

3. Populationsgenetische Auswirkungen urbaner Habitatfragmentierung auf den flugunfähigen Laufkäfer *Carabus nemoralis* (Coleoptera: Carabidae)

Abstract – The aim of this study was to investigate the genetic consequences of urban habitat fragmentation on the population of the wood-dwelling, flightless carabid beetle *Carabus nemoralis* in an urban environment compared with a rural environment. The investigations took place in Berlin, a large city in the lowlands of north-eastern Germany, and its agriculturally used surroundings. From 304 *Carabus nemoralis* specimens, collected in six urban and four rural woodland fragments, total DNA was extracted from one leg of each specimen. Nine different microsatellite sequences were amplified, and the length of the amplified microsatellites was measured with an automatic sequencer. Length polymorphism was used as an indicator of genetic diversity in the different subpopulations. Distribution and frequency of the different microsatellite alleles was used to uncover the genetic population structure. This was related to spatial and temporal patterns of the investigated woodland fragments. Genetic diversity decreased with the increasing urban built-up landcover around the sampling sites, but correlation with woodland cover and habitat fragment size was weakly supported. Summed genetic diversity was low compared to a population in southern France investigated earlier (Brouat et al. 2003). Genetic differentiation was generally high (F_{ST} : 0.03-0.26). Statistically, it was not significantly higher between urban than rural subpopulations but graphic analysis implied that this result was biased due to the limited number of samples. Genetic differentiation increased with the number of separating streets rather than the topographic distance. An allele frequency gradient in the south of Berlin seemed to be a result of an historical recolonisation process. The results implied a reduced exchange of individuals between the urban subpopulation compared to rural subpopulations mainly due to increased built-up landcover, streets and the loss of woodland in the vicinity of the woodland fragments. Considering the small population size of most urban subpopulations, this reduced exchange of individuals might lead to an increased inbreeding decreasing the fitness of the urban subpopulations.

EINLEITUNG

Habitatfragmentierung, hervorgerufen durch Habitatverlust, Habitatverkleinerung und zunehmende Isolation der Habitatflächen ist eine der wesentlichen Ursachen für die zunehmende Artenarmut unserer Landschaft (Andr en 1994, Frankham et al. 2002). Die Untergliederung der Populationen in isolierte Subpopulationen kann außerdem, je nach Isolationsgrad, zu einerverst rkten genetischen Differenzierung (Hastings & Harrison 1994; Young et al. 1996) durch genetische Drift in den Subpopulationen führen. Da die Verschiebungen der Allelfrequenzen aufgrund der genetischen Drift zufällig erfolgt, können sich die Verschiebungen in den isolierten Subpopulationen unterscheiden. Die resultierenden Unterschiede bleiben durch den eingeschränkten Genfluß (Slatkin 1985) dann erhalten.

Gleichzeitig bringt die Fragmentierung eine Verkleinerung der Populationsgr o en in den Habitatfragmenten mit sich, wodurch die Effekte der genetischen Drift nochmal verstärkt werden und zusätzlich zur Verschiebung der Allelfrequenzen einzelne Allele auch völlig ausfallen können (Hartl & Clarke 1989). In den verkleinerten Subpopulationen kann dies zu einer Verringerung der genetischen Vielfalt und damit auch der Anpassungsfähigkeit der Arten sowie zu Inzuchtdepression (vorwiegend durch rezessive letale Allele, die durch Inzucht häufiger homozygot vorliegen) führen, beide mit negativen Folgen für die Überlebensfähigkeit der Populationen (Frankham 1995, Lande 1995, Keller & Waller 2002, Reed & Frankham 2003).

Es liegt nahe, dass sich die Habitatfragmentierung auf verschiedene Arten, in Abhängigkeit von artspezifischen Eigenschaften, unterschiedlich auswirkt. Beispiele für solche artspezifischen Eigenschaften sind zum Beispiel Mobilität, Generationsdauer, Reproduktionsstrategien oder Territorialverhalten. In Folge dieser Unterschiede können beispielsweise Entfernungen zwischen besiedelbaren Habitaten, die für wenig mobile Arten kaum überbrückbar sind, gleichzeitig kein Hindernis für mobile Arten darstellen.

Die Auswirkungen der Habitatfragmentierung hängen aber auch von Habitateigenschaften, wie Alter und Stabilität des Lebensraum ab. Auch die Qualität der Landschaft zwischen den Habitatfragmenten, des sogenannten Matrixhabitats, hat großen Einfluß auf die genetische Isolation zwischen den Subpopulationen in den Habitatfragmenten. Dieser Einfluß rührt zum einen von der Auswirkung der Landschaftsstruktur auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Tiere her. In diesem Zusammenhang ist besonders der Raumwiderstand (Heydemann 1957, Jopp 2006) der Matrix entscheidend, aber auch das Vorhandensein von Hindernissen und Leitstrukturen (Mader 1979, Haddad 1999a, Koivula & Vermeulen 2005). Zum anderen ist die Mortalität während der Ausbreitung durch das Matrixhabitat entscheidend für den Erfolg des Individuenaustausch und damit die genetische Isolation beziehungsweise deren Gegenteil, den Genfluß.

Die Auswirkungen der Habitatfragmentierung auf die genetische Struktur von Populationen waren schon Untersuchungsobjekt zahlreicher Studien in ruralen Landschaftsteilen (Überblicke: Avise & Hamrick 1996, Leberg 1996, Loeschke et al. 1994, Smith & Wayne 1996, Young et al. 1996, Frankham et al. 2002). Obwohl unstrittig ist, dass sich die Habitatfragmentierung auf die Zusammensetzung des Genpools auswirken kann, bleiben viele Resultate noch kontrovers, z.B. enden nicht alle Fragmentierungsereignisse auch mit einer genetischen Verarmung (Steiniger 1979, Desender et al. 2005). Daher gibt es noch zahlreiche offene Fragen, gerade was den Einfluss art- und habitatspezifischer Faktoren auf die genetischen Auswirkungen der Habitatfragmentierung betrifft. Beispielsweise ist über die Effekte der Habitatfragmentierung auf urbane Populationen im Vergleich zu ruralen Populationen nur sehr wenig bekannt.

Im angewandten Naturschutz ist die Vernetzung von Teillebensräumen in den letzten Jahren zu einem wesentlichen Ziel geworden, und die Verpflichtung zum Aufbau eines Biotopverbunds ist sowohl auf europäischer (FFH-Richtlinie 1992) als auch nationaler Ebene (BNatschG 2002) in die Gesetzgebung aufgenommen worden. Die Dichte des zu knüpfenden Habitatnetzes und die Mindestgröße der Habitate hängen wesentlich von den Ausbreitungsfähigkeiten und anderen artspezifischen Eigenschaften der zu schützenden Arten ab. Gerade im Bereich

der Wirbellosen ist der Forschungsbedarf dazu immer noch sehr groß. Populationsgenetische Studien können helfen, den Einfluss der historischen und gegenwärtigen Habitatfragmentierung einzuschätzen. Außerdem können Entscheidungshilfen für den prioritären Schutz geeigneter Populationen, zum Beispiel solcher mit hoher genetischer Vielfalt, gegeben werden (Lomolino 1994).

Laufkäfer eignen sich gut für die Untersuchung von Habitatfragmentierungseffekten. Vor allem in ökologischer Hinsicht gehören sie zu den am häufigsten und besten erforschten Landarthropoden (Lindroth 1945, 1949; Thiele 1977). Daher ist von vielen Laufkäferarten der Grad ihrer Habitatbindung bekannt. Die zum Teil enge Habitatbindung ist ein Faktor, der wesentlich zur Empfindlichkeit einer Art gegenüber Habitatfragmentierung beiträgt, da diese Arten im Fall der Fragmentierung ihres Lebensraumes kaum Ausweichhabitate nutzen können.

Die Ausbreitungsfähigkeit der Arten ist ein weiterer artspezifischer Faktor, von dem die Auswirkungen der Habitatfragmentierung abhängen. Bei Laufkäfern hängt diese von der Laufaktivität aber auch von ihrer Flugfähigkeit ab. Zahlreiche Laufkäferarten sind generell flugunfähig, da funktionstüchtige Hinterflügel fehlen; andere Arten sind dimorph, und die flugfähige Morphe häuft sich in den Populationen in besonderen Situationen, z.B. bei der Besiedlung neuer Habitate (Lindroth 1949, Den Boer 1970, Desender 1989). Ein Beispiel für Lebensräume, in denen sich flugfähige Arten häufen, sind Biotope, die nur kurzzeitig bestehen, denn hier ist eine starke Ausbreitungsfähigkeit für eine rasche Ansiedlung entscheidend (Den Boer 1970). In Wäldern dagegen treten gravierende Habitatveränderungen, zum Beispiel initiiert durch das Absterben von Altbäumen, eher kleinräumig auf. Die meisten Wälder in Mitteleuropa sind (oder waren) auch großflächig. Viele Arten können daher auch ohne hohe Ausbreitungskapazität in diesem Biotoptyp räumlich-kontinuierliche Populationen aufrecht erhalten. Gerade weil eine hohe Ausbreitungskapazität für solche Waldarten zum Teil verzichtbar ist, ist zu vermuten, dass sie auf die Fragmentierung ihres Lebensraumes besonders empfindlich reagieren.

Daher gibt es auch bereits einige Studien, die sich mit der Populationsgenetik flugunfähiger Waldlaufkäferarten beschäftigten. Meist wurden die Auswirkungen von Habitatfragmentierungen (Butterweck 1998; Keller et al. 2004, Terlutter 1990) oder die Populationsstruktur auf verschiedenen räumlichen Skalen (Assmann und Weber 1997; Brouat et al. 2003; Garnier et al. 2004, Niehues et al. 1996) untersucht. Untersuchungen aus Landschaften, in denen die Isolation zwischen den Teilpopulationen so groß ist wie im urbanen Bereich, sind aber kaum vorhanden. Steiniger (1979) untersuchte neun häufige Laufkäferarten im Großraum der Stadt Saarbrücken. Bei Waldarten, wie *Carabus problematicus*, *Abax parallelepipedus* und *Abax parallelus*, fand er eine stärkere Differenzierung der Allelfrequenzen von Genen verschiedener Allozyme im urbanen Bereich im Vergleich zu ruralen Standorten. *Abax parallelepipedus* (die Synonymität zu *Abax ater* ist umstritten, siehe Brandmayr & Zetto Brandmayr 1994) und *Pterostichus madidus* waren die Objekte einer Allozymuntersuchung in Brüssel (Belgien) und Birmingham (UK), wobei nur in Birmingham Waldfragmente untersucht wurden (Desender et al. 2005) und keine genetische Verarmung festgestellt wurde.

Im Gegensatz zu Untersuchungen von Allozymmustern fehlen für den urbanen Bereich bisher Studien, die selektionsneutrale genetische Marker, beispielsweise Mikrosatelliten, verwenden. Als Mikrosatelliten werden solche Abschnitte in der DNA bezeichnet, die keine funktionellen Gene darstellen und in der Regel auch nicht an solche gekoppelt sind und damit keinen Angriffspunkt für selektive Prozesse bieten (Lemaire et al. 2000, Dhuyvetter et al. 2004). Es handelt sich dabei um kurze Sequenzen, manchmal nur zwei Basen, die in vielfacher Wiederholung hintereinander im Genom vorliegen. Am Rand dieser hochrepetitiven Sequenz befinden sich konservierte Sequenzen, die als Primer zur Amplifikation dieser Mikrosatelliten benutzt werden können. Die Anzahl der Wiederholungen im hochrepetitiven Teil ist erblich. Gleichzeitig unterliegt sie einer relativ hohen Mutationsrate, die aber nicht für jeden Mikrosatellitentyp gleich ist, sondern von Faktoren wie der Basenzusammensetzung innerhalb der Wiederholung, Art der Wiederholung (Di-, Tri- oder Tetranucleotid), Länge der Wiederholungssequenz (Schlötterer et al. 1998) und der taxonomischen

Zugehörigkeit des Organismus abhängen kann (Balloux & Lugon-Moulin 2002). Die dadurch verursachte Variabilität liegt in einer Spanne, die Mikrosatelliten auch für kleinräumige Populationsanalysen geeignet sein läßt (Parker et al. 1998). Besonders bei hochpolymorphen Mikrosatelliten kann allerdings nicht immer unterschieden werden, ob bestimmte Allele aus anderen Teilpopulationen durch Genaustausch rekrutiert wurden, oder ob sie durch Mutation vor Ort konvergent entstanden sind (Balloux & Lugon-Moulin 2002). Für Untersuchungen, bei denen der Schwerpunkt auf der Abschätzung des genetischen Austausches zwischen den Teilpopulationen liegt, wie in diesem Fall, ist es daher sinnvoll weniger polymorphe Mikrosatelliten zu verwenden, deren Mutationsrate entsprechend gering ist.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den genetischen Auswirkungen der urbanen Habitatfragmentierung auf Teilpopulationen des flugunfähigen Großlaufkäfers *Carabus nemoralis* Müller, 1764 in Berlin im Vergleich zu den Auswirkungen im rurealem Umland. Neben *Carabus granulatus* Linnaeus, 1758 ist *C. nemoralis* als einzige *Carabus*-Art bis in das Zentrum Berlins vorhanden (Deichsel 2006). Obwohl beide Arten Wälder als Lebensraum bevorzugen, sind sie nicht so eng an dieses Habitat gebunden wie andere silvicole *Carabus*-Arten.

Die Waldfragmente in Berlin, die von *C. nemoralis* noch besiedelt werden, sind fast immer durch eine dicht bebaute Stadtlandschaft mit vielen Straßen getrennt. Die Überbrückung dieser trennenden Habitate dürfte den Käfern je nach Entfernung, die zurückzulegen wäre, wahrscheinlich sehr schwer fallen, denn bereits einzelne Straßen stellen ein großes Ausbreitungshindernis dar (Mader 1979, Koivula & Vermeulen 2005). Die Isolation zwischen den untersuchten Waldfragmenten wurde daher als sehr groß eingeschätzt. Für die Herkunft der Subpopulationen von *C. nemoralis* in diesen Waldfragmenten gibt es grundsätzlich zwei verschiedene Möglichkeiten:

(1) Zum einen könnten die Vorkommen Reliktorkommen aus den Zeiten vor der städtischen Besiedlung sein. Die heute vorhandenen Subpopulationen wären demnach Relikte einer vor dem Stadtausbau weitgehend kontinuierlichen Population. Die Subpopulationen haben in den einzelnen Waldfragmenten

überdauert, stehen aber kaum noch im Individuenaustausch miteinander und mit den Subpopulationen des städtischen Umlandes.

