

Populationsökologische und -genetische Untersuchungen an Laufkäfern

Roland GERSTMEIER, Harald vom HOFE, Dieter SEDLMAIR und Ralf EINSPANIER

1. Einleitung

Ähnlich wie bei taxonomischen Studien stößt man bei populationsökologischen Untersuchungen in Bereiche vor, die mit sogenannten „konventionellen“ Untersuchungsmethoden nicht befriedigend bearbeitet und geklärt werden können. Verwandtschaftsnachweise, klein- und großräumig isolierte Populationen, Hybridisierung, Populationsstrukturen, Nachweis von Fortpflanzungserfolgen und die Definition eines „evolutionary significant unit“ (ESU) setzen molekulargenetische Techniken voraus (AMOS, SCHLÖTTERER & TAUTZ 1993; AVISE *et al.* 1987; HADRYŚ *et al.* 1993; HARRISON, RAND & WHEELER 1987; SCHLÖTTERER & PENIBERTON 1994; STREIT *et al.* 1994; VOGLER & DeSALLE 1994).

Der Einsatz molekularbiologischer Methoden bei taxonomischen Untersuchungen ist heute ebenfalls nahezu unüberschaubar; zusammenfassende Übersichten sind zu finden bei: CRAMPTON & EGGLESTON 1992; HEWITT & JOHNSTON 1991; HILLIS, MORITZ & MABLE 1996.

Im Rahmen eines „Uferstreifenprojektes“, bei dem schwerpunktmäßig Laufkäfer (Carabidae) bearbeitet wurden, ergaben sich Fragestellungen, zu deren Lösung die Einarbeitung in molekularbiologische Untersuchungsmethoden Voraussetzung ist. So soll im ersten Teil dieser Arbeit auf die ökologischen Fragestellungen eingegangen werden, im zweiten Teil werden dann die molekularen Techniken zur taxonomischen Untersuchung von Laufkäfern vorgestellt.

2. Populationsökologische Untersuchungen an Laufkäfern in Uferstreifen

Die Untersuchungen in Uferbereichen der Murn, eines Nebenflusses des Inns (Landkreis Rosenheim) sollten vor allem zur Klärung der Fragestellungen über eine angemessene Breite eines Uferstreifens, über Einflüsse der angrenzenden landwirtschaftlichen Bewirtschaftung und über den Einfluß verschiedener Mahdvarianten zur Pflege der Uferstreifen dienen.

Allgemeine Ergebnisse zu allen untersuchten Arthropodengruppen finden sich bei GERSTMEIER (1993) und GERSTMEIER, BOOCKHAGEN & CARL (1994); faunistische Details zu Laufkäfern werden bei GERSTMEIER (1996) erwähnt.

Bezüglich der ökologischen Präferenzen dominieren in den Uferstreifen die Feldarten mit 29% vor den hygrophilen Arten mit 27%, Waldarten 21%, Uferarten 12% und den Feld-/Waldarten mit 10%; die reinen Uferarten stehen also erst an 4. Stelle (Abb. 1).

Hier drängt sich natürlich die Frage auf: Was tun Waldarten in Uferstreifen bzw. sind sog. Waldarten wirklich Waldarten?

1995 wurden bestimmte Arten in einem Waldstück, im angrenzenden Uferstreifen und in einer etwa 80 m entfernten Hecke markiert und wieder freigelassen. Alle 10 Meter befinden sich Trennwände, die die Tiere zum Entlanglaufen zwingen. Wird ein markiertes Tier in einer Falle gefangen, wird es auf

Carabidae Uferstreifen

93 Arten

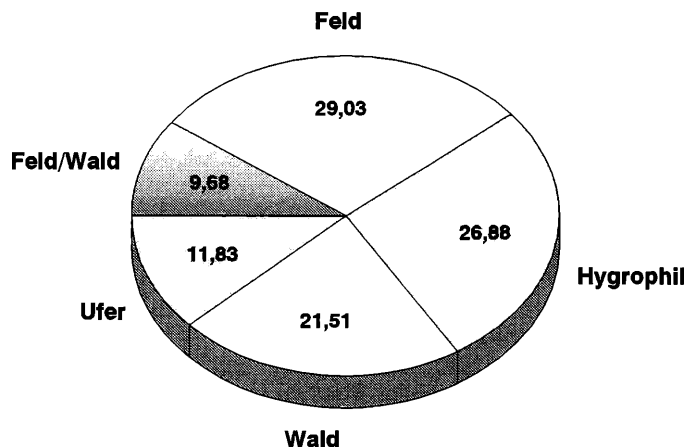


Abbildung 1

Prozentangaben der ökologischen Präferenzen von Laufkäfer in Uferstreifen der Murn.

der anderen Seite der Trennwand wieder freigelassen. Die Grafik von *Abax parallelepipedus* zeigt, daß sich zwar die meisten Individuen im Wald aufhalten, aber auch stark im Uferstreifen und in der Hecke vertreten sind (Abb. 2). Die Tiere sind aber auch sehr wanderfreudig, indem sie aus dem Wald bzw. der Hecke in den Uferstreifen einwandern. *A. parallelepipedus* ist im Untersuchungsgebiet eher als Waldrand-, Hecken- und Uferstreifenart zu bezeichnen.

