnummern für die hier beschriebenen Nukleotidsequenzen sind AM087227, AM 087228 und AM087289–AM087330. Die endgültige Ausrichtung der Se-

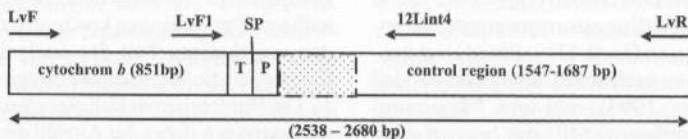


Abb. 1. Zusammensetzung des amplifizierten (Primer LvF und LvR1) mitochondrialen Fragments einschließlich einen Teil des Cytochrom-*b* Gens, tRNA Threonin (T), 17 bp Spacer (SP), tRNA Prolin (P) und einem Teilstück der Kontrollregion (CR). Der gepunktete Bereich am 5'-Ende der CR umfasst einen Wiederholungsbereich von variabler Länge, der aus einer 35 bp langen Wiederholungseinheit besteht, amplifiziert mit den Primern LvF1 und 12Lint4. Interne Primer (Tab. 2) werden nicht gezeigt.

Primer	Sequence
LvF	5'- CTGCATTTACCTCCATATTGGACG - 3'
LvF1	5'- GCCTATGCAATCCTTCGCTC - 3'
LvF2	5'- CAGTTATGCTATGAGCAAGGTA - 3'
LvR1	5'- GGCTTTGTAGTTTRATCCTGAC - 3'
12Lint4	5'- TACCCTTGCTCATAGCATAACTG - 3'
LvR3	5'- GGGCGGAATGTTAAGGTCCGTTG - 3'

Tab. 2. Bei dieser Studie verwendete Primer zur Sequenzierung der mtDNS-Bereiche, die das Cytochrom-*b* Gen und die mitochondriale Kontrollregion (CR) beinhalten. Der Primer 12Lint4 wurde von BREHM et al. (2002) entworfen, und LvF ist eine modifizierte Version von cBL (BREHM et al. 2002). Die restlichen Primer sind Neuentwicklungen für diese Studie.

quenzen erfolgte mit dem Programm Clustal X (THOMPSON et al. 1997).

Phylogenetische Beziehungen innerhalb des analysierten Bereichs

Zur Analyse der phylogenetischen Beziehungen und zur Überprüfung, ob die Populationen von *L. v. viridis* in Brandenburg möglicherweise eine abgrenzbare Unterart darstellen, wie dies von HECHT (1930) vorgeschlagen wurde, alinierten wir zehn individuelle *L. v. viridis* mtDNS-Sequenzen aus dem gesamten Probenbereich mit individuellen Sequenzen von *Lacerta viridis meridionalis* (AM087227) aus Griechenland und von *Lacerta agilis* (AM087228) aus Rumänien. *Lacerta agilis* fungierte dabei als Außengruppe. Zum Aufbau eines phylogenetischen Wahrscheinlichkeitsbaumes (ML) verwendeten wir PAUP* Version 4.0 b10 (SWOFFORD 2002). DNS-Substitutionsraten wurden nach einem hierarchischen Wahrscheinlichkeitsverhältnistest mit Modeltest 3.6 (POSADA & CRANDALL 1998) ermittelt. Das ausgewählte Modell war HKY+I+G (HASEGAWA et al. 1985) mit Basenfrequenzen von A = 0.2946, C = 0.2544, G = 0.1153 und T = 0.3357, einem Verhältnis unveränderlicher Stellen von I = 0.6708 und einem Gamma-Verteilungsformparameter veränderlicher Stellen von G = 0.4713. Ein „Neighbor-Joining“ (NJ) Baum nach dem Tamura-Nei-Modell (TAMURA & NEI 1993) und ein Maximum-Parsimony-Stammbaum (MP) mit heuristischer Suche durch zehn schrittweise Hinzufügungen von Sequenzen und der „TBR branch swapping“-Option wurde gleichfalls mit PAUP* 4.0 b10 angelegt. Zur Überprüfung der Stärke der NJ- und MP-Bifurkationen wurden Bootstrap-Analysen mit 2000 Replikaten durchgeführt.

Genetische Differenzierung zwischen den Regionen

Zur Einschätzung der relativen Migrationsraten und der genetischen Differenzierung zwischen den Regionen wurden sämtliche alinierten individuellen Sequenzen Sequenzgruppen zugeordnet, die die sechs hauptsächlichen Regionen verkörperten (Tab. 1). Genfluss und Genabstände wurden mit DnaSP 4.0 errechnet (ROZAS et al. 2003). Die Signifikanz der Populationsdifferenzierungen wurde mit Chi-Quadrat (NEI 1987, HUDSON et al. 1992) überprüft und einem Permutationstest (HUDSON et al. 1992) mit 999 Wiederholungen unterzogen. Um die Differenzierung zwischen den mtDNS-Haplotypen als Muster darzustellen, wurde die Matrix der paarweisen Genabstände (F_{ST}) zwischen den einzelnen Regionen mit einem Neighbor-Joining Algorithmus (SAITOU & NEI 1987) unter Verwendung von MEGA3 (KUMAR et al. 2004) analysiert. Im Rahmen dieser Analyse wurden durch unterschiedliche Sequenzmotiv-Wiederholungen verursachte Lücken nahe der CR ausgeschlossen.