(2) Die andere Möglichkeit wäre, dass die urbanen Subpopulationen nicht so stark isoliert sind, dass ein Individuenaustausch unmöglich ist. Durch den Individuenaustausch zwischen den urbanen Subpopulationen und dem städtischen Umland wäre der genetische Austausch gewährleistet und Waldfragmente in denen die Art ausstirbt, könnten wiederbesiedelt werden. Diese Variante schließt auch die Möglichkeit einer source-sink-Situation ein, bei der die urbanen Subpopulationen nur durch den ständigen Nachschub an Käferindividuen aus dem Umland erhalten werden.

Bei den bisherigen Studien zur urbanen Fauna wurde zwischen diesen beiden Mechanismen, die die populationsgenetischen Muster hervorgerufen haben könnten, nicht unterschieden. Dabei kann dieser Unterschied für eine dauerhafte Erhaltung der Biodiversität in den Stadtwäldern aber entscheidend sein, da beispielsweise Waldfragmente, in denen eine reliktdäre Subpopulation ausgelöscht wurde, aufgrund des fehlenden Individuenaustausches nicht mehr auf natürlichem Wege wiederbesiedelt würden. Die Einschätzung des Genflusses zwischen den städtischen Populationen von *C. nemoralis* und der genetischen Vielfalt der Teilpopulationen sowie ein Vergleich mit ruralen Populationen soll diese Unterscheidung ermöglichen.

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war die Beantwortung der folgenden Fragen:

1. Lassen sich die genetischen Auswirkungen von Habitatfragmentierung, wie erhöhte genetische Differenzierung und Verlust genetischer Diversität, auch für die vergleichsweise eurytope aber flugunfähige Art *Carabus nemoralis* nachweisen?
2. Sind diese Auswirkungen im urbanen Bereich stärker als im ruralen?

3. Spricht die populationsgenetische Struktur eher für eine ständige Neubesiedlung aus dem Umland oder für einen relikitären Status der urbanen Subpopulationen?

MATERIAL UND METHODEN

Verbreitung und Ökologie der untersuchten Art

Carabus nemoralis ist in Europa südlich bis zu den Alpen und Pyrenäen, nördlich bis in den Süden der skandinavischen Halbinsel und östlich etwa bis Moskau und Voronezh verbreitet (Arndt & Trautner 2004). In Nordamerika wurde die Art eingeschleppt. In Mitteleuropa ist *C. nemoralis* streng nachtaktiv (Hockmann 1992) und lebt vorwiegend in Wäldern. Diese Habitatbindung ist jedoch nicht sehr eng und so kann die Art in geringerer Individuendichte auch in offeneren Habitaten, zum Beispiel auf Wiesen, Brachen oder sogar Äckern, angetroffen werden (Kennedy 1994). In der Gattung *Carabus* gehört die Art mit 18-28 mm Körperlänge (Arndt & Trautner 2004) zu den mittelgroßen Arten. Die Hinterflügel sind stets auf winzige Rudimente reduziert. Die Fortpflanzung erfolgt im Frühling, so dass die Larven im Sommer heranwachsen und die Imagines im darauffolgenden Herbst schlüpfen, um dann zu überwintern. Frühling und Herbst sind auch die Hauptaktivitätszeiträume, die potentiell mit einer Ausbreitung verbunden sind. Da die maximale Lebensdauer der Käfer nicht auf ein Jahr beschränkt ist, können sie sich gelegentlich auch mehrmals fortpflanzen (Hockmann 1992).

Untersuchungsgebiet

Berlin gilt als eine grüne Großstadt. Zahlreiche Grünanlagen, aber auch Parks, Forste und weitgehend der natürlichen Entwicklung überlassene Brachen durchziehen die Stadt. Forsten, die zunehmend auch naturnah bewirtschaftet werden, nehmen besonders an der Peripherie große Flächen ein. Im europäischen Vergleich ist Berlin die Millionenstadt mit dem höchsten Waldanteil (Weißpflug 1999).

Erst 1780 erreichte die Berliner Bevölkerung eine Zahl von 100 000. Die großen Entwicklungsschübe und damit die Ausweitung des Stadtgebietes erfolgten dann nach der Fertigstellung der Eisenbahnlinie Berlin-Breslau-Oderberg 1847 und in den Gründerjahren nach dem Krieg von 1870/71 (Cornelius 1995). Dadurch sind auch die Untersuchungsflächen erst seit etwa 100-150 Jahren Teil der urbanen Region.

Der Dauerwaldvertrag von 1915 sicherte große Waldflächen in Berlin vor der Überbauung. 16000 ha der in Folge des Dauerwaldvertrags von 1915 erhalten gebliebenen Forstflächen befinden sich im heutigen politischen Stadtgebiet (89175 ha Gesamtstadtfläche).

Seit der Mitte des 18. Jahrhunderts litten die Berliner Wälder besonders unter der starken Waldstreunutzung. Diese Nutzung wurde erst Ende des 19. Jahrhunderts völlig eingestellt. Während der Zeit des Nationalsozialismus wurden die Berliner Wälder erneut stark devastiert. Ab 1937 ordnete das Reichsforstamt eine Erhöhung des Holzeinschlags um 50% an. Dieser wurde aber noch übertroffen und lag bis 1944 bei durchschnittlich 150800 Festmetern (vorher 71200 Festmeter). Noch schlimmer wurde es in den letzten beiden Kriegsjahren, in denen der Wald von der Wehrmacht auch zu Verteidigungszwecken gelichtet wurde und außerdem Brennholz von der Wehrmacht und der zivilen Bevölkerung gestohlen wurde (Cornelius 1995).

Im folgenden Text werde ich vereinfachend von Wäldern sprechen, wenn es sich um baumbestandene flächige Biotope, also im wesentlichen Forsten und Parks handelt. Im Rahmen des interdisziplinären DFG-Graduiertenkollegs 780 „Stadtökologische Perspektiven einer europäischen Metropole - das Beispiel Berlin“ (Endlicher & Simon 2005) wurden die Wälder im südöstlichen Sektor Berlins untersucht. Im einzelnen wurden folgende urbane Flächen einbezogen (Abb. 8).

URB-1: Die „Hasenheide“ war stets wenigstens locker bewaldet, im 19. Jh. ein militärisches Übungsgelände (Schießplatz) und wurde dann ab 1936 zu einem Volkspark mit großen Liegewiesen umgestaltet.

URB-2: Der sehr kleine „Wildenbruchplatz“ am Ufer des Neuköllner Schifffahrtskanal wird von einigen alten Baumgruppen und dichten

Strauchrabbatten mit vorwiegend exotischen Pflanzen geprägt. Bis zum Ende des 19. Jh. war an dieser Stelle nur feuchtes Wiesenland. Anfang des 20. Jh. wurde die Fläche als Park gestaltet.

URB-3: Der „Plänterwald“ ist in großen Teilen naturnaher Laubwald, der auch als Landschaftsschutzgebiet eingestuft ist. Vor 1850 befand sich der Plänterwald zusammen mit der Königsheide und dem Forst bei Grünau in einem einheitlichen Waldgebiet entlang der Spree. Um 1850 wurde ein Großteil des Plänterwaldes gefällt, aber bald wieder aufgeforstet (Abb. 9).

URB-4 und URB-5: Die „West-Wuhlheide“ (URB-4) und die „Ost-Wuhlheide“ (URB-5) sind die einzigen untersuchten Flächen, die von den anderen Flächen durch die Spree getrennt sind. Beide Flächen grenzen aneinander, sind aber seit circa 100 Jahren durch eine vierspurige Straße mit zentraler Straßenbahntrasse getrennt. Die ursprünglichen Wälder wurden 1919-1931 als waldartiger Park gestaltet, welcher im Zweiten Weltkrieg zu großen Teilen zerstört wurde.

URB-6: Die „Königsheide“ und das untersuchte Forstgebiet bei Grünau (RUR-1) waren bis 1851 durch Forstflächen direkt miteinander verbunden.

RUR-1: Am südöstlichen Stadtrand liegt die größte der untersuchten Flächen

Tabelle 2. Landschaftsparameter der Waldflächen aus denen die untersuchten Subpopulationen von *Carabus nemoralis* stammen.

Flächen- name	Flächen -größe [ha]	Waldanteil (Umkreis 1 km)	Anteil der Blockbauung (Umkreis 1 km)
URB-1	22,2	10,9 %	18,9 %
URB-2	1,9	1,2 %	33,9 %
URB-3	95,3	25,5 %	9,9 %
URB-4	47,9	20,2 %	16,2 %
URB-5	396,5	23,5 %	19,7 %
URB-6	115,2	38,2 %	10,3 %
RUR-1	1149,3	70,1 %	0
RUR-2	11,1	6,8 %	0
RUR-3	24,2	11,6 %	0
RUR-4	940,0	70,9 %	0

im Forstgebiet Grünau, nordwestlich von „Karolinenhof“.

RUR-2: Die südlich des Berliner Stadtgebiet gelegenen Flächen RUR-2 und RUR-3 sind erst seit dem Anfang des 19. Jh. bewaldet. Diese kleineren Wälder liegen aber in einer alten Agrarlandschaft, die auch schon vorher von Feldgehölzen geprägt war. RUR-2 liegt unmittelbar südlich der Ortschaft „Diepensee“.

RUR-3: Dieses kleine Waldstück liegt westlich der Ortschaft „Rotberg“.

RUR-4: Die dritte Fläche bei „Blankenfelde“ ist auch auf den ältesten ausgewerteten Karten aus der Mitte des 18. Jh. als Wald eingezeichnet (Abb. 10).

Die Landschaftsparameter Flächengröße und Aspekte der Landschaftnutzung in der Umgebung der eingesetzten Bodenfallen wurden auf der Grundlage des

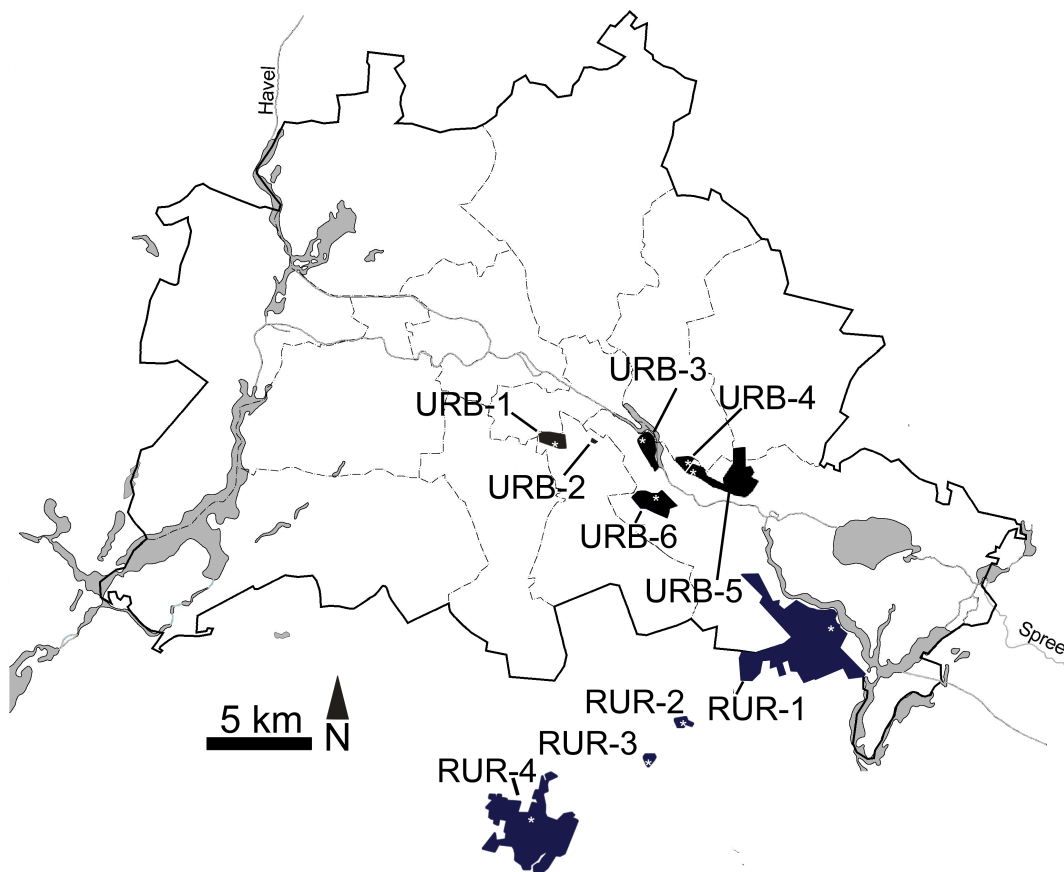


Abbildung 8. Topographische Lage der Wälder im Südosten Berlins, in denen die untersuchten Subpopulationen von *Carabus nemoralis* leben. Die durchgezogene Linie ist die administrative Stadtgrenze von Berlin. Graue Flächen stellen Gewässer dar. Durch weiße Sterne sind die Fangorte der untersuchten Käfer markiert.

digitalen topographischen Atlas TOP50 (1999) bestimmt (Tab. 2). Zur Berechnung des Anteils von Wald und dichter Blockbebauung im Umkreis von 1 km Radius um die Fallenstandorte stand die Bildanalyse-Software MultiSpec (Landgrebe & Biehl 2005) zur Verfügung. Der Waldanteil in der Umgebung der Flächen wurde als Indikator für die Isolation der Flächen von anderen Waldflächen benutzt. Der Anteil der dichten Blockbebauung diente als Indikator für die Urbanisierung der Umgebung, in der die beprobten Waldflächen lagen.