Abax parallelus dagegen zeigt als **echte** Waldart seinen Schwerpunkt im Wald; Ein- und Auswanderung halten sich in Grenzen. Trotzdem finden sich einige Individuen in der Hecke und nicht wenige Individuen in den Uferstreifen (Abb. 3).

Die Wanderung erfolgt bei beiden *Abax*-Arten doch stark außerhalb der Uferstreifen, also in der intensiv genutzten Wiese; d.h. der Uferstreifen ist zwar ein wichtiger Lebensraum, aber nicht unbedingt ein notwendiger Vernetzungskorridor.

Bei *Carabus nemoralis* bewegen sich die meisten Tiere nur in einem begrenzten Bereich, v.a. in Waldnähe, ansonsten scheinen die Käfer die Uferstreifen nur ungern zu verlassen (Abb. 4). Dies deutet wiederum die wichtige Funktion der Uferstreifen als Vernetzungsstruktur an.

Jetzt wäre es natürlich interessant zu wissen, ob über die Uferstreifen ein Genaustausch zwischen isolierten Populationen besteht?

Eine Förderung bzw. Erhaltung der genetischen Vielfalt setzt in den meisten Fällen den Austausch von genetischem Material voraus, d.h. bei isolier-

ten Populationen müssen Trittsteine oder Korridore als Verbindungswege vorhanden sein. Allerdings fehlt bis heute der eindeutige Nachweis, ob über solche Vernetzungsstrukturen tatsächlich ein Genaustausch stattfindet.

3. Molekularbiologische Differenzierung hochalpiner Laufkäfer der Untergattung *Orinocarabus*

Molekularbiologische Methoden sollten eine Differenzierung vor allem solcher Arten ermöglichen, die rein morphologisch kaum unterscheidbar sind. Dies ist z.B. der Fall, wenn ein Merkmal unabhängig voneinander konvergent entstanden ist, was bei zwei Taxa auftreten kann, die zwar aus unterschiedlicher genetischer Richtung kommen, aber dieselbe ökologische Nische besetzen. Bei molekularen Markern hat man dieses Problem nicht, da molekulare Merkmale (z.B. DNA Sequenzen) im allgemeinen nicht konvergent selektiert werden. Der große Vorteil von DNA-Untersuchungen besteht darin, daß der dem Phänotyp zugrundeliegende Genotyp direkt untersucht wird. Insbesondere liefern DNA-Sequenzen diskrete Daten, die mit Hilfe kladistischer Verfahren ausgewertet werden können.

Wir haben drei Verfahren zur DNA-Differenzierung von Taxa und Populationen getestet: SSCP, Sequenzierung und RAPD-PCR.

Die SSCP- (Single-strand conformation polymorphism) Elektrophorese wird seit einigen Jahren zur Detektion von Sequenzunterschieden zwischen homologen DNA-Abschnitten angewendet (BOGE,

Abax parallelepipedus

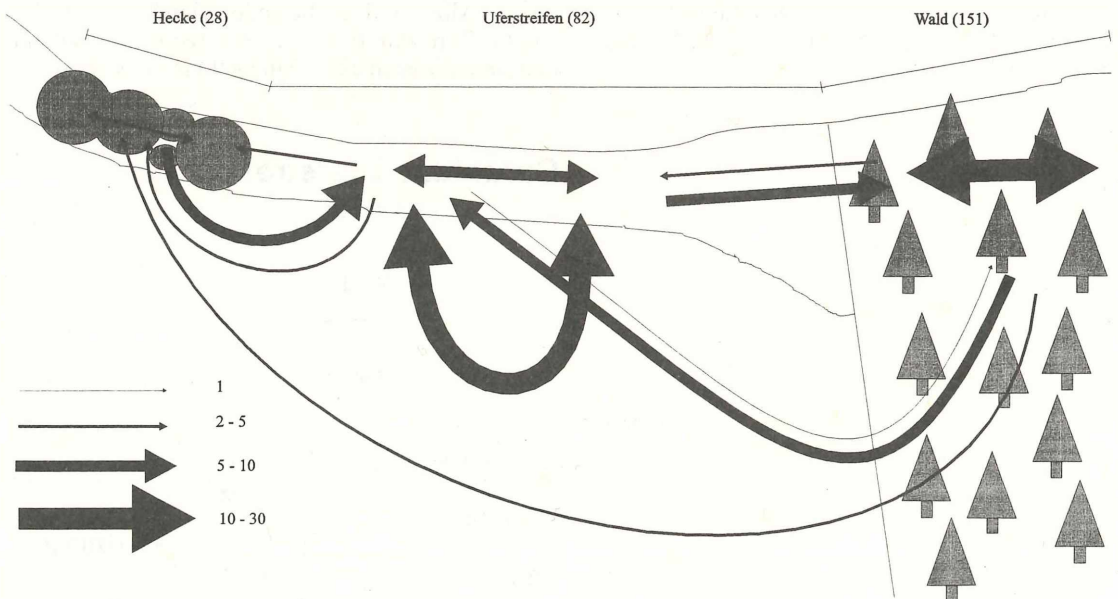


Abbildung 2

Individuenaustausch von *Abax parallelepipedus* zwischen Hecke, Uferstreifen und Wald während eines Jahres. In Klammer steht jeweils die Anzahl der insgesamt markierten Tiere; die Pfeildicke spiegelt die Anzahl der wandernden Individuen wider.