Populationsinterne Variation

Zur Einschätzung der genetischen Diversität innerhalb von Populationen konzentrierten wir uns auf den variabelsten Teil des analysierten mtDNS-Fragments: die Wiederholungsregion der CR (Abb. 1). Die Haplotypenvielfalt einer beliebigen Population entsprach daher der Anzahl der verschiedenen Wiederholungen. Um den Datensatz für diesen empfindlichen Parameter zu vergrößern, sequenzierten wir zehn weitere Proben für die CR-Wiederholungsregion mit den internen Primern LvF1 und LvR2 (Abb. 1). Der Rest des Protokolls war mit der Analyse zur Populationsdifferenzierung identisch.

Die Analyse umfasste zwölf verschiedene Populationen aus den sechs besammelten Gebieten zuzüglich einer Gefangenschaftspopulation, die bereits weiter oben beschrieben wurden (Tab. 1).

Ergebnisse

Das allgemeine Bild des amplifizierten Fragments entspricht dem für Wirbeltiere typischen Muster (Abb. 1, BOORE 1999) und besteht aus einem 851 bp langen Stück *cyt-b*, tRNS Thr (67 bp), tRNS Pro (69 bp) sowie einem Teil der Kontrollregion (CR, 1528-1670 bp). Die beiden tRNS-Abschnitte sind durch die Einfügung von siebzehn zusätzlichen Nukleotiden voneinander getrennt (Abb. 1, „Spacer“). Diese Nukleotide wurden bei anderen squamaten mtDNS-Sequenzen, die in der GenBank verfügbar sind, nicht beobachtet, wie z.B. bei *Lacerta dugesii* (BREHM et al. 2003), *Podarcis siculus* (PODINAR et al. unveröff.), *Pariocela eregia lividus* (KUMAZAWA & NISHIDA 1999) und *Cordylus warreni* (KUMAZAWA 2004). Aus diesem Grund war eine Zuordnung dieser Nukleotide zu tRNS Thr oder tRNS Pro nicht möglich. Wir stellten einen allgemein verminderten G-Gehalt in der Nukleotidfrequenz des leichten Stranges fest (A 29,2-29,8 %; G 11,5-12,1 %; T 33,1-33,8 % und C 25,1-25,7 %), was dem bislang von Reptilien bekannten Muster entspricht (MACEY et al. 1997). Die Anlage der CR ist jener bei *L. dugesii* sehr ähnlich (BREHM et al. 2003). Allerdings weist das mitochondriale Genom von *L. v. viridis* ein einzigartiges und bemerkenswertes Merkmal auf: einen Bereich mit einer unterschiedlichen Anzahl von Wiederholungseinheiten neben dem Pro am 5'-Ende der CR (Abb. 1). Das 35 bp lange Motiv dieser Wiederholungsfrequenz ist innerhalb *L. v. viridis* hochgradig konserviert, unterscheidet sich jedoch hinsichtlich der Anzahl der Wiederholungen (6-10). Dieser Größenpolymorphismus in Form einer variablen Anzahl von Tandemwiederholungen (VNTRs, LUNT et al. 1998) verursacht eine Schwankung der Gesamtfragmentlänge von 2538 bis 2680 bp zwischen einzelnen Individuen. Unterschiedliche Typen von mtDNS-Molekülen innerhalb eines Individuums (Heteroplasmie), wie sie bei anderen Untersuchungen aufgezeigt und von RAND (2001) zusammengefasst wurden, konnten bei *L. v. viridis* hingegen bisher nicht festgestellt werden. Die genannten VNTRs sind oftmals in der mitochondrialen CR zu beobachten (SUMIDA et al. 2000, MUNDY & HELBIG

2004) und sollen Informationen zur Populationsdifferenzierung und Biogeographie liefern können (LUNT et al. 1998).

Phylogenetische Beziehungen innerhalb des analysierten Bereichs

Alle phylogenetischen Bäume (NJ, MP und ML), die sich aus den alinierten vollständigen mtDNS-Sequenzen ergaben, sind in Abb. 2 dargestellt. *Lacerta v. viridis* bilden eine monophyletische Gruppe, die von *L. v. meridionalis* verschieden ist. Dies wird durch Bootstrap-Werte von 79% für den NJ-, 72% für den MP- und 62% für den ML-Baum (Abb. 2) gestützt. Hieraus kann geschlossen werden, dass alle besammelten Gebiete von der gleichen Unterart, nämlich *L. v. viridis* besiedelt sind und dass die nördlichsten Populationen in Deutschland (Brandenburg) keine separate Unterart verkörpern.

Genetische Variation und Differenzierung der Regionen

Insgesamt ist die genetische Variation innerhalb des analysierten Fragments gering. Von den 2680 alinierten Sequenzpositionen zeigten sich lediglich 79 als variabel, und nur 44 von diesen besaßen eine phylogenetische Aussagekraft (MEGA3). Generell passt das festgestellte Differenzierungsmuster (Abb. 3) gut zur geographischen Verbreitung der Smaragdeidechsen in den untersuchten Gebieten. Paarweise Genabstände F_{ST} (999 Replikate im Permutationstest $p = 0,000$; $\chi^2 = 0,0003$, $df = 150$) zwischen den Regionen korrelieren signifikant mit deren geographischen Abständen, und Abb. 4 stellt dieses positive Verhältnis von genetischen und geographischen Abständen zwischen den einzelnen Gebieten bildhaft dar. Die Regionen Brandenburg (Ost-Deutschland) und Böhmen (nördliche Tschechische Republik) wiesen die geringsten Genabstände auf (Tab. 3) obwohl sie nicht auch die geographisch am nächsten beieinander liegenden Regionen innerhalb des besammelten Bereichs sind. Interessanterweise erwiesen sich die geographisch dichter beieinander liegenden Gebiete in Österreich und Mähren (südliche Tschechische Republik) sowie auch die der Slowakei und Ungarn als genetisch mehr von einander distanziert (Abb. 3).