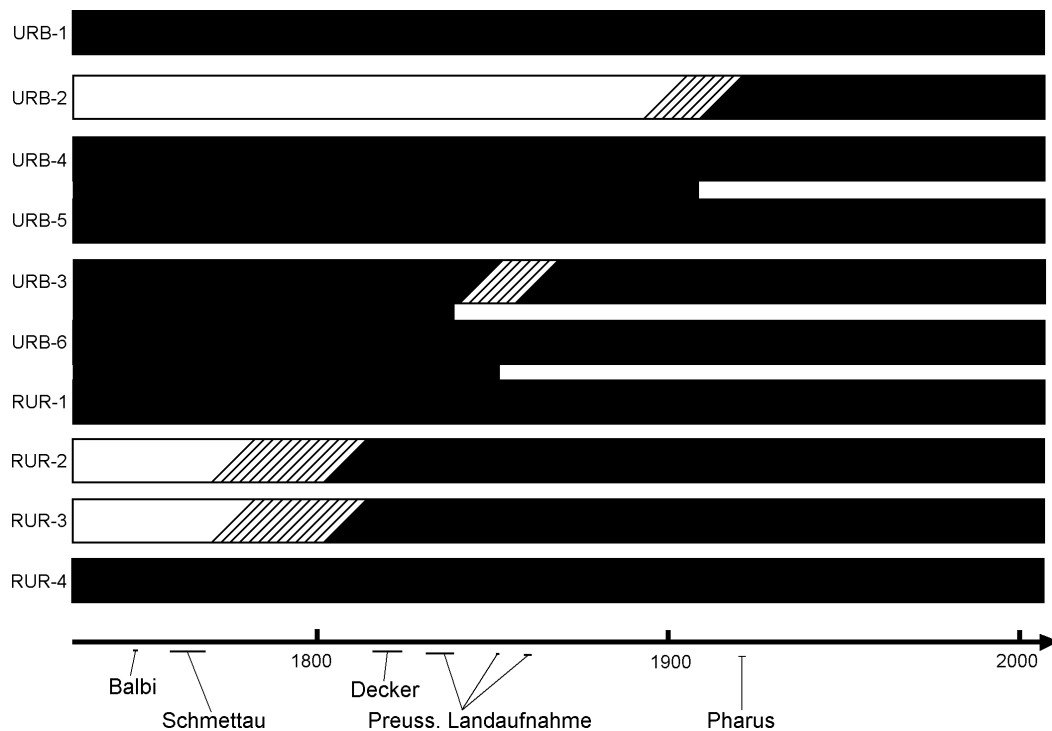


Abbildung 9. Rekonstruktion der waldgeschichtlichen Entwicklung der Flächen aus denen die untersuchten Subpopulationen stammen. Als Grundlage dienten die auf dem Zeitstrahl angegebenen Kartenwerke (siehe Literaturverzeichnis). Sind die waagerechten Balken schwarz gefärbt, so war die betroffene Fläche bewaldet. Schraffierte Bereiche deuten Änderungen an, die nicht genau datiert werden können, im Fall der Fläche URB-3 aber auch eine Zeit, in der der größte Teil der Fläche abgeholzt war. Verbindungen zwischen den Balken deuten an, dass die Flächen zur entsprechenden Zeit in einer kontinuierlichen Waldfläche lagen.

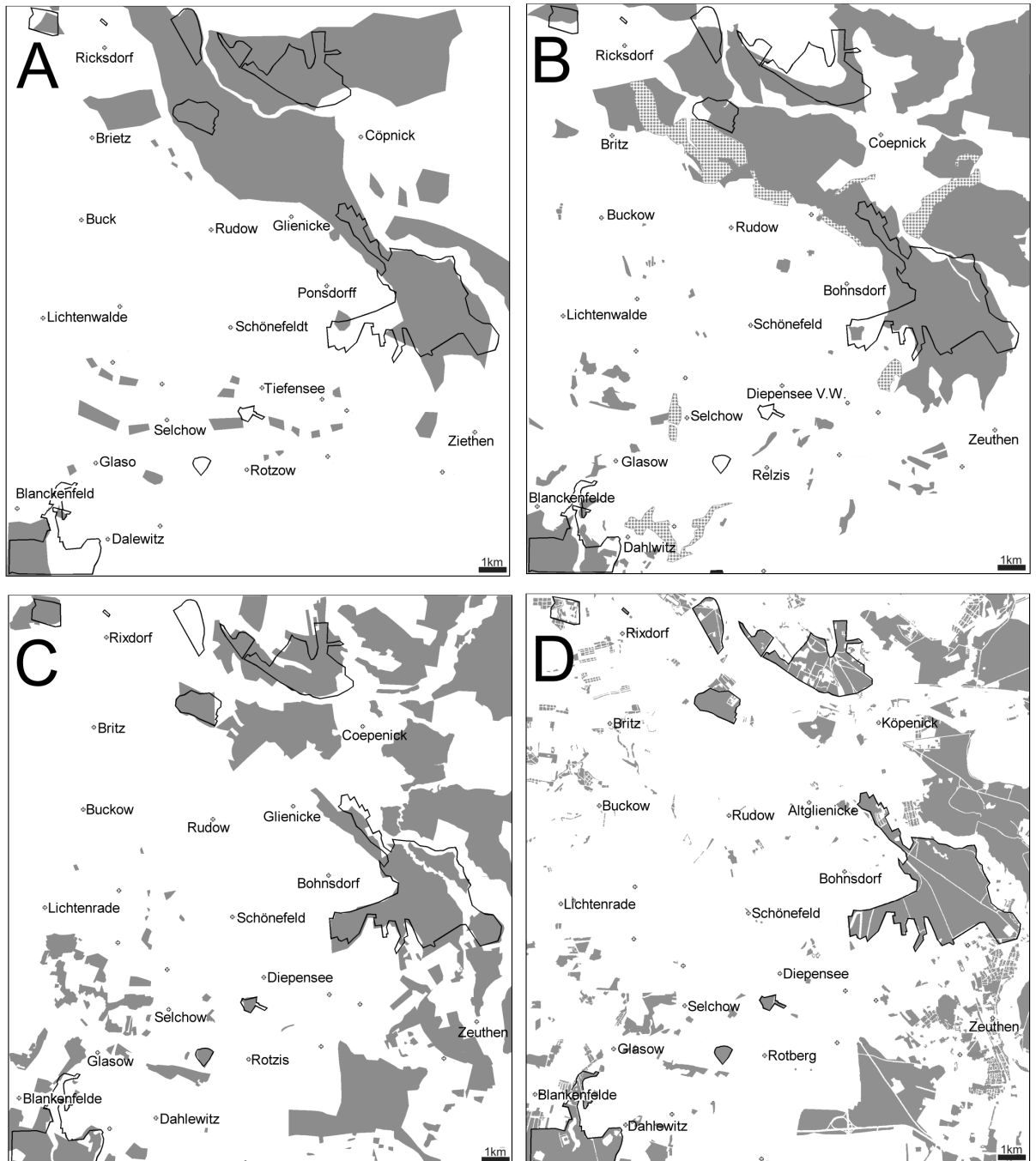


Abbildung 10. Historische Entwicklung der Waldbedeckung im Untersuchungsgebiet nach historischen Karten. Wälder sind grau eingezeichnet. Als schwarze Umrisse sind die aktuell beprobten Flächen eingezeichnet. Die Karten von Balbi und Schmettau sind geodätisch noch sehr unpräzise. Die dargestellten Waldflächen sind daher auch nur schematisch in die heutige topografische Situation übertragbar. **A.** 1748-1749 nach Balbi (1748-1849). **B.** 1767-1787 nach Schmettau (1767-1787), eine besondere Signatur in dieser Karte konnte nicht eindeutig als Wald zugeordnet werden. Das sogenannte „Buschland“ wird daher in der übertragenen Karte als gepunktete Fläche getrennt von den übrigen Wäldern dargestellt. **C.** 1869-1871 nach Preussischen Urmesstischblättern (1869 bzw. 1870/71). **D.** Aktuelle Situation nach topografischen Karten 1:50000 (TOP50 1999). Versiegelte Straßenflächen sind in Karte D als weiße Linien innerhalb der Waldflächen zu erkennen. Die bedeutendsten Ortschaften sind durch Punkte an der Stelle der ehemaligen Ortskerne symbolisiert, die mit den historisch gültigen Ortsnamen bezeichnet sind.

Fangmethode

Aus jeder Subpopulation wurde eine Probe von etwa 30 *Carabus nemoralis* genommen (genaue Anzahl in Tab. 4). Die meisten Individuen wurden 2004 mit Bodenfallen (Plastikbecher mit einem Durchmesser von 8,5 cm) lebend gefangen. Nachdem die Tiere im Tiefkühlschrank bei -20°C abgetötet wurden, konnte ihnen ein Mittelbein entfernt und in unvergälltem Ethanol bis zur Probenaufbereitung aufbewahrt werden. Die so behandelten Tiere wurden genadelt und getrocknet, um spätere morphologische Untersuchungen zu ermöglichen. Ein geringer Anteil der Individuen entstammt Untersuchungen derselben Standorte aus den zwei Jahren zuvor. Der Erhaltungszustand dieser Tiere war zum Teil schlechter, da sie in Bodenfallen über längere Zeiträume in einer Fangflüssigkeit (gesättigte Kochsalzlösung) lagen. Meistens konnte aber noch DNA für die Mikrosatellitenanalyse gewonnen werden.

DNA-Extraktion und Mikrosatellitenanalyse

Die DNA wurde aus den konservierten Beinen der verschiedenen Individuen mit Hilfe eines Matrixextraktion-Kits der Firma Qiagen (DNeasy) gewonnen. Dazu wurde das Bein mit Hilfe einer Rasierklinge grob zerkleinert und die Teile in den Probenpuffer aufgenommen. Anschließend wurden die Proteine durch die Behandlung mit Proteinase K bei 55°C zerlegt. Die anschließenden Puffer bereiteten die DNA auf eine optimale Bindung an eine Silikagel-Membran vor. In einer Minisäule mit der entsprechenden Membran wurden die Proben zentrifugiert, Kontaminationen und Enzyminhibitoren passierten die Membran und die DNA blieb hängen. Zwei Reinigungsschritte mit stark ethanolhaltigen Puffern schlossen sich an, und am Ende wurde die DNA mit einem schwach salzhaltigen, wässrigen Puffer von der Membran gewaschen und aufgefangen (Qiagen 2006).

Zur Untersuchung der genetischen Variabilität wurden 12 verschiedene Mikrosatelliten ausprobiert, davon wurden neun verwendet. Brouat et al. (2002) haben Primerpaare für zehn Mikrosatelliten aus südfranzösischen *Carabus nemoralis* entwickelt. Von diesen wurden sieben in die Analyse mit aufgenommen (Tab. 3), die drei übrigen waren in Voruntersuchungen jeweils nur mit einem Allel vertreten und wurden daher als monomorphe Loci eingeschätzt und nicht benutzt.

Weiterhin wurden zwei Primerpaare aus den Arbeiten von Keller und Largiader 2002 und Garnier et al. 2004 verwendet (Tab. 3).

Die PCR-Amplifikationen wurden in einem Thermocycler (Eppendorf Mastercycler) durchgeführt. Das Reaktionsvolumen betrug jeweils 25 µl. Verwendung fand das Hotmaster Taq-Polymerase-Kit (Eppendorf). In jedem

Tabelle 3. Verwendete Mikrosatelliten für die populationsgenetische Analyse von *Carabus nemoralis*.

Locus	Quelle	Primer Sequenzen (5'→3')	GenBank Zugangscode	annealing Temp. [°C]
Cn 1/180	Brouat et al. 2002	GGCTATGTGTGCTATGACGC; TGATTTATGGGTACACAAGTGG	AF 422154	55
Cn 7/56	Brouat et al. 2002	CTGGTTTACCGACAGTGGAG; CTTTGTGTGTATGTATCGTTTTGT	AF 422156	55
Cn 12/99	Brouat et al. 2002	GCTCCGATTATTCCAGTTAG; CTGTGTGAAGAAACGGAAGT	AF 422158	52
Cn 3/C	Brouat et al. 2002	CCAAATAAAATGAAGTACAAGC; ACTCGCACGCACACTCTAC	AF 422159	51
Cn 4/44	Brouat et al. 2002	AACACTAACATCGTCAAGCC; AGAACATCAAGTCCTCCTCC	AF 422160	52
Cn 8/27	Brouat et al. 2002	GCCACAAGCCTAAATACTCC; AGTATTGCTTGTGCGGTATG	AF 422162	49
Cn 3/145	Brouat et al. 2002	GTAACCAAAGTCACAATCCAA; CGTAACTTCTCAATGGTCGT	AF 422163	52
Cn 2B	Garnier et al. 2004	ACAGAACGACTAAAATGAACAC; ATAATCTACCCACAACCGAC	AY 464122	52
CVI09106C MPG	Keller und Largiader 2002	CTGGAGTCCACGTTTCAG; GAATCTAGAGACCTAGGTGCTAG	AJ 436997	52

PCR-Ansatz waren 1 μ l DNA-Lösung, 0,5 μ l dNTP-Mix (10mM), je 0,05 μ l der beiden Primer, 2,5 μ l Hotmaster-Kit Puffer (10fach konzentriert), 0,125 μ l Hotmaster-Taq_Polymerase (5 units/ μ l) aufgefüllt mit Wasser. Nach einem Denaturierungsschritt bei 92°C (5 min) wurde das eigentliche Amplifikationsprogramm, bestehend aus 30 s Denaturierung bei 92°C, 30 s Annealing bei der für die verwendeten Primer spezifischen Temperatur (Tab.) und 30 s Strangergänzung bei 72°C, 30 mal wiederholt. Abschließend wurden die Ansätze für 10 Minuten bei 72°C gehalten.

Einer der Primer eines Paares war mit dem fluoreszierenden Farbstoff cy-5 (Appendix 3) markiert, um die anschließende Mikrosatellitenlängenbestimmung mittels Kapillarelektrophorese und Laserdetektion zu ermöglichen. Zum Teil wurden verschiedene Mikrosatelliten gleichzeitig untersucht, wenn die zu erwartenden Längen deutlich verschieden waren. Dazu wurden die Produkte der entsprechenden PCR-Ansätze jeweils eines Tieres zusammenpipettiert. Jeweils 1 μ l jedes PCR-Produkts wurde in 35 μ l Probenpuffer (sample loading solution von Beckman-Coulter) aufgenommen, mit einem Tropfen Mineralöl abgedeckt und in einem automatischen Sequenzierer (Beckman-Coulter CEQ 8000) analysiert.

Statistische Analyse

Die Durchführung der populationsgenetischen Analyse ist davon abhängig, ob die Allele der verwendeten Loci, wie in einer idealen panmiktischen Population, im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht zueinander stehen. In einer solchen idealen Populationen ändern sich die mittleren Häufigkeiten der Allele der verschiedenen Gene über die Zeit nicht. Außerdem ist in einem solchen Fall auch der Anteil von heterozygoten Individuen in einer Population diploider Organismen berechenbar, wenn man die Gesamthäufigkeiten der Allele kennt.