Abax parallelus

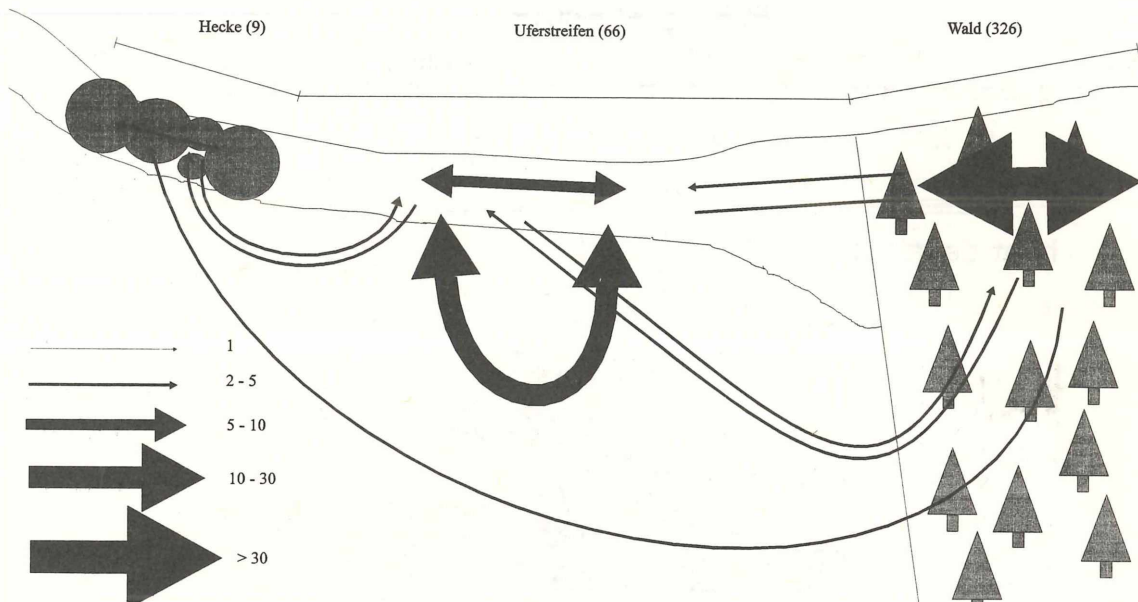


Abbildung 3

Individuenaustausch von *Abax parallelus* zwischen Hecke, Uferstreifen und Wald während eines Jahres. In Klammer steht jeweils die Anzahl der insgesamt markierten Tiere; die Pfeildicke spiegelt die Anzahl der wandernden Individuen wider.

Carabus nemoralis

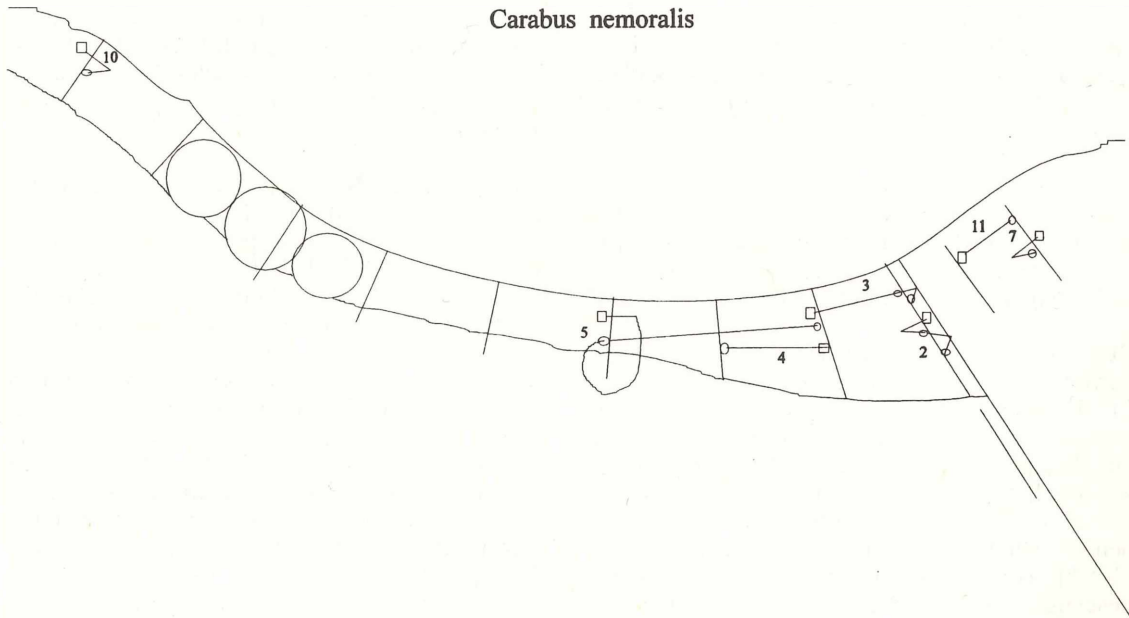


Abbildung 4

Wanderaktivität einiger Individuen von *Carabus nemoralis*.