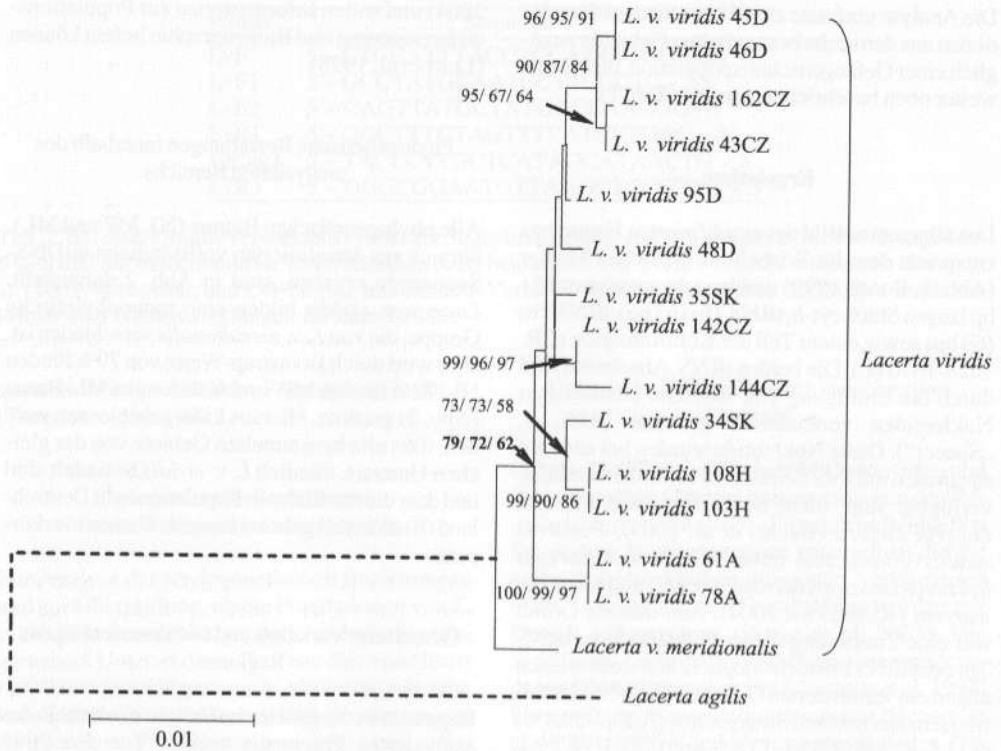


Abb. 2. „Neighbor Joining“-Baum (PAUP* 4.0 b10) auf der Grundlage von 10 *L. v. viridis* mtDNS (cyt *b*, CR) Sequenzen aus dem besammelten Bereich (D - Deutschland [Brandenburg], CZ - Tschechische Republik, SK - Slowakei, H - Ungarn, A - Österreich), einer *L. v. meridionalis* und der Outgroup *Lacerta agilis*. Die dargestellten Abstände sind „Neighbor-Joining“-Distanzen. Die Zahlen (NJ/MP/ML) an den Knotenpunkten sind Bootstrap-Werte für die NJ-Analyse (erster Wert), Bootstrap-Werte für eine Maximum-Parsimony (zweiter Wert) und eine Maximum Likelihood (> 50 %), wie sie sich aus 2000 Replikationen ergeben.

Genetische Diversität innerhalb der Populationen

Ungeachtet der allgemein geringen Nukleotidvariation in dem untersuchten mtDNS-Fragment zeigten sich bemerkenswerte Unterschiede in der Wiederholungsregion der mitochondrialen Kontrollregion (CR, BÖHME et al. unveröff.). Diese Variation war allerdings hauptsächlich auf Einfügungen oder Auslassungen von Wiederholungseinheiten beschränkt. Diese hohe Mutationsrate lässt sich bis zu einer besonderen D-loop und einer Fehlpaarung durch Strangverschiebung während der mtDNS-Replikation zurückverfolgen (HOELZEL et al. 1994, SBISA et al. 1997, SAVOLAINEN et al. 2000). Veränderliche Wiederholungswerte wurden durchgängig

innerhalb der gesamten besammelten Bandbreite der Unterart, aber auch innerhalb der einzelnen Populationen gefunden. Eine Analyse der variablen CR-Wiederholungswerte und der festgestellten Haplotypenfrequenz zeigte fünf unterschiedliche Wiederholungshaplotypen bei den untersuchten Populationen auf. Darüber hinaus entdeckten wir, dass geringere Wiederholungswerte (r6-r7) eine höhere Gesamt-Haplotypenfrequenz zeigen (Abb. 5) als größere Wiederholungswerte (r8-r10). Innerhalb der einzelnen Populationen existieren erhebliche Unterschiede in der Verteilung der Wiederholungshaplotypen (Abb. 6). Zentraler angesiedelte Populationen, wie die Populationen 9 (Ost-Österreich) und 12 (Slowakei), weisen „pri-

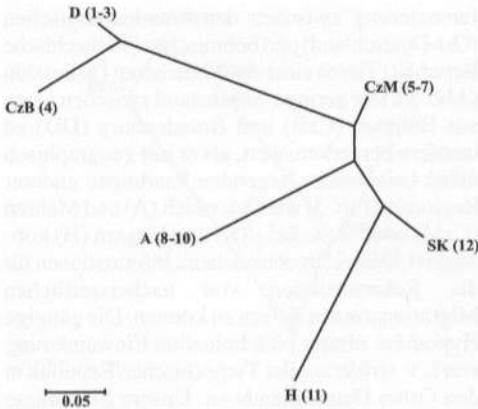


Abb. 3. „Neighbor Joining“ (NJ) Baum auf der Basis von paarweisen Genabständen (F_{ST}) der mtDNS-Haplotypen aus sechs Bereichen des Verbreitungsgebietes von *Lacerta v. viridis*. Die Buchstaben geben die einzelnen Gebiete an und die Ziffern in Klammern die durchnummerierten Populationen (Tab. 1, Abb. 6).