Angenommen, man würde nur ein Gen mit zwei Allelen, und zwar A und a, betrachten. Durch genetische Untersuchungen würde man die Häufigkeiten

dieser Allele p und q in einer Stichprobe von Individuen aus der Population herausfinden. Die Gametentypen, die von Individuen dieser Population hervorgebracht würden, hätten dann ebenfalls die Häufigkeiten p beziehungsweise q . Im Fall einer idealen Population könnten alle Gameten (von Individuen unterschiedlichen Geschlechts) miteinander verschmelzen. Die Wahrscheinlichkeit für homozygote Nachkommen des Typs „AA“ wäre dann:

$$pp=p^2,$$

die für homozygote Individuen des Typs „aa“:

$$qq=q^2.$$

Heterozygote Tiere könnten den Typen „Aa“ oder „aA“ angehören, was biologisch gleich wäre, für die stochastische Berechnung aber unterschieden werden muss. Die Gesamthäufigkeit der heterozygoten Nachkommen berechnet sich daher nach:

$$pq+qp=2pq.$$

Diese Berechnungen sind für mehr als zwei Allele eines Gens entsprechend aufwendiger.

Wenn man die Allelfrequenzen eines Gens empirisch bestimmt hat, ist es also auch möglich, daraus die theoretische Häufigkeit von heterozygoten Individuen, die in einer idealen Population zu erwarten ist, zu berechnen.

Dies machen sich statistischen Testverfahren zunutze, die die Abweichung der Genotypen einer Population von der Erwartung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts einschätzen. In diesem Fall wird die erwartete (berechnete) Häufigkeit heterozygoter Individuen mit der beobachteten Häufigkeit verglichen und auf signifikante Abweichungen getestet. In der vorliegenden Untersuchung wurden diese Abweichungen von den Erwartungen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts für die einzelnen Subpopulationen und Loci nach Guo &

Thompson (1992) bestimmt. Der verwendete Markov-Reihen-Algorithmus ist im Programm ARLEQUIN 2.000 (Schneider et. al 2000) enthalten. Als Testparameter wurden 1 000 000 Schritte in der Markov-Reihe und 5 000 dememorization-Schritte gewählt.

Als Voraussetzung für die populationsgenetische Analyse muß weiterhin geprüft werden, ob die verwendeten Loci unabhängig voneinander vererbt werden (genotypic linkage equilibrium), um redundante Informationen ausschließen zu können. Die Unabhängigkeit der Loci (genotypic linkage equilibrium) wurde mit dem likelihood-ratio-test nach Slatkin & Excoffier (1996), implementiert in ARLEQUIN 2.000, berechnet. Die Testverteilung wird bei dieser Methode mit einem Permutationsverfahren ermittelt (es wurden 2000 Permutationsschritte gewählt).

Die Allelhäufigkeiten in den verschiedenen Subpopulationen wurden mit dem Programm FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 2001) bestimmt. Die beobachtete (H_O) und erwartete (H_E) Heterozygotie der Loci in den verschiedenen Subpopulationen (Hartl & Clarke 1989) wurden mit dem Programm ARLEQUIN Version 2.000 berechnet.

Als Indikatorwerte für die genetische Diversität dienten die mittlere Allelzahl sowie die beobachtete Heterozygotie H_O , kalkuliert über alle Loci. Die Anzahl der beobachteten Allele hängt auch von der Anzahl der pro Population untersuchten Tiere ab. Um die Vergleichbarkeit gewährleisten zu können, wurde die mittlere Allelzahl (mean allelic richness) in FSTAT daher mit der Methode der Rarefaction auf Grundlage der gleichen Anzahl von Tieren berechnet (El Mousadik & Petit 1996). Der Unterschied der mittleren Allelzahl zwischen den Gruppen der urbanen (URB-1...URB-6) und ruralen Subpopulationen (RUR-1...RUR-4) wurde mit der Gruppenvergleichsfunktion von FSTAT geprüft. In diesem Programm dient ein Permutationstest zur Abschätzung der Fehlerwahrscheinlichkeit des statistischen Vergleichs, wobei 1000 Permutationsschritte gewählt wurden. Um den möglichen Einfluss der Flächengröße, der Flächenisolation und der Urbanisierung auf die genetische Diversität zu ermitteln, wurde der Zusammenhang zwischen der genetischen

Diversität und den erhobenen Landschaftsparametern mit Spearman-Rangkorrelationen (StatSoft 2001) überprüft.

Die Abschätzung der genetischen Differenzierung zwischen verschiedenen Subpopulationen erfolgt in der Regel mit dem Fixierungsindex F_{ST} (Wright 1951). Der Fixierungsindex F_{ST} ist ein Maß für die Abweichung des Verhältnisses zwischen den verschiedenen Allelen innerhalb einer Subpopulationen von den Allelverhältnissen auf der nächsthöheren Populationsebene. Im Falle eines paarweisen Vergleichs wären dies die Allelverhältnisse in beiden Subpopulationen zusammen. Maximal wird er, wenn in beiden Populationen unterschiedliche Allele eines Gens fixiert sind, also homozygot vorliegen (Hartl und Clarke 1989). Da man meist nur eine Stichprobe aus den Teilpopulationen entnimmt, kann F_{ST} nicht direkt berechnet werden. Stattdessen wurde mit FSTAT der Schätzwert θ (Weir & Cockerham 1984) von F_{ST} für paarweise Vergleiche der Subpopulationen berechnet. Im folgenden werde ich immer F_{ST} schreiben, auch wenn es sich nur um den entsprechenden Schätzwert handelt.

Um die gesamte genetische Differenzierung innerhalb der urbanen Subpopulationen mit der innerhalb der ruralen Subpopulationen vergleichen zu können, wurde der Fixierungsindex F_{ST} jeweils für alle urbanen und ruralen Subpopulationen gemeinsam berechnet und verglichen. Die statistisch signifikante Abweichung von null wurde mit 1000 Permutationen der Genotypen durch einen exakten G-Test nach Goudet et al. (1996) bestimmt.

Die genetischen Distanzen zwischen den Subpopulationen, berechnet aus dem Fixierungsindex F_{ST} als $F_{ST}/(1 - F_{ST})$, lassen sich als tabellierte Matrix darstellen. Zur besseren Veranschaulichung wurden sie jedoch in einem Ordinationsdiagramm dargestellt, welches mit den Methoden der multidimensionalen Skalierung berechnet wurde. Bei dieser Methode sind die angegebenen Achsen ohne Aussagekraft, informativ sind nur die Abstände zwischen den Punkten der Subpopulationen, die für die zweidimensionale Darstellung in einem iterativen Verfahren so optimiert werden, das sie möglichst nahe an den Originalwerten der Distanzmatrix liegen. Die Güte dieser Anpassung wird durch den Streßwert indiziert, der möglichst klein sein sollte (Backhaus et al. 1990).

Die Korrelation zwischen geographischer und genetischer Distanz wurde mit einem Mantel-Test überprüft (1000 Permutationen). Der natürliche Logarithmus der topographischen Entfernung und die genetische Distanz $F_{ST} / (1 - F_{ST})$ wurden dabei in zwei Matrizes für alle Paarungen gegenüber gestellt (Rousset 1997) und die Korrelation zwischen diesen Matrizes mit dem Programm TFPGA (Miller 1997) ermittelt. Zusätzlich wurden diese Werte getrennt für die urbanen und ruralen Paarungen graphisch dargestellt.

Ein Mantel-Test wurde auch benutzt, um die Daten auf einen Zusammenhang zwischen genetischer Distanz und Anzahl der Straßen zwischen den Flächen zu testen. Als Näherungswert für die Anzahl der Straßen zwischen zwei Fragmenten wurde die Anzahl der Straßen, die eine gerade Linie zwischen den Fangorten der Käfer schneiden, benutzt. Dieser Wert wurden auf der Grundlage digitaler topographischer Karten (TOP50) im Maßstab 1:50000 ermittelt. Die Anzahl der Straßen wurde nicht logarithmiert.

Zusätzlich wurde das räumliche Muster der genetischen Differenzierung mit der Analyse räumlicher Autokorrelation (Smouse & Peakall 1999) charakterisiert. Gegenüber den Mantel-Tests hat diese Analyse den Vorteil, auch die Form der räumlichen Beziehungen wiederzugeben (Stow et al. 2001). Der Autokorrelationskoeffizient r , der ein Maß für die genetische Übereinstimmung innerhalb einer definierten geographischen Entfernungsklasse ist, wurde mit dem Programm GENALEX (Peakall & Smouse 2006) für fünf Entfernungsklassen berechnet. Der berechnete räumliche Autokorrelationskoeffizient entspricht weitestgehend Moran's I (Moran 1950) und nimmt Werte von -1 bis $+1$ an. Je größer der Wert ist, desto wahrscheinlicher ist eine Musterbildung der untersuchten Variable auf der entsprechenden räumlichen Skalenebene. Für den untersuchten Fall würde dies bedeuten, dass die genetische Konstitution einer Subpopulation die einer benachbarten Subpopulation in dem entsprechenden räumlichen Abstand beeinflussen würde. Daraus folgt, die Subpopulationen ständen im genetischen Austausch miteinander. Die signifikante Abweichung des Autokorrelationskoeffizienten von null wurde mit einem Permutationstest (999 Permutationen) nach Peakall et al. (2003) berechnet.

ERGEBNISSE

Hardy-Weinberg-Gleichgewicht und Unabhängigkeit der Loci

Die nach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht zu erwartenden Heterozygotie-Werte wurden in sechs Fällen signifikant unterschritten und in zwei Fällen signifikant überschritten. Betroffen waren die Loci 3, 4, 8 und 9. Am höchsten waren die Heterozygotie-Defizite beim Locus 3 (Tab. 4).

13 von 360 Tests auf Abhängigkeit der verschiedenen Loci (genotypic linkage equilibrium), das heißt weniger als 5%, waren signifikant. Die signifikanten Abhängigkeiten wurden aber nicht für alle Individuen sondern jeweils nur für eine Subpopulation oder in einem Fall auch zwei Subpopulationen gefunden, so dass man von einem zufälligen Ergebnis ausgehen kann, das sich durch den Fehler erster Art des statistischen Test erklären lässt. Die Vererbung der verschiedenen Mikrosatelliten-Marker erfolgt also vermutlich unabhängig voneinander.

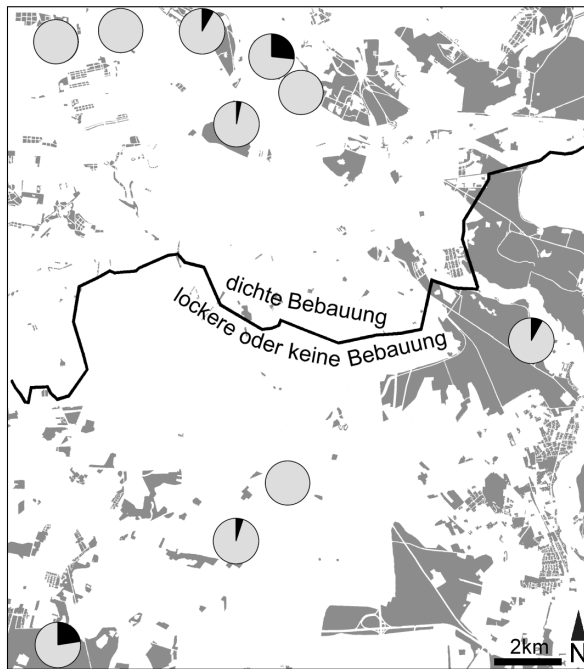
Tabelle 4. Anzahl von Allelen (N_A), beobachtete (H_O) und erwartete Heterozygotie (H_E) neun verschiedener Mikrosatelliten-Marker von *Carabus nemoralis* aus 10 verschiedenen Subpopulationen in Berlin und Umgebung. Angegeben sind auch die signifikant vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht abweichenden Fällen: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Subpop.	Proben- umfang	Locus									
		Cn 1/180	Cn 7/56	Cn 12/99	Cn 3/C AF	Cn 4/44	Cn 8/27	Cn 3/145	Cn 2B AY	CVI091 06	alle Loci
URB-1	N_A	1	1	2	2	2	2	2	2	4	18
N=30	H_O	-	-	0,067	0,069	0,433	0,567	0,133	0,533	0,367	0,241
	H_E	-	-	0,406 ***	0,101	0,381	0,494	0,158	0,501	0,532	0,286
URB-2	N_A	1	1	1	1	2	2	2	2	3	15
N=30	H_O	-	-	-	-	0,400	0,500	0,367	0,533	0,500	0,256
	H_E	-	-	-	-	0,514	0,501	0,536	0,499	0,493	0,283
URB-3	N_A	2	2	2	1	2	2	2	2	4	19
N=30	H_O	0,167	0,133	0,167	-	0,333	0,400	0,200	0,600	0,733	0,304
	H_E	0,155	0,158	0,389**	-	0,364	0,508	0,310	0,488	0,734	0,345
URB-4	N_A	2	1	1	1	2	2	2	2	4	17
N=32	H_O	0,344	-	-	-	0,406	0,531	0,375	0,375	0,500	0,281
	H_E	0,419	-	-	-	0,396	0,496	0,411	0,381	0,534	0,293
URB-5	N_A	1	1	2	1	2	2	2	4	3	18
N=27	H_O	-	-	0,333	-	0,037	0,667	0,296	0,556	0,259	0,239
	H_E	-	-	0,451	-	0,037	0,503	0,391	0,643	0,353**	0,264
URB-6	N_A	2	1	2	1	2	2	2	3	3	18
N=31	H_O	0,067	-	0,355	-	0,290	0,290	0,290	0,452	0,613	0,262
	H_E	0,098	-	0,343	-	0,328	0,405	0,280	0,548*	0,626	0,292
RUR-1	N_A	2	1	2	2	2	2	2	4	6	23
N=31	H_O	0,161	-	0,226	0,433	0,355	0,323	0,194	0,355	0,742	0,310
	H_E	0,153	-	0,284	0,508	0,323	0,413	0,182	0,411	0,685*	0,329
RUR-2	N_A	1	1	1	2	2	2	2	2	4	17
N=30	H_O	-	-	-	0,267	0,333	0,367	0,167	0,667	0,333	0,237
	H_E	-	-	-	0,505*	0,397	0,332	0,155	0,472*	0,454	0,257
RUR-3	N_A	2	1	2	2	2	2	2	2	4	19
N=32	H_O	0,100	-	0,063	0,467	0,250	0,563	0,344	0,438	0,344	0,285
	H_E	0,159	-	0,062	0,452	0,378	0,458	0,289	0,433	0,377	0,290
RUR-4	N_A	2	1	2	1	2	2	2	2	4	18
N=31	H_O	0,448	-	0,032	-	0,161	0,484	0,258	0,290	0,355	0,225
	H_E	0,381	-	0,343***	-	0,151	0,474	0,387	0,280	0,387	0,267