GERSTMEIER & EINSPANIER 1994; CHAUBERT, BAUTISTA & BENHATTAR 1993; DOCKHORN-DWORNICZAK et al. 1991). Die vorher amplifizierte DNA-Abschnitte werden durch Hitze denaturiert und in eine native Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese eingesetzt. Die einzelsträngigen Fragmente nehmen innerhalb des Gels aufgrund intramolekularer Wechselwirkungen eine dreidimensionale Struktur ein, die von der jeweiligen Basensequenz bestimmt wird. Bei Sequenzunterschieden

ergeben die unterschiedlichen Laufeigenschaften ein spezifisches Bandenmuster (Abb. 5).

In Mitteleuropa ist die Untergattung *Orinocarabus* mit den fünf Arten *alpestris*, *carinthiacas*, *concolor*, *linnei* und *sylvestris* vertreten. In Abb. 6 erkennt man die Unterscheidungsmöglichkeiten der Taxa; d.h., die Arten lassen sich eindeutig anhand der unterschiedlichen Bandenmuster identifizieren (basierend auf dem Ubiquitin-Gen). Zwischen den

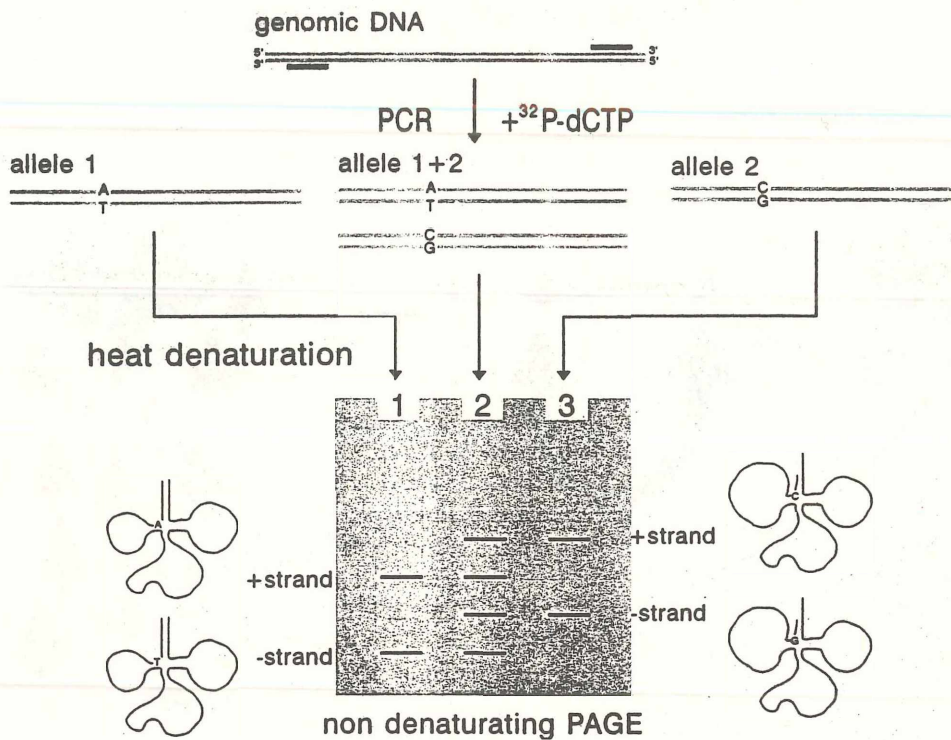


Abbildung 5

Schematische Darstellung der SSCP-PCR (aus ROLFS et al. 1992, S. 163).

beiden Unterarten von *alpestris hoppei* und *rottenmannicus* – besteht ein Unterschied in einer einzigen Bande. Als konstantes gemeinsames Bandenmuster der Untergattung *Orinocarabus* ergeben sich vier Banden.

Bei der Analyse von zwei Populationen der Art *O. concolor*, die vom Grimsel- und vom Furka-Paß aus der Schweiz stammen, liefert die Ubiquitin-SSCP zwei Typen an Bandenmuster, die gemischt an beiden Fundorten auftreten (Abb. 7).

Zur weiteren Bearbeitung wurde das Verfahren der **Sequenzierung** eines Genabschnittes angewandt. Im Vergleich zur SSCP ist die Sequenzierung zwar aufwendiger und damit teurer, aber unabdingbar bei phylogenetischen Fragestellungen. Sequenziert wurde ein 550 Basenpaare langer Abschnitt der mitochondrialen DNA, der für Leucin-tRNA, einen Teil der 16 S rRNA und überwiegend für NDI1 (365 bp) codiert, ein bei Käfern in letzter Zeit eingesetztes Gen (PRÜSER 1996; VOGLER et al. 1993). Als Ergebnis der Sequenzierung erkennt man eine Furka- und eine Grimsel-Population; innerhalb der jeweiligen Population sind keine Unterschiede zu erkennen (Abb. 8).