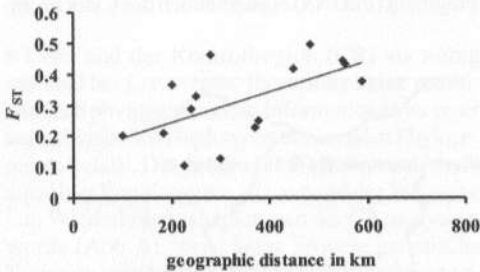


Abb. 4. Korrelation der paarweisen Genabstände (F_{ST}) und der geographischen Distanzen zwischen verschiedenen Gebieten innerhalb des Verbreitungsgebietes von *Lacerta v. viridis*.

vate“ Wiederholungshaplotypen auf, also Haplotypen, die nur in dieser einen Population vorkommen, z.B. r9 und r10. Interessanterweise besitzen die nördlichsten Populationen 1-3 (Deutschland) und 4 (Tschechische Republik) keine solchen „privaten“ Wiederholungshaplotypen.

Die Situation in Brandenburg

Zwölf Proben von Individuen aus drei frei lebenden Populationen in Brandenburg (Pop1, Pop2, Pop3)

Region	D	CzB	CzM	H	SK	A
D		0.106	0.251	0.444	0.376	0.416
CzB	226		0.327	0.496	0.433	0.461
CzM	395	250		0.288	0.126	0.200
H	608	483	247		0.208	0.226
SK	590	554	334	183		0.365
A	458	258	102	248	374	

Tab. 3. Genetische Differenzierung zwischen verschiedenen Teilbereichen des Nordens des Verbreitungsgebietes von *Lacerta v. viridis*. Werte im oberen Teil geben die paarweisen Genabstände (F_{ST}) zwischen den Regionen wider, wohingegen die Werte im unteren Teil die ungefähre geographische Distanz in km zwischen den einzelnen Regionen anzeigen. Regionen: D – Deutschland (Brandenburg), CzB – Tschechische Republik (Böhmen), CzM – Tschechische Republik (Mähren), H – Ungarn, SK – Slowakei, A – Österreich.

und fünf von Individuen der Gefangenschaftspopulation wurden mit dem Ziel analysiert, mehr Informationen über die gefährdeten und isolierten Vorkommen in Brandenburg zu erhalten. Unter den 2680 alinierten Basenpaaren stellten wir 22 variable Stellen zwischen den Individuen der Wildpopulationen fest, von welchen sechzehn phylogenetische Informationen lieferten. Innerhalb der Zuchtpopulation fanden wir lediglich vier variable Positionen ohne phylogenetischen Informationsgehalt. Im Vergleich zu den frei lebenden Populationen in Brandenburg (Abb. 7) wies die Gefangenschaftspopulation die engsten Beziehungen zu der Population Pop3 auf (F_{ST} 0,067), wohingegen der Genabstand zu Pop1 und Pop2 größer war (F_{ST} 0,241 / 0,584). Die allgemeine Haplotypenfrequenz des Wiederholungswertes war bei brandenburgischen Populationen niedrig (Abb. 6); es waren lediglich zwei verschiedene Wiederholungshaplotypen zu finden (r6 und r8). Wie bei den meisten der besammelten brandenburgischen Populationen besaß die Gefangenschaftspopulation nur einen Wiederholungshaplotypus (r6).

Diskussion

Eine genetische Analyse aller mtDNS-Haplotypen zeigte keine bedeutenden Nukleotidunterschiede zwischen den nördlichen, isolierten Populationen und den zentral verbreiteten Populationen von *Lacerta v. viridis* auf (Abb. 2). Unsere Ergebnisse

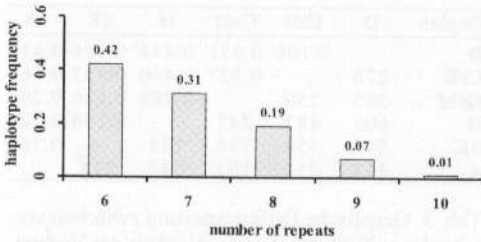


Abb. 5. Gesamt-Haplotypenfrequenz von Wiederholungswerten innerhalb der mitochondrialen Kontrollregion (CR) von *Lacerta v. viridis*.

einer positiven Korrelation zwischen genetischen und geographischen Abständen (Abb. 4) lassen auf eine schrittweise Ausbreitung von Individuen über jeweils kurze Strecken schließen. Dies entspricht dem angenommenen nacheiszeitlichen Migrationsmuster von *L. v. viridis* (NOLL 1878, PETERS 1970), dem eine enge Bindung an mikroklimatisch günstige Gebiete und dem Folgen von Flussläufen und den Südhängen von Geländeerhebungen zugrunde liegt. Dessen ungeachtet bedarf die genetische Dif-

ferenzierung zwischen den brandenburgischen (Ost-Deutschland) und böhmischen (Tschechische Republik) Tieren einer ausführlicheren Diskussion (Abb. 3). Der geringe Genabstand zwischen jenen aus Böhmen (CzB) und Brandenburg (DD) ist insofern bemerkenswert, als er mit geographisch näher beieinander liegenden Paarungen anderer Regionen (Tab. 3) wie Österreich (A) und Mähren (CzM) oder Slowakei (SK) und Ungarn (H) kontrastiert. Dieses Ergebnis scheint Informationen für die Rekonstruktion von nacheiszeitlichen Migrationsrouten liefern zu können. Die gängige Hypothese nimmt eine holozäne Einwanderung von *L. v. viridis* aus der Tschechischen Republik in den Osten Deutschlands an. Unsere Ergebnisse stützen diese Hypothese, favorisieren jedoch einen Weg aus Böhmen entlang der Flussstäler von Vltava (Moldau) und Elbe.