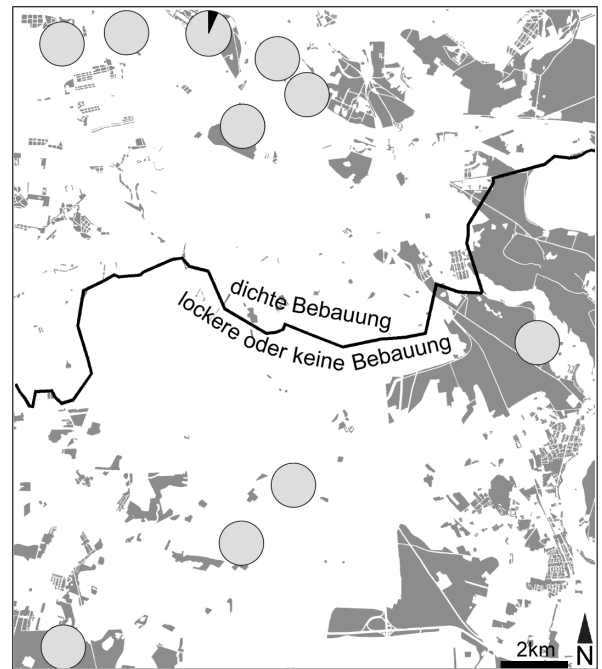
Allelhäufigkeiten

Von den untersuchten Mikrosatelliten-Loci waren sieben Loci nur mit zwei Allelen vertreten, die beiden anderen hatten vier, beziehungsweise sechs verschiedene Allele. Der Mikrosatelliten-Locus CVI09106CMPG, ursprünglich für *Carabus violaceus* entwickelt (Keller & Largiader 2002), war im Untersuchungsgebiet mit den meisten Allelen vertreten. Zwei Allele waren nur in einzelnen Populationen vorhanden (private alleles). Allel a von Cn 7/56 war nur in Subpopulation URB-3 und Allel d von Cn 2B nur in Subpopulation URB-5 vorhanden. Erwartungsgemäß traten sie dort auch nur in sehr geringer Häufigkeit auf. Die drei südlichsten der untersuchten Subpopulationen (RUR-4, RUR-3 und RUR-2), welche sich im ruralen Süden Berlins befinden, zeigten für sieben der untersuchten Loci einen deutlichen geographischen Gradienten. Folgende Allele nehmen in Richtung Südwesten in ihrer Häufigkeit zu: Allel a von Cn 1/180, Allel a von Cn 12/99, Allel b von Cn 3/C, Allel b von Cn 4/44, Allel a von Cn 8/27, Allel a von Cn 3/145 und Allel a von Cn 2B (Abb. 4). Die beiden verbleibenden Loci sind nur mit einem Allel vertreten (Cn 7/56) oder die Allelhäufigkeiten sind sehr ähnlich aber keines der Allele nimmt graduell zu (CVI09106CMPG). Der geschilderte Gradient setzt sich nicht in Richtung Nordosten mit der dort anschließenden Fläche RUR-1 fort. Allerdings ist die Abweichung der Allelfrequenzen der geschilderten Loci zwischen den benachbarten Flächen RUR-1 und RUR-2 sehr gering. Zusammen mit der südwestlich anschließenden Subpopulation RUR-3 bilden diese Subpopulationen eine genetisch sehr ähnliche Gruppe, die sich sowohl von der südlichsten Subpopulation RUR-4 als auch den urbanen Subpopulationen unterscheidet (Abb. 13).

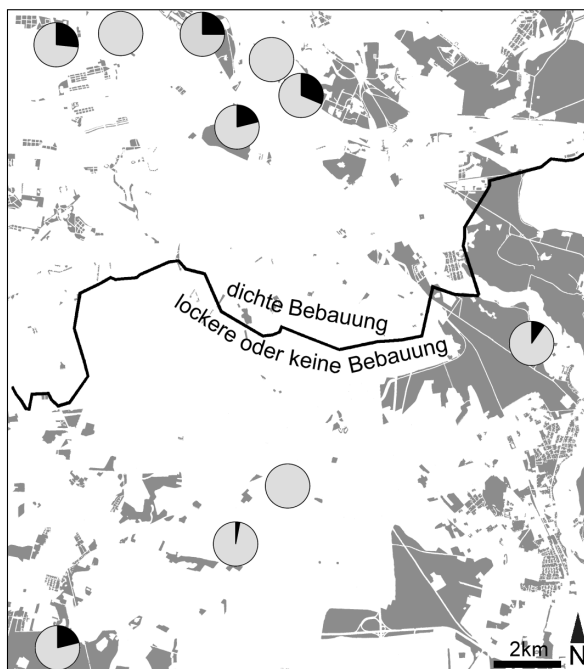
Im urbanen Bereich lässt sich kein klarer Gradient von Allelfrequenzen erkennen. Besonders stark abweichende Allelhäufigkeiten waren in den Subpopulationen URB-2 und URB-4 zu beobachten (Abb. 11).



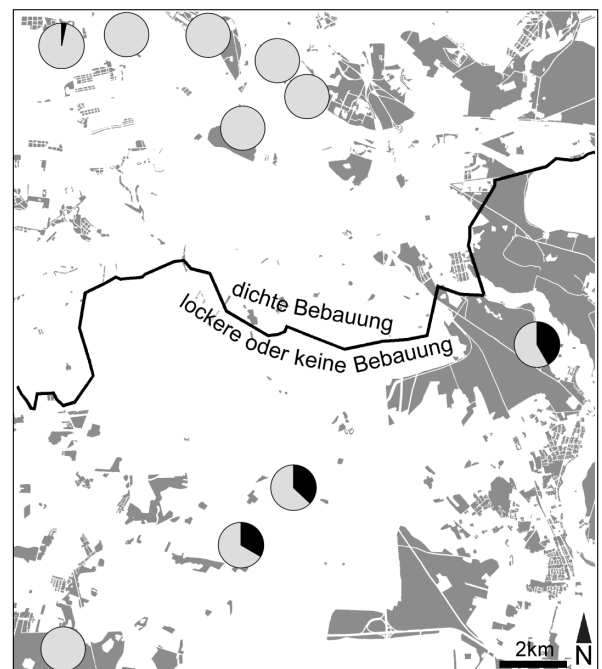
A: Locus Cn 1/180 Allel a -schwarz, Allel b – hellgrau



B: Locus Cn 7/56 Allel a -schwarz, Allel b - hellgrau

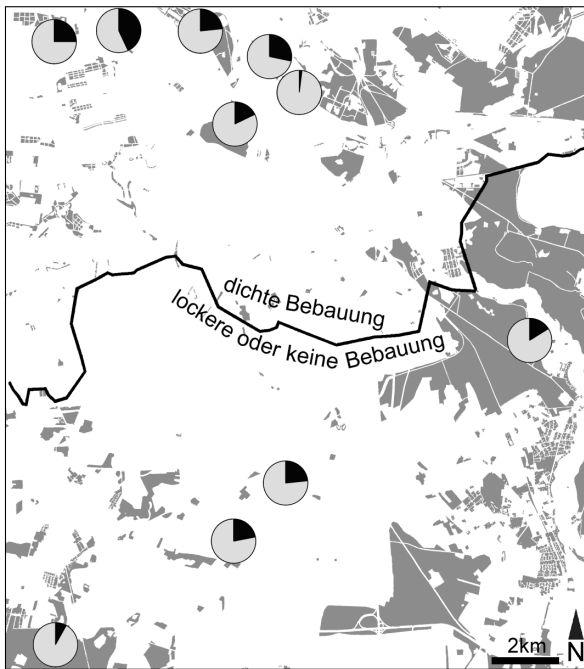


C: Locus Cn 12/99 Allel a - schwarz, Allel b - hellgrau

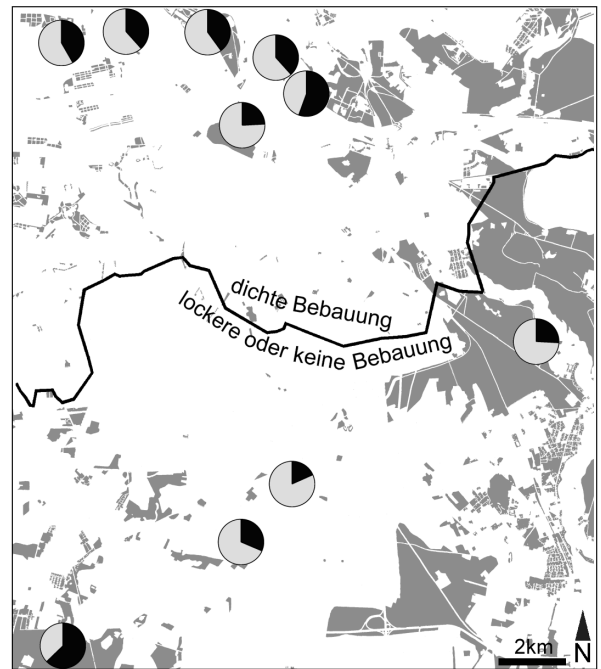


D: Locus Cn 3/C Allel a - schwarz; Allel b - hellgrau

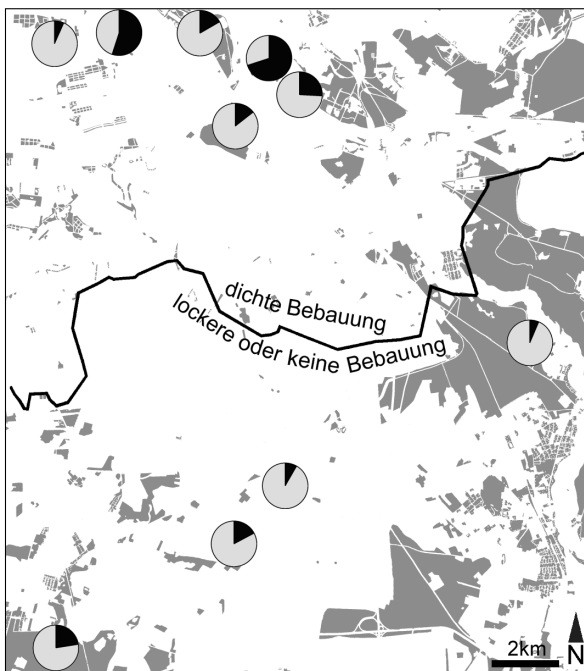
Abbildung 11. Häufigkeit der verschiedenen Allele von neun Mikrosatelliten-Loci in Stichproben aus urbanen und ruralen Subpopulationen von *Carabus nemoralis* im Südosten Berlins. Die als Hintergrund verwendete Karte zeigt bewaldete Gebiete als hellgraue Flächen.



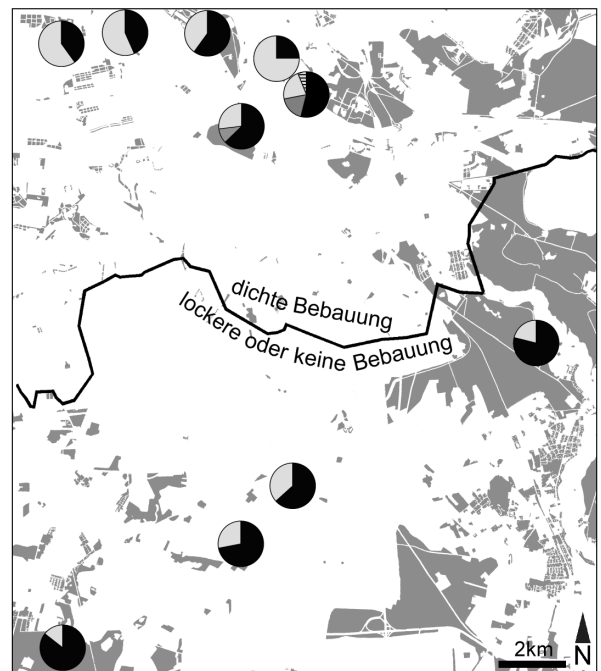
E: Locus Cn 4/44 Allel a - schwarz, Allel b - hellgrau



F: Locus Cn 8/27 Allel a - schwarz, Allel b - hellgrau

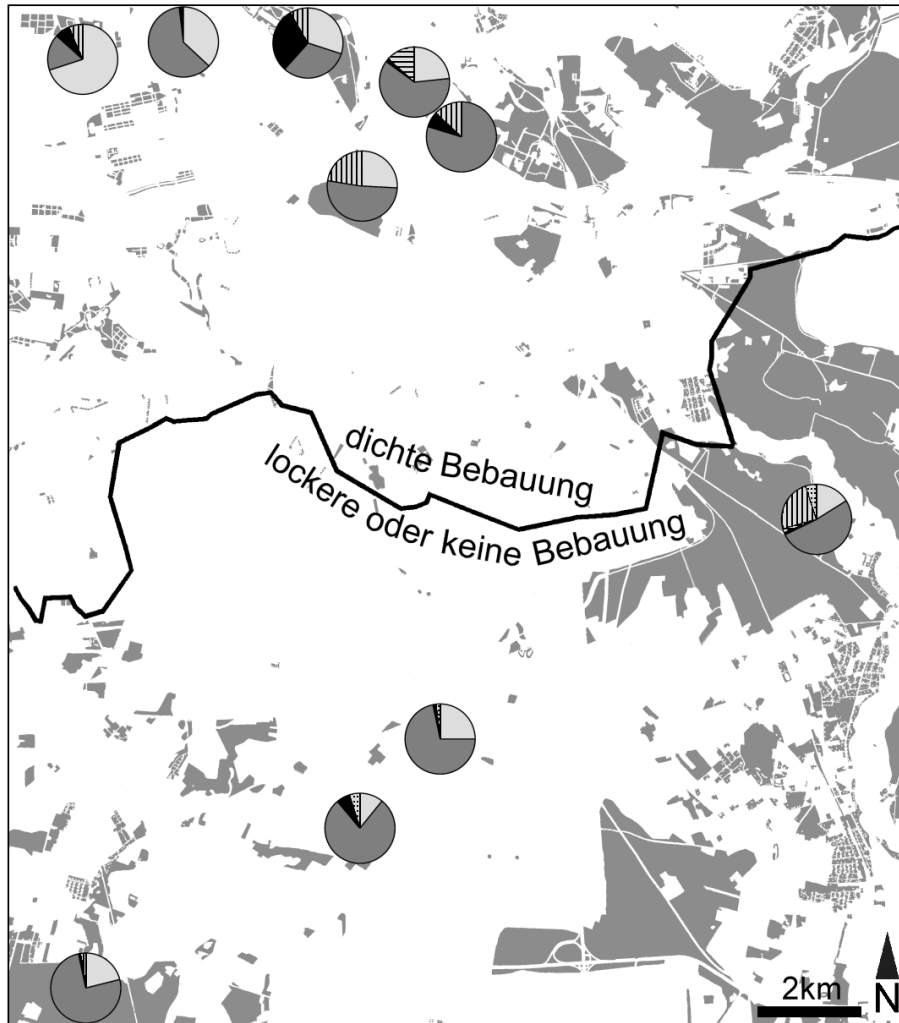


G: Locus Cn 3/145 Allel a - schwarz, Allel b - hellgrau



H: Locus Cn 2B Allel a - schwarz, Allel b - hellgrau, Allel c - dunkelgrau, Allel d - schraffiert

Abbildung 11 (Fortsetzung). Häufigkeit der verschiedenen Allele von neun Mikrosatelliten-Loci in Stichproben aus urbanen und ruralen Subpopulationen von *Carabus nemoralis* im Südosten Berlins. Die als Hintergrund verwendete Karte zeigt bewaldete Gebiete als hellgraue Flächen.