Dabei spiegeln die Ubiquitinbanden als Kerngene den gemeinsamen Ursprung der Populationen wider, während die mitochondrialen Sequenzdaten der geographischen Isolierung der beiden Fundorte entsprechen.

Bei der **RAPD-PCR** (Random Amplified Polymorphic DNA) wird ein Zufallsprimer eingesetzt, die gesamte DNA dient praktisch als Matrize (KAMBHAMPATI, BLACK IV & RAI 1992; PUTERKA et al. 1992). Man erkennt eine deutliche Trennung der drei Unterarten von *O. alpestris* und eine sehr scharfe Unterscheidung zu einer anderen Art, *O. sylvestris* (Abb. 9). Wertet man die Bandenübereinstimmung (Bandsharing-Index) aus, erhält man eine hohe prozentuale Übereinstimmung zwischen Individuen der einzelnen Unterarten; eine mittlere Übereinstimmung zwischen den Unterarten, und einen sehr geringen Prozentsatz beim Vergleich zu einer anderen Art (Tab. 1). Die RAPD-PCR ist eine vielversprechende, schnelle und einfache Methode, wenn man den richtigen Primer gefunden hat; ihr Einsatz in phylogenetischen Verwandtschaftsanalysen ist allerdings stark limitiert (VAN DE ZANDE & BIJLSMA 1995).

Tabelle 1

Bandsharing Index der RAPD-PCR (basierend auf Abb. 9)

	O.a. alpestris	O.a. rottenmannicus	O.a. dolomitanus	O. sylvestris
O.a. alpestris	75%	/	/	17%
O.a. rottenmannicus	31%	86%	/	/
O.a. dolomitanus	29%	32%	91%	/