Generell und im Unterschied zu anderen Untersuchungen an Vertebraten, die sich nicht auf die Ebene von Unterarten konzentrieren (GÜBITZ et al. 2000, PAULO et al. 2002, BREHM et al. 2003, HIROTA et al. 2004), erwies sich das mitochondriale DNS-Fragment (mtDNS) einschließlich des Cytochrom-

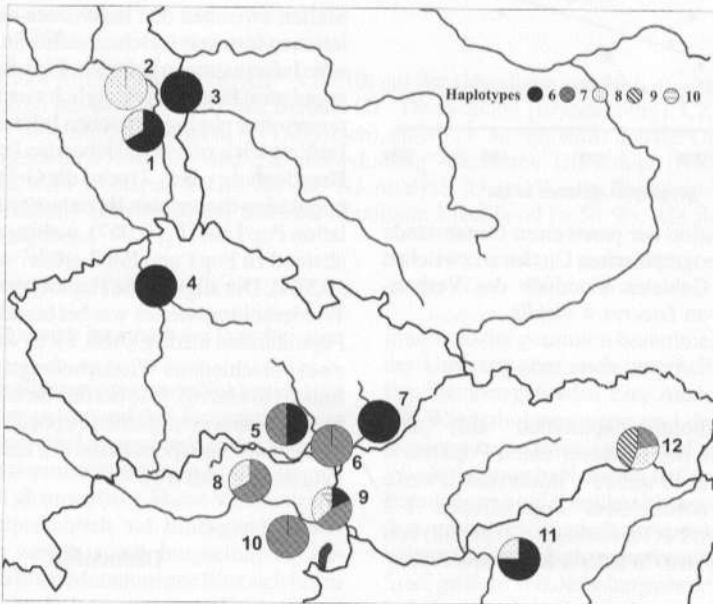


Abb. 6. Haplotypenmuster der variablen Anzahl von Wiederholungen (VNTRs) innerhalb einzelner Populationen von *Lacerta v. viridis* in verschiedenen Teilbereichen ihrer Nordverbreitung. Die Kreise geben haplotypische Frequenzen innerhalb der besammelten Populationen an. Die Populationsnummern beziehen sich auf Tabelle 1. Populationen 1-3 - Deutschland (Brandenburg), 4 - Tschechische Republik (Böhmen), 5-7 - Tschechische Republik (Mähren), 8-10 - Österreich, 11 - Ungarn, 12 - Slowakei.

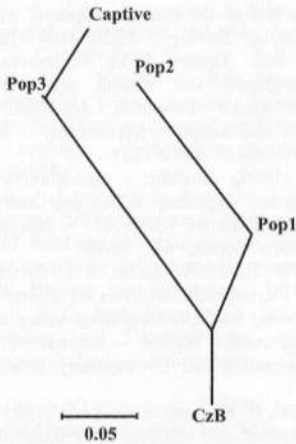


Abb. 7. NJ-Baum auf der Grundlage von paarweisen Genabständen (F_{ST}) der mtDNS-Haplotypen zwischen tschechischen (böhmischen) und frei lebenden deutschen Populationen von *Lacerta v. viridis* und der Zuchtpopulation in Brandenburg.

b Gens und der Kontrollregion (CR) als wenig variabel bei *L. v. viridis*. Es vermag keine ausreichenden phylogenetischen Informationen zu einer auf individuellen Haplotypen basierenden Phylogenie zu liefern. Die genetische Variation innerhalb einzelner Populationen, die anhand der Frequenz von Wiederholungshaplotypen der CR analysiert wurde (Abb. 6), weist keine größere genetische Variation innerhalb der zentralen Populationen gegenüber den nördlichen, isolierteren Populationen auf. Insgesamt besteht eine geringe Variationsbreite von nur fünf verschiedenen CR-Wiederholungshaplotypen (Abb. 5). Kürzere Wiederholungswerte ($r6/r7$) scheinen die hauptsächlichlichen Wiederholungshaplotypen auszumachen, wohingegen längere Wiederholungswerte seltener auftreten. Weiterhin entdeckten wir „eigenständige“ Wiederholungshaplotypen ausschließlich bei zentraler angesiedelten Populationen, z.B. bei Pop9 und Pop12. Aufgrund der gewählten Amplifikationsbedingungen können wir eine verzerrte Verteilung hin zu kleineren Größenklassen durch einen Laborartefakt wie bei LUNT et al. (1998) dargestellt ausschließen. Ungeachtet der bekanntermaßen großen Variabilität der CR konnte dieses Markersystem die genetische Variationsbreite der Populationen nicht zufriedenstellend auflösen. Es bedarf weiterer Informationen in Form von Kern-Mikrosatelliten-

daten (BÖHME et al. 2005), um diese genetische Situation aufzuhellen (in Vorbereitung). Von erheblicher Bedeutung ist jedoch, dass der Vergleich der gefährdeten Populationen in Brandenburg mit den zentraler angesiedelten in der Slowakei und Ungarn eine geringe Variabilität der CR ergeben hat. Eine Einzelanalyse, die sich lediglich auf die gefährdete Population konzentriert hätte, hätte zu dem Trugschluss führen können, dass die genetische Diversität dieser Populationen stark reduziert sei, obwohl tatsächlich der molekulare Marker selbst eine geringe Variation aufweist. Somit zeigt dieses Beispiel die Notwendigkeit auf, dass genetische Marker „kalibriert“ werden müssen, bevor sie zur einer Einschätzung der genetischen Diversität von gefährdeten Populationen geeignet sind.