I: Locus CVI09106CMPG Allel a – schwarz, Allel b – hellgrau,
 Allel c – dunkelgrau, Allel d – horizontal schraffiert, Allel e - vertikal schraffiert,
 Allel f - punktiert

Abbildung 11 (Fortsetzung). Häufigkeit der verschiedenen Allele von neun Mikrosatelliten-Loci in Stichproben aus urbanen und ruralen Subpopulationen von *Carabus nemoralis* im Südosten Berlins. Die als Hintergrund verwendete Karte zeigt bewaldete Gebiete als hellgraue Flächen.

Genetische Diversität

Die höchste genetische Diversität war in der Stichprobe aus der größten Fläche RUR-1 vorhanden. Von der kleinsten Fläche (URB-2) stammt die Stichprobe mit der geringsten genetischen Diversität. Ein signifikanter

Zusammenhang zwischen Habitatgröße und genetischer Diversität lässt sich jedoch statistisch nicht nachweisen (Abb. 12A). Ein ähnliches Ergebnis ergab sich bei der Betrachtung der Waldbedeckung in der Umgebung der Fangorte. Auch hier deutet sich ein Zusammenhang an, der statistisch jedoch nicht signifikant ist (Abb. 12B). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen genetischer Diversität und Waldbedeckung ($R=0,70$; $p=0,036$) ergibt sich nur, wenn die Fläche RUR-4 bei dieser Analyse ausgeschlossen wird. Die abweichende Historie der Fläche RUR-4 im Vergleich zu den anderen größeren Untersuchungsflächen kann als Begründung für diesen Ausschluß dienen. Obwohl die Fläche RUR-4 nach RUR-1 die größte der untersuchten Waldflächen und die Waldbedeckung in der Umgebung der Bodenfallenstandorte dementsprechend ungefähr gleich hoch ist, ist die genetische Diversität im Vergleich zu RUR-1 gering. RUR-1 ist aber im Gegensatz zu RUR-4 in ein sehr ausgedehntes Waldgebiet eingebettet, das sich vor 220 Jahren auch noch bis in die heutige Innenstadt zog und den größten Teil der anderen untersuchten Waldflächen einschloss (Abb. 10). RUR-4 dagegen liegt schon seit Jahrhunder-

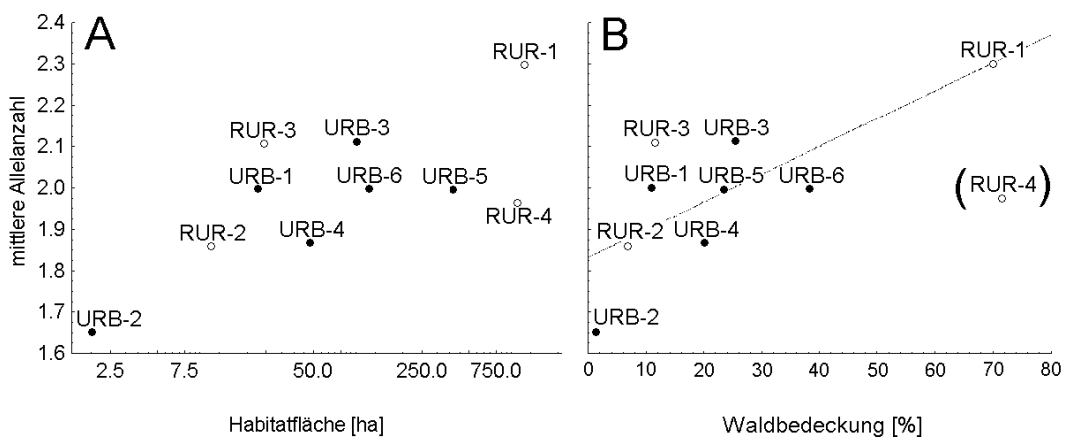


Abbildung 12. Genetische Diversität am Beispiel der mittleren Allelzahl in Abhängigkeit von der Habitatfläche (A), und der Waldbedeckung im Umkreis von 1 km um die Fallenstandorte (B) in Wäldern, die 10 Subpopulationen von *Carabus nemoralis* in Berlin und seiner Umgebung besiedeln. Volle Kreise stellen urbane Standorte und hohle Kreise rurale Standorte dar. Die in der Abbildung B eingezeichnete Anpassungsgerade verdeutlicht die signifikante Korrelation zwischen mittlerer Allelzahl und Waldbedeckung, wenn der Standort RUR-4 aus der Analyse ausgeschlossen wird.

Tabelle 5. Spearmans Rangkorrelationskoeffizient (R) sowie die statistische Irrtumswahrscheinlichkeit für Fehler 1. Art (p) für den Zusammenhang zwischen den Indikatoren der genetischen Diversität, mittlere Allelzahl und beobachtete Heterozygotie, und verschiedenen Landschaftsparametern für Subpopulationen der Laufkäferart *Carabus nemoralis* in Berlin. Werte von p, die das Signifikanzniveau von $\alpha=5\%$ unterschreiten sind mit fester Schrift ausgezeichnet.

Landschaftsparameter	Genetische Diversität	
	Mittlere Allelzahl	Beobachtete Heterozygotie (H_0)
Flächengröße	R=0,53 p=0,117	R=0,41 p=0,229
Waldbedeckung im Umkreis von 1 km	R=0,50 p=0,138	R=0,54 p=0,108
Dichte Blockbebauung im Umkreis von 1 km	R=-0,82 p=0,023	R=-0,86 p=0,014

ten weitestgehend isoliert in einer vorwiegend landwirtschaftlich genutzten Umgebung und nimmt damit eine Sonderrolle ein.

Zwischen dem Anteil an dichter Blockbebauung in der Umgebung der Fangorte als Indikator für die Urbanisierung der Standorte und der genetischen Diversität besteht ein statistisch signifikanter Zusammenhang (Tab. 5).

Nach Zusammenfassung jeweils der ruralen und der urbanen Subpopulationen war die mittlere Allelanzahl im ruralen Bereich (2,06) nicht signifikant größer als im urbanen Bereich (1,94; Permutationstest $p=0,33$).

Genetische Differenzierung der Subpopulationen

Bis auf die ruralen Standorte RUR-2 und RUR-3, deren paarweiser Fixierungsindex F_{ST} nicht signifikant von null abwich, waren alle anderen paarweisen Fixierungsindices signifikant größer als null. Die Werte reichten von 0,03 bis 0,26 (Tab. 6).

Die urbanen Subpopulationen URB-6 und URB-3 haben eine ähnlich geringe genetische Distanz wie die ruralen Subpopulationen RUR-1, RUR-2 und RUR-3. Von den übrigen ruralen Subpopulationen ist die Subpopulation der großen Fläche RUR-4 am meisten differenziert. Bis auf die bereits erwähnten Subpopulationen URB-6 und URB-3 sind die genetischen Distanzen zwischen den urbanen Subpopulationen relativ groß. Obwohl die Flächen URB-5 und URB-4 topographisch eng beieinander liegen, sind sie die dort lebenden Subpopulationen genetisch sehr verschieden (Abb. 13).

Die geringste genetische Distanz zu den ruralen Subpopulationen haben die urbanen Subpopulationen URB-3, URB-5 und URB-6. Diese stammen von den drei größten der untersuchten urbanen Flächen. In dieser Teilgruppe ist die Fläche URB-5 genetisch besonders eng mit der topographisch weit entfernt liegenden Fläche RUR-4 assoziiert.

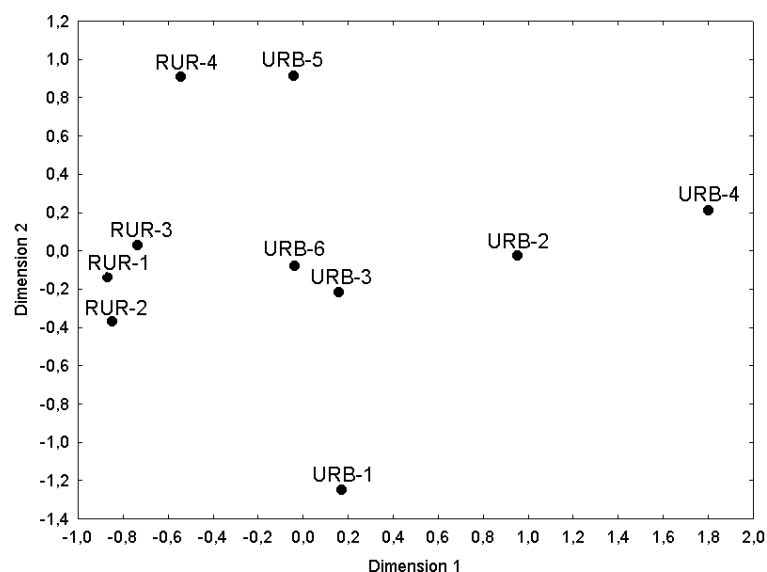


Abbildung 13. Ordinationsplot verschiedener Subpopulationen von *Carabus nemoralis* in Berlin und Umgebung auf der Grundlage genetischer Distanzen (Multidimensionale Skalierung; Streß=0,09).

Dieses Ergebnis resultiert aus der ungefähren Übereinstimmung der Allelfrequenzen der acht dimorphen Loci Cn 7/56, Cn 3/C, Cn 12/99, Cn 4/44, Cn 8/27 und Cn3/145. Von diesen sind die ersten beiden fast in allen Subpopulationen monomorph und die Verteilung der Allelfrequenzen der übrigen Loci ist sehr heterogen im Stadttinneren. Gegen die Schlussfolgerung, dass es sich bei URB-5 und RUR-4 tatsächlich um genetisch sehr ähnliche Standorte handelt, spricht folgende Feststellung: Bei den beiden polymorphen Loci Cn 2B und Loci CVI09106 CMPG wurden kaum Übereinstimmungen ermittelt wurden, es fehlten sogar einige Allele komplett, die in der jeweils anderen Subpopulation vorhanden waren. Dies war bei genetisch ähnlichen Populationen, die auch topographisch nahe beieinander lagen, nicht der Fall (Abb. 11 H, I).

Die genetische Distanz zwischen den urbanen Populationen ist tendenziell höher als zwischen den ruralen Populationen, obwohl die topographischen Distanzen oft kleiner sind (Abb. 14). Statistisch war die genetische Differenzierung zwischen den urbanen Subpopulationen ($F_{ST}=0,136$) jedoch nicht signifikant größer als die zwischen den ruralen Subpopulationen ($F_{ST}=0,083$; $p=0,36$).

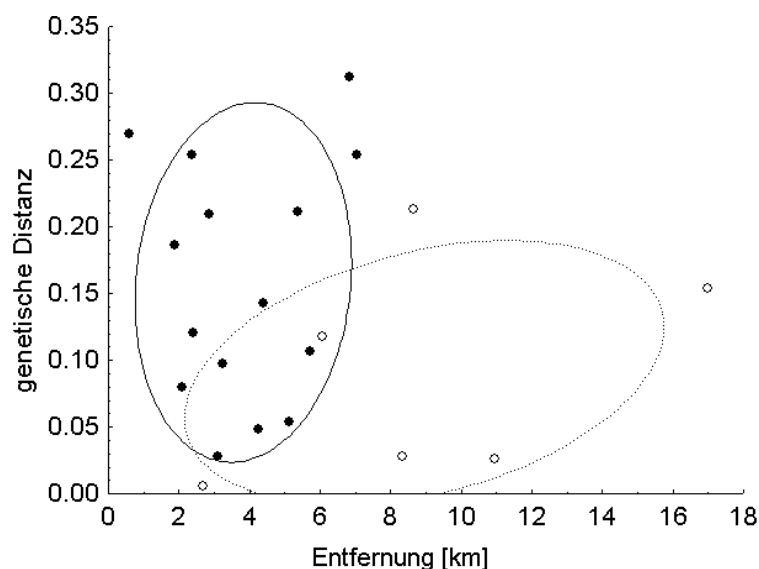


Abbildung 14. Genetische Distanz, ausgedrückt als $F_{ST} / (1 - F_{ST})$, jeweils zwischen Paaren von urbanen (Vollkreise) und ruralen (Hohlkreise) Subpopulationen von *Carabus nemoralis* in Abhängigkeit von der topographischen Entfernung. Die eingezeichneten Ellipsen umfassen 95% der Spannweite der dargestellten Werte.

Zwischen genetischer und topographischer Distanz gab es keinen statistisch signifikanten Zusammenhang (Mantel-Test; $p=0,242$). Dagegen nahm die genetische Distanz mit der Anzahl von Straßen zwischen den Subpopulationen zu (Mantel-Test; $r=0,33$; $p=0,021$).

Die Allelhäufigkeiten in Subpopulationen, die bis zu 8 km voneinander entfernt sind, weisen eine signifikante räumliche Autokorrelation auf (Klasse 0-4 km: $r=0,074$, $p<0,05$; Klasse >4-8 km: $r=0,024$, $p<0,05$; Abb. 15).

Bei größerer Entfernung der Subpopulationen sind die Allelhäufigkeiten nicht mehr miteinander korreliert.

Tabelle 6. Paarweiser Fixierungsindex F_{ST} zwischen Subpopulationen von *Carabus nemoralis* in Berlin und Umgebung unter der Diagonale. Über der Diagonale stehen die Resultate des G-test für paarweise Differenzierung, ** statistisch signifikant verschieden von null mit einer α -Fehlerwahrscheinlichkeit $<0,01$.