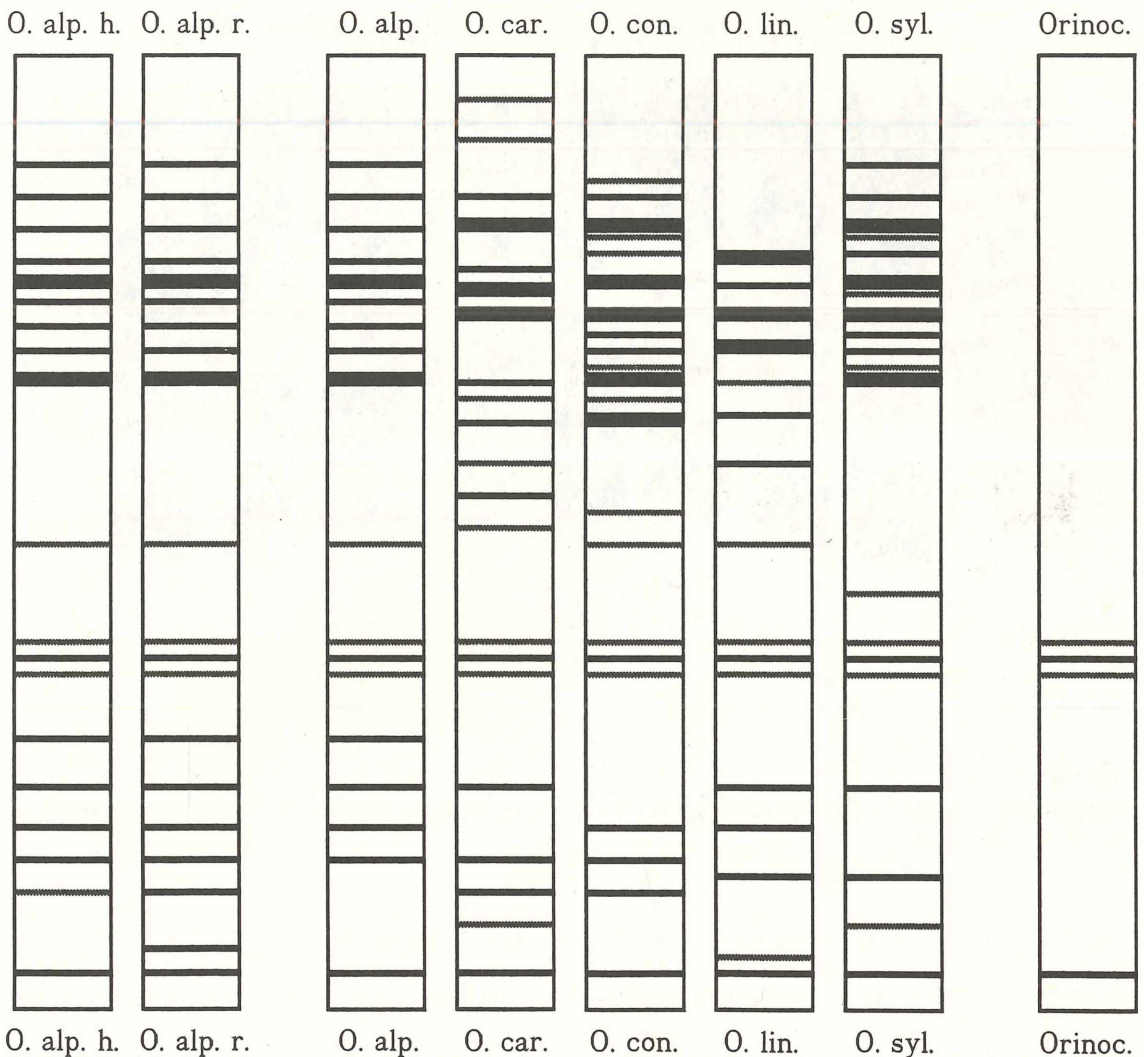


Abbildung 6

Ubiquitin-SSCP-Bandenmuster der fünf mitteleuropäischen *Orinocarabus*-Arten. alp.h = *alpestris hoppei*, alp.r. = *alpestris rottenmannicus*, alp. = *alpestris*, car. = *carinthiacus*, con. = *concolor*, lin. = *linnei*, syl. = *sylvestris*, Orinoc. = *Orinocarabus*

4. Ausblick

Für populationsökologische Fragestellungen wären neben der RAPD-PCR auch Isoenzym- und Microsatelliten-Untersuchungen geeignet.

Bei der taxonomischen Differenzierung sollte ein weiteres Gen untersucht werden, nicht codierende Genabschnitte könnten in Erwägung gezogen werden und letztendlich müssen die molekularen Merkmale mit den eidonomischen und genital-morphologischen Merkmalen kombiniert werden.

5. Literatur

AMOS, B.; C. SCHLÖTTERER, D. TAUTZ (1993): Social structure of pilot whales revealed by analytical DNA-profiling. – *Science* **260**, 670-672.

AVISE, J.C.; J. ARNOLD, R.M. BALL, E. BERMINGHAM, T. LAMB, J.E. NEIGEL, C.A. REEB, N.C. SAUNDERS (1987): Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. – *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **18**, 489-522.

BOGE, A.; R. GERSTMEIER, R. EINSPIANIER (1994): Molecular polymorphism as a tool for differentiating gro-

und beetles (*Carabus species*): application of ubiquitin PCR/SSCP analysis. – *Insect Molecular Biology* **3**(4), 267-271.

CHAUBERT, P.; D. BAUTISTA, J. BENHATTAR (1993): An improved method for rapid screening of DNA mutations by nonradioactive single-strand conformation polymorphism procedure. – *Bio Techniques* **15**, 586.

CRAMPTON, J.M.; P. EGGLESTON (EDS.) (1992): *Insect Molecular Science*. – Academic Press, London, .

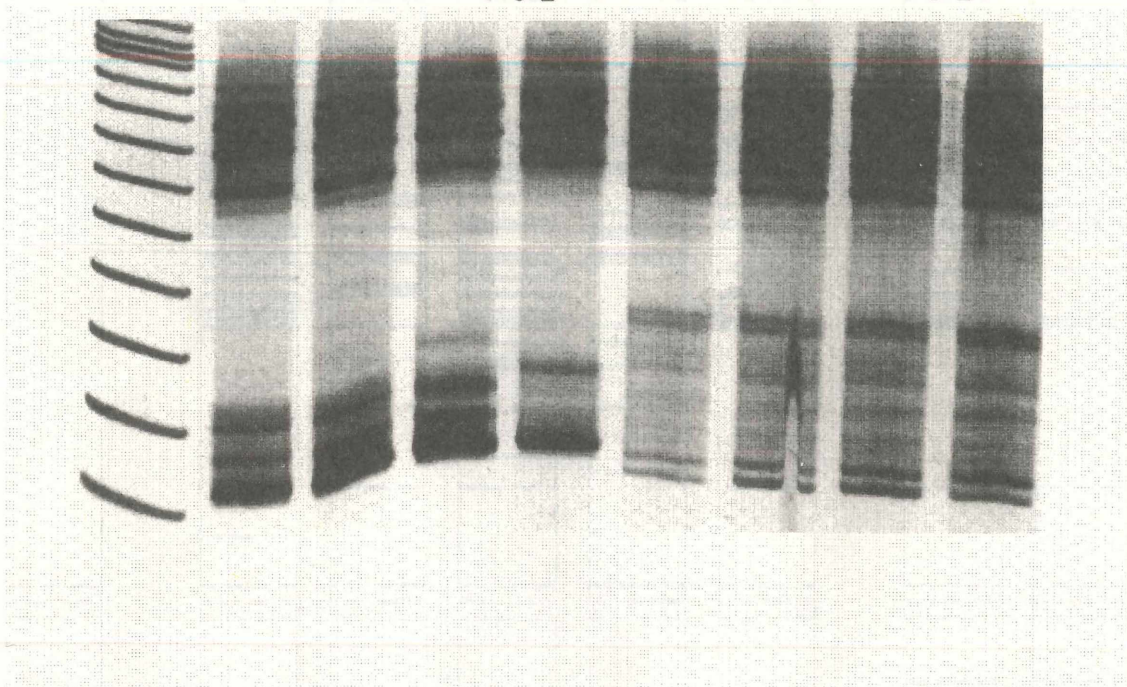
DOCKHORN-DWORNICZAK, B.; B. DWORNICZAK, L. BROMMELKAMP, J. BULLES, J. HORST & W.W. BOKKER (1991):

Non-isotopic detection of single strand conformation polymorphism (PCRSSCP): a rapid and sensitive technique in diagnosis of phenylketonuria. – *Nucl.Acids Res.* **19**: 2500.