Zuchtpopulation und Brandenburgische Populationen

Zwischen der Gefangenschaftspopulation und den in der Natur in Brandenburg lebenden Beständen stellten wir eine geringe genetische mtDNS-Variation fest und keine ausgeprägten Unterschiede zu anderen nördlichen Populationen innerhalb des Verbreitungsgebietes von *L. v. viridis*. Daher bestätigen unsere genetischen Daten (Abb. 2) die morphologischen Befunde von MERTENS & SCHNURRE (1946, 1949), daß die brandenburgischen Populationen die Unterart *L. v. viridis* und nicht wie von HECHT (1930) angeregt eine eigene Unterart verkörpern. Auch unsere Daten zu den CR-Wiederholungswerten (Abb. 6) stützen diesen Schluss.

Innerhalb der Brandenburg-Populationen zeigen unsere Daten (Abb. 7) eine enge Verbindung zwischen der Gefangenschaftspopulation und Pop3. Dies war zu erwarten, da die Ursprungstiere der Gefangenschaftspopulation aus diesem Vorkommen stammen (KIRMSE 1990, 1994). Daher sind wir davon überzeugt, dass die von uns angewandten genetischen Verfahren zur Analyse der genetischen Beziehungen zwischen den Populationen von *L. v. viridis* geeignet waren. Zwischen den drei in Freiheit lebenden Populationen (Pop1/2/3) besteht eine überraschend große genetische Variabilität, was belegt, dass auch über eine kleine geographische Distanz von lediglich 2-14 km eine genetische Differenzierung zwischen Populationen möglich ist. Möglicherweise begünstigen eine geringe Anzahl von Individuen und niedrige Populationsdichten (NETTMANN & RYKENA 1984, ELBING

2001b) sowie ein ausgeprägtes Mikrorelief (Mauer) an manchen Fundorten diesen Effekt.

Danksagungen

Dieses Projekt wurde durch den Hans-Schiemenz-Fond der Deutschen Gesellschaft für Herpetologie und Terrarienkunde (DGHT) unterstützt sowie durch die AG Lacertiden der DGHT. MANJA BÖHME erhielt einen Zuschuss vom Evangelischen Studienwerk Villigst e. V. Die Arbeit von Jiří MORAVEC wurde durch einen Zuschuss der Grant Agency der Tschechischen Republik (Projekt Nr. 206/05/2334) unterstützt. Dank gilt W. MAYER, J. VÖRÖS, M. STEIN, V. ZAVADIL und J. KAUTMAN für ihre Hilfe bei der Sammlung von Proben und der Beschaffung von Genehmigungen.