	URB-1	URB-2	URB-3	URB-4	URB-5	URB-6	RUR-1	RUR-2	RUR-3	RUR-4
URB-1		**	**	**	**	**	**	**	**	**
URB-2	0.1567		**	**	**	**	**	**	**	**
URB-3	0.0461	0.1073		**	**	**	**	**	**	**
URB-4	0.2378	0.051	0.1734		**	**	**	**	**	**
URB-5	0.2027	0.1747	0.0890	0.2126		**	**	**	**	**
URB-6	0.0961	0.1251	0.0276	0.2025	0.0738		**	**	**	**
RUR-1	0.1606	0.1935	0.0891	0.2624	0.1388	0.0582		**	**	**
RUR-2	0.1786	0.1592	0.1159	0.2425	0.1743	0.0804	0.027		0.078	**
RUR-3	0.1959	0.1391	0.1002	0.2128	0.113	0.0737	0.0253	0.0052		**
RUR-4	0.2059	0.1846	0.0967	0.2401	0.052	0.0974	0.1336	0.1759	0.1055	

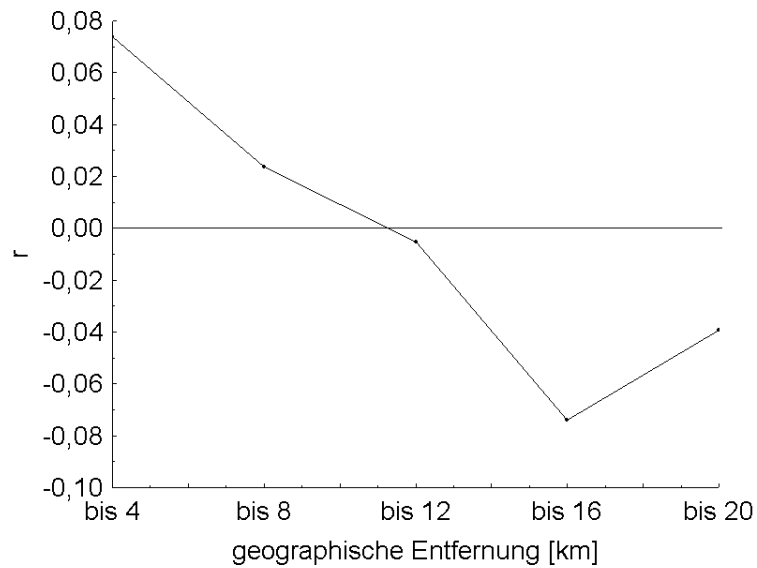


Abbildung 15. Räumliche Autokorrelation r des Genpools aller untersuchten Subpopulationen von *Carabus nemoralis* in und um Berlin nach geographischen Distanzklassen geordnet.

DISKUSSION

Hardy-Weinberg-Gleichgewicht und Unabhängigkeit der Loci

Die beobachteten Abweichungen der Allelverhältnisse vom Idealmodell einer panmiktischen Population im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht innerhalb der einzelnen Subpopulationen können mehrere Ursachen haben. Eine mögliche Erklärung für Heterozygotiedefizite ist die Beprobung nahe verwandter Individuen in einer Population. Dies könnte als Folge niedriger Populationsdichten in schlecht geeigneten Habitaten der Fall sein (Inzuchteffekt: Brouat et al. 2003). Eine weitere Erklärung könnte die Vermischung verschiedener Genpools (Wahlund-Effekt) sein. Zum Beispiel könnten Individuen, die zu weit auseinanderliegenden Zeitpunkten gefangen wurden, zu genetisch unterschiedlichen Kohorten gehören. Werden diese derselben Population zugeordnet, könnte ein scheinbares Hardy-Weinberg-

Ungleichgewicht die Folge sein (Brouat et al. 2003). Kurzzeitige Heterozygotie-Überschüsse in einzelnen Subpopulationen können hingegen auftreten, wenn diese Subpopulationen, die homozygot sind für verschiedene Allele, sich gerade vermischen. Die geschilderten Effekte sollten sich gleichmäßig auf alle untersuchten Loci auswirken. Da bei keiner der Subpopulationen eine Häufung der Heterozygotie-Abweichungen beobachtet wurde, wurde von einem zufälligen Abweichen ausgegangen und die betroffenen Loci in der Analyse belassen.

Alle Loci wurden offenbar unabhängig voneinander vererbt und standen damit für die Analyse der Populationsstruktur voll zur Verfügung.

Genetische Diversität

Der genetische Pool einer Art in ihren verschiedenen Populationen kann durch die folgenden Mechanismen verändert werden: Mutation, Selektion, genetische Drift und Migration. Die Mutationsrate von Mikrosatelliten wird im allgemeinen als vergleichsweise hoch eingeschätzt, daher sind sie auch besonders für die Untersuchung kleinskaliger Populationsdifferenzierungsprozesse geeignet (Balloux und Lugon-Moulin 2002). Im zeitlich-räumlichen Rahmen des hier untersuchten Falls scheint die Mutationsrate aber eher geringen Einfluss auf die Veränderung der genetischen Pools zu nehmen, sonst würde man mehr verschiedene Allele der einzelnen Loci erwarten.

Die DNA-Abschnitte der Mikrosatelliten codieren in der Regel keine phänotypisch ausgeprägten Merkmale und sind nicht mit Genen gekoppelt, die phänotypisch wirksam werden. Das bedeutet, dass Mikrosatelliten im Gegensatz zu Allozymen keinen Selektionsprozessen unterliegen (Parker et al. 1998).

Als bedeutsamste Faktoren, welche die Muster der untersuchten Mikrosatelliten-Marker beeinflussen, bleiben demnach im betrachteten Fall genetische Drift und Migration.

Durch die genetische Drift verändern sich zum einen die Allelfrequenzen von Genen in voneinander getrennten Subpopulationen, zum anderen verringert sich

durch diesen Prozess die genetische Diversität einer Subpopulation, da seltenere Allele durch Zufall häufiger aus dem Genpool herausfallen. Je kleiner eine isolierte Subpopulation ist, desto größer ist der Einfluss der genetischen Drift. Kleine Subpopulationen zeichnen sich also theoretisch durch eine geringe genetische Diversität aus, und die Allelfrequenzen können stark von denen benachbarter Subpopulationen abweichen.

Im Berliner Untersuchungsgebiet ließ sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Habitatgröße und der genetischen Diversität der dort lebenden Subpopulationen von *Carabus nemoralis* belegen. Allerdings lässt die grafische Darstellung etwas anderes vermuten, und die fehlende statistische Signifikanz ist möglicherweise lediglich auf eine zu geringe Stichprobenanzahl zurückzuführen. Aus biologischer Sicht gibt es aber auch Gründe, die einen fehlenden Zusammenhang erklären könnten. Zum einen ist die Habitatgröße nicht der einzige Faktor, der die Populationsgröße beeinflusst, sondern die Habitatqualität und biotische Faktoren wie Fraßdruck können dazu führen, dass auch in großen Flächen nur kleine Populationen vorhanden sind und umgekehrt. Zum anderen vermuten Hebert et al. (2000), dass sich, besonders wenn die Populationsgrößen stark schwanken, ein stabiles Gleichgewicht zwischen Mutation und genetischer Drift kaum ausbilden kann und damit auch die genetische Diversität unabhängig von der Populationsgröße schwankt. Dazu kommt, dass auch benachbarte Teilpopulationen durch Individuenaustausch Einfluss auf die genetische Diversität nehmen können. Dieser Einfluss schwankt in Abhängigkeit von der Größe dieser Nachbarpopulationen und der Distanz zu diesen.

Wenn die Waldbedeckung in der Umgebung der beprobten Subpopulationen geringer wurde und damit die Distanz zu anderen Subpopulationen größer, war auch die genetische Vielfalt der betreffenden Subpopulation kleiner. Dieser Zusammenhang ließ sich statistisch aber nur bestätigen, wenn die Fläche RUR-4 aus der Analyse ausgeschlossen wurde. RUR-4 ist fast so groß wie die Fläche RUR-1, hat aber eine deutlich geringere genetische Vielfalt. Es gibt einen entscheidenden Unterschied zwischen diesen beiden heute sehr ähnlichen Waldfragmenten. RUR-1 war bis vor 150 Jahren noch in ein sehr viel größeres

Waldgebiet eingeschlossen, das sich bis ins heutige Stadtinnere von Berlin erstreckte. RUR-4 dagegen ist in der heutigen Größe schon seit mindestens 250 Jahren in einer landwirtschaftlich genutzten Umgebung isoliert. Die genetische Drift und der daraus resultierende Verlust genetischer Diversität war in RUR-4 damit vermutlich deutlich größer und erklärt die heute zu beobachtende Inhomogenität der genetischen Diversität.

Zur genetischen Isolation zwischen den urbanen Subpopulationen durch eine Einschränkung des Individuenaustausch trägt neben der Entfernung auch die Intensität der urbanen Bebauung bei. Je intensiver die Umgebung der untersuchten Flächen bebaut war, um so geringer war die genetische Diversität in den Subpopulationen dieser Flächen. Dieser Effekt der Urbanisierung, welcher den stärksten Zusammenhang mit der genetischen Diversität aufwies, ist aber möglicherweise nicht nur auf die erhöhte Isolation durch die urbane Bebauung, sondern auch auf die Verkleinerung der Populationen durch ungünstigere Habitatbedingungen im Zuge der Urbanisierung (Kapitel 2) zurückzuführen. Diese könnten zum Beispiel durch eine erhöhte Umweltbelastung oder stärkere anthropogene Nutzung in den urbanen Wäldern verursacht werden. Mit der Verkleinerung der Populationen kommen dann wieder die negativen Effekte der verstärkten genetischen Drift zum tragen.

Auf den ersten Blick gegenteilige Untersuchungsergebnisse lieferte Steiniger (1979) und Desender et al. (2005). Diese Autoren beobachteten für verschiedene Laufkäferarten eine Zunahme der genetischen Diversität in urbanen und stark gestörten Subpopulationen im Vergleich zu Subpopulationen des ruralen Umlandes. Im Unterschied zu den in der vorliegenden Arbeit dargestellten Ergebnissen aus der Untersuchung von Mikrosatelliten stammen die Ergebnisse der genannten Autoren aus Untersuchungen von Allozymen. Diese sind im Gegensatz zu Mikrosatelliten aber häufig nicht selektionsneutral (Lemaire et al. 2000, Dhuyvetter et al. 2004) und unterliegen damit auch dem Einfluß von Umweltfaktoren, die nicht direkt mit der Habitatfragmentierung zusammenhängen, zum Beispiel anthropogenen Störungen und Immissionen. Steiniger (1979) und Desender et al. (2005) deuten ihre Ergebnisse dementsprechend auch als Anpassungen der urbanen Subpopulationen an ihre

häufig gestörte und damit sehr variable Umwelt. Die höhere Allozym-Vielfalt bietet den urbanen Subpopulationen in dieser Situation vermutlich einen Selektionsvorteil. Experimentelle Nachweise für den Vorteil von einem erhöhten Polymorphismus in einer variablen Umwelt erbrachte schon Powell (1971). Als Fazit dieser Betrachtung bleibt zu bemerken, dass Mikrosatelliten besser als Allozyme geeignet sind, den Einfluß der Habitatfragmentierung auf die Populationsstruktur einer Art, getrennt von anderen Umwelteinflüssen, einzuschätzen.

Über das gesamte untersuchte Gebiet betrachtet, war die genetische Diversität von *Carabus nemoralis* vergleichsweise gering. Diese geringe genetische Diversität könnte in der postpleistozänen Wiederbesiedlungsgeschichte des Untersuchungsgebietes begründet sein. Für die Landassel *Porcellio scaber* sowie den Collembolen *Orchesella cincta* wurde eine geringe genetische Differenzierung im nördlichen Mitteleuropa beobachtet und als Folge der kurzen Zeit (5000-10000 Jahre) der postpleistozänen Wiederbesiedlung gedeutet (Van der Wurff et al. 2005; Wang & Schreiber 1999). Andererseits war die postglaziale Wiederbesiedlung bei verschiedenen Pflanzen und Tieren mit einer Verringerung der genetischen Vielfalt verbunden (Assmann et al. 1994, Hewitt 1999). Zum gleichen Schluß kommt man bei dem Vergleich der in diesem Beitrag beschriebenen genetischen Diversität von *C. nemoralis* in Berlin und Umgebung mit den Daten von Brouat et al. (2003) von derselben Art aus Südfrankreich. Von den sieben Mikrosatellitenmarkern, die in beiden Untersuchungen verwendet wurden, waren alle Marker in Berlin nur mit zwei verschiedenen Allelen vertreten, während in der südfranzösischen Population 4-12 Allele eines Mikrosatellitenmarkers schon in einzelnen Proben von weniger als 30 Tieren beobachtet wurden. Als Ursachen für diesen starken Verlust an genetischer Diversität kommen die starke genetische Drift in den zunächst kleinen Wiederbesiedlerpopulationen („Flaschenhals-Effekt“) und Gründer-effekte (Nei et al. 1975), die bei der Wiederbesiedlung der vom Eis befreiten Gebiete des norddeutschen Tieflandes nach der Eiszeit auftraten, in Frage. Die südfranzösischen Populationen befinden sich in der Nähe der pleistozänen

Rückzugsgebiete (De Lattin 1967, Taberlet et al. 1998) oder waren sogar Teil davon und waren daher kaum von diesen Effekten betroffen.

Im Umland von Bremen, einem Gebiet in Nordwestdeutschland, das im Gegensatz zum Berliner Gebiet während der letzten Kaltzeit (Weichsel-Kaltzeit: Ende vor ca. 10 000 - 20 000 Jahren) nicht von Gletschern bedeckt war, wurde die Allozymvariabilität verschiedener *Carabus*-Arten analysiert (Mossakowski et al. 1995). *C. nemoralis* gehörte in diesem Gebiet zu den Arten mit einer vergleichsweise großen Variabilität. Mossakowski et al. (1995) vermuteten, dass die Art nahe der Eiskante überdauern konnte und daher keine Variabilität seit der letzten Einwanderungswelle nach der Saale-Kaltzeit eingebüßt hat. Deren Gletscher bedeckten das von Mossakowski et al. (1995) untersuchte Gebiet ca. 100 000 Jahre vorher (Walter 1992). Es gelten aber auch hier die bereits weiter oben erwähnten Einschränkungen für Untersuchungsergebnisse von Allozymen, die als funktionelle Enzyme auch der Selektion unterliegen können (Steiniger 1979) und dann nicht nur die Populationsgeschichte einer Art widerspiegeln. Eine vergleichende Untersuchung mit selektionsneutralen Mikrosatelliten könnte hier vielleicht Klarheit schaffen.