GERSTMEIER, R. (1993):

Ökologisch-faunistische Untersuchungen zur Bemessung und Pflege von Uferstreifen. – Unveröff.Ber. An Bayer. Landesamt für Wasserforschung, 219 pp.

GERSTMEIER, R.; D. BOOCKHAGEN, M. CARL (1994): Ökologisch-faunistische Untersuchungen zur Bemessung und Pflege von Uferstreifen an Fließgewässern im Voralpengebiet. – *Verhandlungen GFÖ* **23**, 221-230.

O.concolor Typ I O.concolor Typ II**Abbildung 7**

Ubiquitin-SSCP-Bandenmuster von *O. concolor*. Typ I = Population vom Grimsel-Paß, Typ II = Population vom Furka-Paß (Schweiz).

```

TTACAGTATAAACCCCTAAACTAGTGCAAGCTAAAAAATAACATTCCTAAATTAAAATTAAAT
      A
AAAAC TAAAAAATAAGGAATAACTACTCATAATAATAATGATAAAAA TAACTCATAATTGGAGA
      T                               T
ATAATAATATATGATATAATTAGATAATAAAGGATAAGTCTGTTCTTTAGAGAATAATTTAATAG
      A                               G                               G
CATCACAAAAAGGTTGAGGAATACCTATAAAATCCAAC TTTATTTGGACCTTTACGAATTTGAATA
      G                               T
TAACCTAATACCTTTTCGTTCCAATAAAGTCAAAAAGGCAACTCCCACTAAAACACAAATAATTAA
TAATAATATACAAATTAATGAAAATATTACATCTATATAAAACAAGTATTACTTGTAATAATTT
C                               G
ACATAAATGAATTCTAAATTCATTGCACTAATCTGCCAAAATAATAAACTTTAATAACATTCAAT
AAATTAAATATCAATATATCAAATATTTGGTCCTTTCGTACTAAAATATTTTATTTTATTAAAGA
      A
TAGAAACGNCCTGGCTTACACCGGTTTGA ACTCAGATC
      N
  
```

Abbildung 8

Mitochondriale DNA-Sequenzen der *O. concolor*-Population vom Furka-Paß (obere Reihe) im Vergleich zur Grimsel-Paß-Population (untere Reihe).

GERSTMEIER, R. (1996):

Die Laufkäferfauna in Uferstreifen eines bayerischen Fließgewässers. – Verhandlungen des 14. Internationalen Symposiums für Entomofaunistik in Mitteleuropa, SIEEC, in München (1994) **14**, 122-129

HADRYS, H.; B. SCHIERWATER, S.L. DELLAPORTA, R. DESALLE, L.W. BUSS (1993):

Determination of paternity in dragonflies by Random Amplified Polymorphic DNA fingerprinting. – *Molecular Ecology* **2**, 79-87.

HARRISON, R.G.; D.M. RAND, W.C. WHEELER (1987): Mitochondrial DNA variation in field crickets across a narrow hybrid zone. – *Mol.Biol.Evol.* **4**, 144-158.

HEWITT, G.M.; A. W.B. JOHNSTON, J.P.W. YOUNG (1991):

Molecular techniques in taxonomy. – NATO ASI Series, Vol H 57, Springer Verlag, Berlin.

HILLIS, D.M.; C. MORITZ, B.K. MABLE (1996): *Molecular Systematics*. – Sinauer Associates, Inc., Sunderland, 2nd edition.