Schriften

- BABIK, W., W. BRANICKI, M. SANDERA, S. LITVINCHUK, L.J. BORKIN, J.T. IRWIN & J. RAFINSKI (2004): Mitochondrial phylogeography of the moor frog, *Rana arvalis*. – *Molecular Ecology*, **13**(6): 1469–1480.
- BOORE, J.L. (1999): Animal mitochondrial genomes. – *Nucleic Acids Research*, **27**(8): 1767–1780.
- BÖHME, M.U., T.U. BERENDONK & M. SCHLEGEL (2005): Isolation of new microsatellite loci from the Green Lizard (*Lacerta viridis viridis*). – *Molecular Ecology Notes*, **5**: 45–47.
- BREHM, A., A.D. JAMES HARRIS, C.D. ALVES, J.D. JESUS, F.D. THOMARAT & L.D. VICENTE (2003): Structure and evolution of the mitochondrial DNA complete control region in the lizard *Lacerta dugesii* (Lacertidae, Sauria). – *Journal of Molecular Evolution*, **56**(1): 46–53.
- EDENHAMN, P., M. HOGGREN & A. CARLSON (2000): Genetic diversity and fitness in peripheral and central populations of the european tree frog *Hyla arborea*. – *Hereditas*, **133**(2): 115–122.
- ELBING, K. (1996): Zur Situation der östlichen Smaragdeidechse (*Lacerta viridis*) in ihren Niederlausitzer Reliktorkommen. – *Naturschutz und Landschaftspflege in Brandenburg*, **3**: 34–37.
- ELBING, K. (2000): Fortpflanzungsbiologie und Populationsökologie der Smaragdeidechse (*Lacerta viridis*, LAURENTI, 1768) in ihren brandenburgischen Reliktorkommen. – Dissertation Universität Bremen.
- ELBING, K. (2001a): Das Artenschutzprogramm „Smaragdeidechse“ *Lacerta viridis* (LAURENTI, 1768) des Landes Brandenburg. – *Mertensiella*, **13**: 269–278.
- ELBING, K. (2001b): Die Smaragdeidechsen – zwei (un)gleiche Schwwestern. – Bochum (Laurenti Verlag), 143 S.
- GARNER, T.W., P.B. PEARMAN & S. ANGELONE (2004): Genetic diversity across a vertebrate species' range: a test of the central-peripheral hypothesis. – *Molecular Ecology*, **13**(5): 1047–1053.
- GÜBITZ, T., R.S. THORPE & A. MALHOTRA (2000): Phylogeography and natural selection in the Tenerife gecko *Tarentola delalandii*: testing historical and adaptive hypotheses. – *Molecular Ecology*, **9**(9): 1213–1221.
- HALL, T.A. (1999): BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. – *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**: 95–98.
- HARING, E., B. HERZIG-STRASCHIL & F. SPITZENBERGER (2000): Phylogenetic analysis of alpine voles of the *Microtus multiplex* complex using the mitochondrial control region. – *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **38**: 231–238.
- HASEGAWA, M., H. KISHONO & K. YANO (1985): Dating of the human ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. – *Journal of Molecular Evolution*, **22**: 160–174.
- HECHT, G. (1930): Die märkische Smaragdeidechse, *Lacerta viridis* (LAUR.) subsp. *brandenburgensis* subsp. nov. – *Das Aquarium*, **1930**: 62.
- HIROTA, T., T. HIROHATA, H. MASHIMA, T. SATOH & Y. OBARA (2004): Population structure of the large Japanese field mouse, *Apodemus speciosus* (Rodentia: Muridae), in suburban landscape, based on mitochondrial D-loop sequences. – *Molecular Ecology*, **13**(11): 3275–3282.
- HOELZEL, A.R., J.V. LOPEZ, G.A. DOVER & S.J. O'BRIEN (1994): Rapid evolution of a heteroplasmic repetitive sequence in the mitochondrial DNA control region of carnivores. – *Journal of Molecular Evolution*, **39**(2): 191–199.
- KIRMSE, W. (1990): Die Smaragdeidechse in Brandenburg: Bestand und Schutzmaßnahmen. – *Die Eidechse*, **1**: 10–12.
- KIRMSE, W. (1994): Zur aktuellen Situation der brandenburgischen Smaragdeidechse (*Lacerta v. viridis*). – *Die Eidechse*, **5**(11): 2–4.
- Hudson, R.R., D.D. BOOS & N.L. Kaplan (1992): A statistical test for detecting population subdivision. – *Molecular Biology and Evolution*, **9**: 138–151.
- KUMAR, S., K. TAMURA & M. NEI (2004): MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. – *Briefings in Bioinformatics*, **5**: 150–163.
- KUMAZAWA, Y. (2004): Mitochondrial DNA sequences of five squamates: phylogenetic affiliation of snakes. – *DNA Research*, **11**: 137–144.
- KUMAZAWA, Y. & M. NISHIDA (1999): Complete mitochondrial DNA sequences of the green turtle and blue-tailed mole skink: statistical evidence for archosaurian affinity of turtles. – *Molecular Biology and Evolution*, **16**(6): 784–792.
- LENK, P., U. FRITZ, U. JOGER & M. WINK (1999): Mitochondrial phylogeography of the European pond turtle, *Emys orbicularis* (LINNAEUS, 1758). – *Molecular Ecology*, **8**: 1911–1922.