Genetische Differenzierung der Subpopulationen

Der Austausch von Individuen durch Migration und damit die genetische Angleichung der Genpools in benachbarten Habitatfragmenten hängt theoretisch von der geographischen Distanz der Subpopulationen aber auch von der Qualität der Landschaft zwischen den Fragmenten (Matrixhabitat) ab. Von dieser Qualität hängt die Durchwanderbarkeit der Matrix und die Überlebensrate der wandernden Individuen ab. In der Autokorrelationsanalyse deutet sich ein schwacher Einfluß zwischen Genpools von Subpopulationen an, die nicht mehr als 8 km voneinander entfernt sind. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass ein Individuenaustausch zwischen Subpopulationen in diesem Entfernungsbereich noch in geringem Maß erfolgt. Bei Entfernungen

darüber hinaus ist der Individuenaustausch offenbar zu gering, um eine räumliche Autokorrelation zu bedingen. Diese Deutung wird auch durch das Fehlen eines generellen statistischen Zusammenhangs zwischen geographischer Entfernung und genetischer Distanz unterstützt.

Auf einer kleinräumigen Skalenebene, wie im hier untersuchten Beispiel, scheint es bei Insekten keinen unmittelbaren Zusammenhang zwischen genetischer Distanz und geographischer Distanz zu geben (Peterson 1995, Van Dongen et al. 1998, Knutsen et al. 2000, Wood & Pullin 2002, Brouat et al. 2003, Desender et al. 2005). Genetische Isolation durch die geographische Distanz wird offenbar erst auf einer größeren Skalenebene (Peterson 1996, Entfernungen bis zu 400 km) oder bei einer sehr stark zergliederten Landschaft wie in Gebirgen (Garnier et al. 2004, Alpentäler in Südfrankreich) nachweisbar.

Für die kleinräumige Isolation sind die Ausbreitungshindernisse zwischen den Subpopulationen entscheidender als die topographische Distanz. So fanden Brouat et al. (2003) heraus, dass die genetische Distanz zwischen Subpopulationen von *Carabus nemoralis* von der Strecke abhängt, die die Tiere durch offene, als Lebensraum schlechter geeigneter Landschaftsteile, wie Äcker oder Wiesen, zurücklegen mussten. Ähnliche Ergebnisse sind auch von anderen Waldarthropoden bekannt (Knutsen et al. 2000). Der genetische Austausch zwischen *Abax parallelepipedus*-Subpopulationen hängt von der Anzahl von trennenden Straßen ab (Keller et al. 2004), so wie es in der vorliegenden Arbeit auch für *Carabus nemoralis* glaubhaft gemacht werden konnte. Straßen sind aus Mobilitätsuntersuchungen als effektive Ausbreitungshindernisse für Laufkäfer, besonders für Waldarten, bekannt (Mader 1979, Koivula & Vermeulen 2005). Ein weiterer Beleg für die effektive Populationstrennung durch Straßen war die ungewöhnlich große genetische Distanz zwischen den Subpopulationen der benachbarten Flächen URB-4 und URB-5. Die einzige Barriere ist eine zwischen den Flächen liegende Straße, die sehr breit ist und auch noch mit einer Straßenbahntrasse mit Schotterbett ausgestattet ist.

Allerdings sind auch die Flächen URB-3 und URB-6 durch eine breit ausgebaute Straße getrennt - die genetische Distanz ist jedoch gering. Folgender Unterschied besteht jedoch im Vergleich zur Situation der Flächen URB-4 und

URB-5. Ein schmaler Schifffahrtskanal mit begrünten Ufern verbindet diese beide Flächen dort, wo auch die topographische Entfernung am geringsten ist, und einen Durchgang unter der erwähnten Straße in Form einer Brücke könnte einen Individuenaustausch und damit eine Angleichung der Genpools begünstigt haben. Die Ufer des schmalen Kanals werden im Bereich der beiden Flächen durch vier Brücken verbunden, unter anderem eine Gleisbrücke mit unversiegeltem Gleisbett, die den Übergang über den Kanal ermöglicht haben könnten.

Im bebauten Stadtgebiet ist der isolierende Einfluss der Straßen kaum von dem der dichten Gebäudebebauung zu trennen, die ebenfalls als Hindernis zu zählen ist. Dieser Unterschied wurde nicht quantifiziert, aber wenn die genetische Differenzierung der urbanen Subpopulationen in dem dicht bebauten Bereich mit der von ruralen Subpopulationen im locker oder nicht bebauten Bereich verglichen wird, so deutet sich eine höhere Differenzierung der urbanen Subpopulationen an. Der Unterschied der Allelfrequenzen im Vergleich aller zusammengefassten urbanen und aller ruralen Subpopulationen war jedoch nicht so groß, dass er statistisch belegbar wäre.

Brouat et al. (2003) fanden eine deutliche genetische Differenzierung zwischen Subpopulationen von *Carabus nemoralis* ab einer Distanz von 1 km und für *Carabus punctatoauratus* ab 2 km innerhalb geschlossener Wälder im Süden Frankreichs. Erwartungsgemäß war die genetische Differenzierung aber vergleichsweise gering (paarweiser F_{ST} : 0,0001-0,032) im Vergleich zu einer Untersuchung an *Carabus solieri* (Garnier et al. 2004) im Bereich der räumlich viel heterogeneren Alpen, die für einen vergleichbaren Ausschnitt ihres Untersuchungsgebiets von 15 km Ausdehnung einen paarweisen Fixierungsindex F_{ST} von 0,07-0,28 für die Unterart *C. s. solieri* angeben. Im Berliner Untersuchungsgebiet war die genetische Differenzierung der Subpopulationen von *Carabus nemoralis* größer als in Südfrankreich (paarweiser F_{ST} : 0,01-0,26). Folgende methodische Einschränkung relativiert diese Unterschiede aber wenigstens zum Teil. Wenn Mikrosatelliten eine sehr hohe Mutationsrate haben und mit sehr vielen Allelen auftreten, wird die Berechnung der Fixationsindices (F-Statistik; Weir & Cockerham 1984) davon stark beeinflusst, und die

genetische Differenzierung der untersuchten Subpopulationen wird unterschätzt (Balloux et al. 2000). Dies könnte einer der Gründe für den großen Unterschied der genetischen Distanzen in der südfranzösischen Population (Brouat et al. 2003) im Vergleich mit den genetischen Distanzen in der Berliner Population sein. Die größere Vielfalt von Mikrosatellitenallelen in der südfranzösischen Population könnte dazu geführt haben, dass die genetische Distanz zwischen den einzelnen Subpopulationen mit den Methoden der F-Statistik möglicherweise unterschätzt wurde.

Historische Einflüsse

Neben der aktuellen Landschaftsstruktur muß man auch die historische Entwicklung der Landschaft betrachten, um die heutige populationsgenetische Situation deuten zu können. An einem Beispiel wurde das in dieser Untersuchung besonders deutlich: Im ruralen Bereich südlich von Berlin existiert bei den meisten untersuchten Loci ein Allelgradient, das heißt ein Allel wird entlang des Gradienten kontinuierlich häufiger, während andere seltener werden. Eine ähnliche Situation ist für einen Allozymlocus von *Carabus auronitens* in der Nähe von Münster bekannt (Terlutter 1990). Für diesen Gradienten wurde folgende Entstehung vermutet: Die Landschaft um Münster war durch intensive Waldnutzung sehr waldarm geworden. An den Enden des heutigen Gengradientens blieben jedoch Restpopulationen erhalten, in denen sich aber nur jeweils eines der beiden Allele erhalten konnte. Nach 1800 entstanden aber auch neue Waldflächen zwischen den Gradientenenden und von beiden Enden breiteten sich die Käfer wieder aus. Die Vermischung der beiden Genpools erfolgte aber, limitiert durch die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Käfer, nur allmählich, so dass zunächst ein Gradient erhalten blieb.

Der Gradient im Berliner Süden könnte ähnlich entstanden sein. Die Wälder an den Enden des Gradienten (RUR-1 und RUR-4) existieren schon seit dem Beginn der historischen Aufzeichnungen für dieses Gebiet (mindestens 250

Jahre). Dagegen sind die dazwischen liegenden Fragmente RUR-2 und RUR-3 erst um 1800 wieder aufgeforstet worden und könnten dann von beiden Seiten besiedelt worden sein. Andere historische Wälder die als Quellen für die Wiederbesiedlung in Frage kämen, sind deutlich weiter entfernt, als es RUR-1 und RUR-4 sind. Die großen Subpopulationen in den Waldfragmenten an den Enden dieses Gradienten beeinflussten die Genpools in den neu entstandenen Subpopulationen je nach Entfernung zu diesen. Als Folge dessen sind die Allelfrequenzen in den neuen Subpopulationen intermediär zwischen denen der großen Randsubpopulationen in RUR-1 und RUR-4. Über die neu entstandenen Subpopulationen erfolgt letztlich auch ein indirekter Genaustausch zwischen den großen Subpopulationen am Gradientenende, der in der Zukunft theoretisch auch zum Verlust des Gradienten führen kann.

Ein weiteres Beispiel für historische Einflüsse ist möglicherweise im Bereich der Wuhlheide (URB-4 und URB-5) zu sehen. Die außergewöhnlich großen Unterschiede zwischen den Subpopulationen dieser beiden eigentlich nahe beieinander liegenden Flächen konnten sich wahrscheinlich nur durch die Devastierung der Wuhlheide im Zweiten Weltkrieg ausprägen. Während dieser Zeit ist die lokale Population von *C. nemoralis* vermutlich weitgehend zusammengebrochen und nur wenige Individuen haben nach der Wiederbewaldung den genetischen Grundstock für das Anwachsen neuer Subpopulationen gebildet. Dieser „Flaschenhals“ veränderte die Allelverhältnisse stark, und da gleichzeitig im Rahmen des Wiederaufbaus der Stadt die Straße zwischen den beiden Subpopulationen URB-4 und URB-5 ausgebaut wurde, blieben die Subpopulationen isoliert voneinander und durchliefen unterschiedliche Entwicklungen. Die große Ähnlichkeit der Allelhäufigkeiten zwischen URB-5 und der weit entfernten, ruralen Subpopulation RUR-4 dagegen ist kaum anders als durch zufällige Parallelentwicklung einiger Loci in diesen Subpopulationen zu erklären, sonst würden nicht einige Allele, die in URB-5 vorkommen, in RUR-4 völlig fehlen. Fiktive Szenarien wie dieses liefern mögliche Erklärungsmodelle für die heutigen populationsgenetischen Muster und verdeutlichen, welchen großen Einfluss historischen Besonderheiten darauf haben können.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der genetische Austausch zwischen den Subpopulationen der urbanen Habitatfragmente und zum ruralen Umland hin wahrscheinlich nur gering ist. Die Genpools lassen unabhängige Entwicklungen erkennen, die in den kleinsten Habitatfragmenten am meisten vorangeschritten sind, was sich durch intensive genetische Drift erklären lässt. Die urbanen Subpopulationen sind also wahrscheinlich Relikte aus einer Zeit vor der städtischen Bebauung und werden nicht primär von einwandernden Käfern aus dem Umland gespeist. Bislang sind aber noch keine Unterschiede in der genetischen Diversität zwischen Stadt und Umland festzustellen.

Naturschutzfachliches Fazit

Aus naturschutzfachlicher Sicht gilt es in dieser Situation folgendes zu bedenken: In großen, panmiktischen Populationen ist die genetische Diversität zwar kleiner als in Gruppen von schwach verbundenen Subpopulationen (Metapopulationen) mit der gleichen Individuenanzahl (Kimura und Crow 1963). Ein fehlender Individuenaustausch zwischen den Subpopulationen kann allerdings das Überleben der Population gefährden (Gill 1978), da das Aussterberisiko in kleinen Subpopulationen hoch ist. Nicht nur aus diesem Grund empfehlen Desender et al. (2002) zum Artenschutz die Habitatfragmente zu vergrößern, statt sie zu verbinden. Folgendes Argument führen diese Autoren zusätzlich gegen die Verbindung von Habitatfragmenten ins Feld „to avoid outbreeding depression between locally adapted populations because of the possible disintegration of coadapted gene complexes; connecting fragments with populations of a differing size and genetic structure also would increase the risk of source-sink losses of (special) alleles from the smallest of two populations which are to be connected“. In einem kleinräumigen Maßstab, wie dem hier untersuchten, ist die Bedeutung dieses zweiten Arguments aber wahrscheinlich nicht sehr groß.

Noch sind die Auswirkungen von Inzuchtprozessen auf Laufkäfer zu wenig erforscht, um die Vermutungen eines negativen Einflusses durch Inzuchtdepression eindeutig zu belegen. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Abnahme der genetischen Vielfalt mit einer Zunahme der Inzucht in den kleinen urbanen Populationen einhergeht – selbst bei einer so häufigen und vergleichsweise eurytopen Art wie *Carabus nemoralis*.

Die Untersuchung von Fragmentierungseffekten an häufigen und weniger stenotopen Arten ist eine gute Basis für die Abschätzung der Fragmentierungsfolgen auf gefährdete, stenotope und wenig mobile Arten, die aufgrund der Seltenheit dieser Arten oft nicht explizit untersucht werden können. In diesen Fällen können die Ergebnisse als Grundlage eines Szenarios dienen, welches die mindestens zu erwartenden Auswirkungen der Habitatfragmentierung schätzt (Knutsen et al. 2000). Bei stärker stenotopen Arten mit vergleichbarer Mobilität werden die Auswirkungen in der Regel stärker sein, so wie es von Brouat et al. (2003) im ruralen Bereich schon beobachtet wurde.

Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstreichen die Bedeutung eines effektiven Biotopverbundes für den Naturschutz. In Zukunft sollten in Ergänzung zu den im Rahmen von Biotopverbundstudien häufig untersuchten Taxa der Säugetiere, Vögel und Pflanzen aber auch Untersuchungen zu „unauffälligeren“ Taxa wie Bodenarthropoden nicht fehlen, da deren Bedeutung für die Öffentlichkeitsarbeit zwar eventuell geringer sein mag, die Bedeutung in den Ökosystemen aber ebenfalls groß ist. Konkret besteht weiterer Untersuchungsbedarf besonders hinsichtlich der Auswirkungen der genetischen Prozesse wie Inzucht auf die Fitness der betroffenen Arten und deren demographische Folgen, die bislang nur unzulänglich bekannt sind, da sie sich von Art zu Art unterscheiden können (Reed & Frankham 2003).