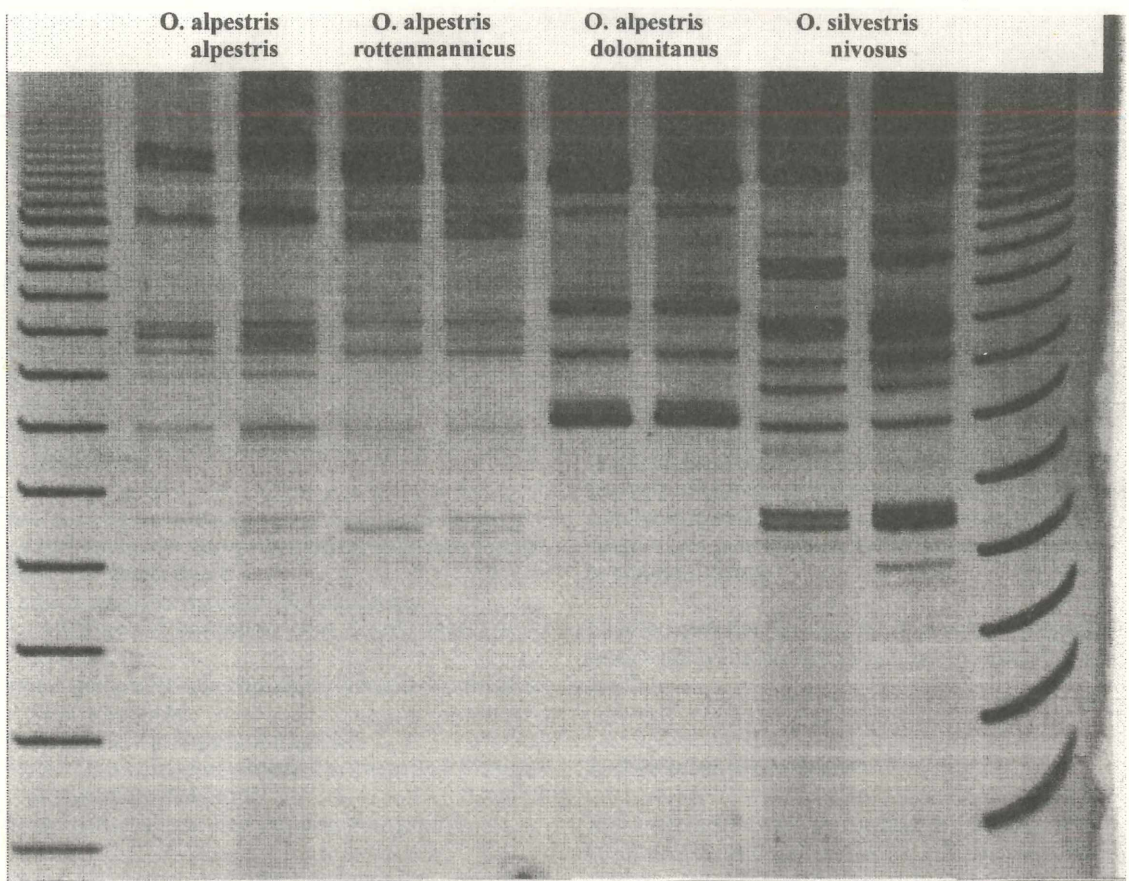


Abbildung 9

RAPD-PCR-Bandenmuster der drei Unterarten von *O. alpestris* und *O. silvestris*.

KAMBHAMPATI, S.; W.C. BLACK IV, K.S. RAI (1992): Random amplified polymorphic DNA of mosquito species and populations (Diptera: Culicidae): techniques, statistical analysis, and applications. – *J. Med. Entomol.* **29**, 939-945.

PRÜSER, F. (1996): Variabilität mitochondrialer DNA-Sequenzen und die Phylogenie der Gattung *Carabus* Linné 1758 (Coleoptera: Carabidae). – Diss. Universität Bremen, 173 pp.

PUTERKA, G.J.; W.C. BLACK IV, W.M. STEINER, R.L. BURTON (1992): Genetic variation and phylogenetic relationships among worldwide collections of the russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko), inferred from allozyme and RAPD-PCR markers. – *Heredity* **70**, 604-618.

ROLFS, A.; I. SCHULLER, U. FINCKH, I. WEBER-ROLFS (1992): PCR: Clinical Diagnostics and Research. – Springer-Verlag, Berlin.

SCHLÖTTERER, C.; J. PEMBERTON (1994): The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations. – In: SCHIERWATER, B., STREIT, B., WAGNER, G.P., DESALLE, R.: *Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications*. – Birkhäuser Verlag, Basel. S. 203-214.

STREIT, B.; T. STÄDLER, K. KUHN, M. LOEW, M. BRAUER, B. SCHIERWATER (1994): Molecular markers and evolutionary processes in hermaphrodite freshwater snails. – In: SCHIERWATER, B.; B. STREIT, G.P. WAGNER, R. DESALLE: *Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications*. – Birkhäuser Verlag, Basel. S. 247-260.

VOGLER, A.P.; R. DESALLE (1994): Diagnosing units of conservation management. – *Conserv. Biol.* **8**, 354-363.

VOGLER, A.P.; C.B. KNISLEY, S.B. GLUECK, J.M. HILL, R. DESALLE (1993): Using molecular and ecological data to diagnose endangered populations of the puritan tiger beetle *Cicindela puritana*. – *Molecular Ecology* **2**, 375-383.

VAN DE ZANDE, L.; R. BIJLSMA (1995): Limitations of the RAPD technique in phylogeny reconstruction in *Drosophila*. – *J. Evol. Biol.* **8**, 645-656.

Anschrift der Verfasser:

PD Dr. Roland Gerstmeier
Dipl.-Biol. Harald vom Hofe
Dipl.-Biol. Dieter Sedlmair
Technische Universität München
Angewandte Zoologie
D-85350 Freising

PD Dr. Ralf Einspanier
Technische Universität München
Lehrstuhl für Physiologie
Vöttinger Straße
D-85350 Freising

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Laufener Spezialbeiträge und Laufener Seminarbeiträge \(LSB\)](#)

Jahr/Year: 1998

Band/Volume: [2_1998](#)

Autor(en)/Author(s): Gerstmeier Roland, vom Hofe Harald, Sedlmair Dieter, Einspanier Ralf

Artikel/Article: [Populationsökologische und -genetische Untersuchungen an Laufkäfern 31-37](#)