- LESICA, P. & F.W. ALLENDORF (1995): When are peripheral populations valuable for conservation. – *Conservation Biology*, **9**(4): 753-760.
- LUNT, D.H., L.E. WHIPPLE & B.C. HYMAN (1998): Mitochondrial DNA variable number tandem repeats (VNTRs): utility and problems in molecular ecology. – *Molecular Ecology*, **7**(11): 1441-1455.
- MACEY, J.R., A. LARSON, N.B. ANANIEVA, Z. FANG & T.J. PAPPENFUSS (1997): Two novel gene orders and the role of light-strand replication in rearrangement of the vertebrate mitochondrial genome. – *Molecular Biology and Evolution*, **14**(1): 91-104.
- MERTENS, R. & O. SCHNURRE (1946): Zur Eidonomie, Taxonomie und Ökologie der norddeutschen Smaragdeidechse. – *Senckenbergia*, **27**(1/3): 25-52.
- MERTENS, R. & O. SCHNURRE (1949): Eidonomische und ökologische Studien an Smaragdeidechsen Deutschlands. – *Abhandlungen der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft*, **48**1: 1-28.
- MIKÁTOVÁ, B. (2001): The green lizard, *Lacerta viridis* (LAURENTI, 1768), in the Czech Republic: distribution, ecology and conservation aspects. – *Mertensiella*, **13**: 138-149.
- MOCKFORD, S.W., M. SNYDER & T.B. HERMAN (1999): A preliminary examination of genetic variation in a peripheral population of Blanding's turtle, *Emydoidea blandingii*. – *Molecular Ecology*, **8**(2): 323-327.
- MUNDY, N.I. & A.J. HELBIG (2004): Origin and evolution of tandem repeats in the mitochondrial DNA control region of shrikes (*Lanius* spp.). – *Journal of Molecular Evolution*, **59**(2): 250-257.
- NEI, M. (1987): *Molecular Evolutionary Genetics*. New York (Columbia Univ. Press).
- NETTMANN, H.-K. (2001): Die Smaragdeidechsen (*Lacerta* s. str.) – Eine Übersicht über Verwandtschaft und Formenvielfalt. – *Mertensiella*, **13**: 11-32.
- NETTMANN, H.-K. & S. RYKENA (1984): *Lacerta viridis* (LAURENTI, 1768) – Smaragdeidechse. – S. 129-181 in BÖHME, W. (Hrsg.): *Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas*. – Wiesbaden (Aula Verlag).
- NOLL, F.C. (1878): Einige dem Rheinthale von Bingen bis Coblenz eigenthümliche Pflanzen und Thiere mit Rücksicht auf ihre Verbreitung und die Art ihrer Einwanderung. – *Jahresber. der Frankf. Ver. Geogr. Statist.*, **1878**: 1-66.
- PAULO, O.S., W.C. JORDAN, M.W. BRUFORD & R.A. NICHOLS (2002): Using nested clade analysis to assess the history of colonization and the persistence of populations of an Iberian Lizard. – *Molecular Ecology*, **11**(4): 809-819.
- PETERS, G. (1970): Studien zur Taxonomie, Verbreitung und Ökologie der Smaragdeidechsen IV. Zur Ökologie und Geschichte der Populationen von *Lacerta v. viridis* (Laurenti) im mitteleuropäischen Flachland. – Veröffentlichungen des Bezirksheimatmuseums Potsdam, **21**: 49-119.
- POSADA, D. & K.A. CRANDAL (1998): MODELTEST: testing the model of DNA substitution. – *Bioinformatics*, **14**(9): 817-818.
- PRIOR, K.A., H.L. GIBBS & P.J. WEATHERHEAD (1997): Population genetic structure in the black rat snake: implications for management. – *Conservation Biology*, **11**(5): 1147-1158.
- RAND, D.M. (2001): The units of selection on mitochondrial DNA. – *Annual Review of Ecology and Systematics*, **32**: 415-448.
- ROZAS, J., J.C. SANCHEZ-DELBARRIO, X. MESSEGUER & R. ROZAS (2003): DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. – *Bioinformatics*, **19**: 2496-2497.
- RYKENA, S., H.-K. NETTMANN & W. MAYER (2001): *Lacerta viridis guentherpetersi* ssp. nov., eine neue Unterart der Smaragdeidechse aus Griechenland. – *Mertensiella*, **13**: 89-97.
- SAITOU, N. & M. NEI (1987): The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. – *Molecular Biology and Evolution*, **4**: 406-425.
- SAVOLAINEN, P., L. ARVESTAD & J. LUNDEBERG (2000): mtDNA tandem repeats in domestic dogs and wolves: mutation mechanism studied by analysis of the sequence of imperfect repeats. – *Molecular Biology and Evolution*, **17**(4): 474-488.
- SHISA, E., F. TANZARIELLO, A. REYES, G. PESOLE & C. SACCONI (1997): Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. – *Gene*, **205**(1-2): 125-140.
- SCHNEEWEISS, N. (2001): Aspekte der Entwicklung und des Ausbreitungsverhaltens von Smaragdeidechsen (*Lacerta viridis viridis*) in einem Ansiedlungsversuch in Brandenburg. – *Mertensiella*, **13**: 229-240.
- SCHNEEWEISS, N., M. BÖHME, M. STEIN, V. ZAVADIL & J. KAUTMAN (2004): Populationsgenetische Studie als Beitrag zum Artenschutzprojekt Smaragdeidechse (*Lacerta viridis*) in Brandenburg. – *Elaph*, **12**(2): 65-67.
- SEDDON, J.M., F. SANTUCCI, N.J. REEVE & G.M. HEWITT (2001): DNA footprints of European hedgehogs, *Erinaceus europaeus* and *E. concolor*: Pleistocene refugia, postglacial expansion and colonization routes. – *Molecular Ecology*, **10**(9): 2187-2198.
- SUMIDA, M., H. KANEDA, Y. KATO, Y. KANAMORI, H. YONEKAWA & M. NISHIOKA (2000): Sequence variation and structural conservation in the D-loop region and flanking genes of mitochondrial DNA from Japanese pond frogs. – *Genes & Genetic Systematics*, **75**(2): 79-92.
- SWOFFORD, D.L. (2002): PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), Version 4.0. Sunderland, MA (Sinauer Associates).

TAMURA, K. & M. NEI (1993): Estimation of the number of nucleotide substitutions of the control region of mitochondrial DNA in human and chimpanzees. – *Molecular Biology and Evolution*, 10: 512-526.

THOMPSON, J.D., T.J. GIBSON, F. PLEWNIAK, F. JEANMOUGIN & D.G. HIGGINS (1997): The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. – *Nucleic Acids Research*, 24: 4876-4882.

Eingangsdatum: 11. August 2005

Adressen der Autoren der Originalarbeit: MANJA U. BÖHME, THOMAS U. BERENDONK, Institute of Biology II, Department of Molecular Evolution and Animal Systematics, University of Leipzig, Talstraße 33, D-04103 Leipzig, Deutschland, E-Mail: maboehme@rz.uni-leipzig.de, tberendonk@rz.uni-leipzig.de; NORBERT SCHNEEWEISS, Landesumweltamt Brandenburg, Naturschutzstation Rhinluch, Nauener Straße 68, D-16833 Linum, Deutschland; UWE FRITZ, Museum of Zoology (Museum für Tierkunde), Natural History State Collections Dresden, A.B.-Meyer-Bau, D-01109 Dresden, Deutschland; JIŘÍ MORAVEC, Department of Zoology, National Museum, CZ-11579 Praha 1, Tschechische Republik; IGOR MAJLÁTH, University of Pavol Jozef Safarik in Kosice, Faculty of Science Institute of Biology and Ecology, Moyzesova 11, SK-040 01 Košice, Slowakei; VIKTÓRIA MAJLÁTHOVÁ, Parasitological Institute SAS, Hlinkova 3, SK-04001 Košice, Slowakei.