

**Genetische Variabilität der ribosomalen ITS1-Sequenzen
bei der parthenogenetischen Hornmilbe
Platynothrus peltifer (C.L. KOCH, 1839)
(Acari: Oribatida)**

von

Michael HEETHOFF, Mark MARAUN & Stefan SCHEU *)

**Genetic Variability in Ribosomal ITS 1-Sequences of the Parthenogenetic
Oribatid Mite *Platynothrus peltifer* (C.L. KOCH, 1839)
(Acari: Oribatida)**

Synopsis: To investigate genetic variability in parthenogenetic oribatid mites, individuals of *Platynothrus peltifer* (C.L. KOCH, 1839), *Heminothrus thori* (BERLESE, 1904) and *Nothrus silvestris* (NICOLET, 1855) were sampled from different forests in the region of Darmstadt (*P. peltifer*), Göttingen (*P. peltifer*, *N. silvestris*) and Berlin (*P. peltifer*, *H. thori*). We analysed if there are several specialised genotypes in different habitats or if there is just one or a few generalised genotypes occurring under very different conditions and geographic regions. Genomic DNA was extracted and the sequences of the repeated ribosomal internal transcribed spacer region 1 (ITS1) were sequenced. The about 415 bp long sequences were aligned and analysed using different algorithms of the phylogenetic computer programmes PHYLIP 3.5c and PAUP 3.0; *N. silvestris* was used as an outgroup. Different results of these programmes are discussed in respect to their potential to adequately depict phylogenetic relationships if the sequence data differ little. In *P. peltifer* the intraindividual variation in the ITS1 sequence data was 4,1 % and the interindividual variation was about 4,3 %. The intraindividual variation results from the automictic reproduction of *P. peltifer* with reduced meiosis. Hence, an intraindividual variability of more than 4 % shows that *P. peltifer* reproduces parthenogenetically for a very long time and because of that interindividual variation of the ITS 1 region must be compared to intraindividual. The interspecific variation between *P. peltifer* and *H. thori* was 8,4 %. Phylogenetic analysis indicate that the *P. peltifer* individuals from Darmstadt, Göttingen and Berlin share a single genotype. Because of the similarity of intraindividual and interindividual variability none of the analysing algorithms could differentiate between sequences out of one or more than one individual mite. Hence, it is concluded that *P. peltifer* could have a „general purpose” genotype adapted to a wide range of habitats.

*) Anschrift der Verfasser: Dipl.-Biol. M. Heethoff, Dr. rer. nat. M. Maraun u. Prof. Dr. St. Scheu, Institut für Zoologie der TU Darmstadt, Schnittspahnstraße 3, D-64287 Darmstadt, BRD, email: heethoff@bio.tu-darmstadt.de.

1. Einleitung:

1.1. Ökologie und systematische Stellung von *Platynothrus peltifer* (C.L. KOCH, 1839):

Die Hornmilben sind mit einem stammesgeschichtlichen Alter von mindestens 380 Millionen Jahren eine sehr alte Tiergruppe, wie Funde aus dem Devon beweisen (NORTON et al. 1988). Das Auftreten von Parthenogenese wurde in allen Gruppen der Acari mit Ausnahme der Opilioacarida und Holothyrida nachgewiesen (OLIVER 1971). Parthenogenese tritt als dominante Art der Fortpflanzung vor allem bei den Oribatida auf (NORTON et al. 1986). Erste Hinweise auf das Vorhandensein von Parthenogenese bei Oribatiden lieferte GRANDJEAN (1941) mit Arbeiten über das Geschlechterverhältnis verschiedener Hornmilben.

Platynothrus peltifer und *Heminothrus thori* (BERLESE, 1904) sind Vertreter der Camisiidae, die zu der Gruppe der Desmonomata gestellt werden. In der Gruppe der Desmonomata wurden sowohl bei den Trhypochthoniidae als auch bei den Camisiidae, den Nothridae und den Nanhermanniidae parthenogenetische Linien nachgewiesen. Zudem wurde aufgrund von Analysen der Geschlechterverhältnisse in vielen weiteren Gruppen der Oribatida Thelytokie postuliert. *P. peltifer* ist in Böden der gesamten palaearktischen Region verbreitet, wobei die Art eine relativ breite ökologische Nische besetzt (SIEPEL 1990). Die Nahrungsgrundlage bilden zersetzende Blätter, Holz oder Pilze (HARTENSTEIN 1962), wobei vermutlich Pilze die wichtigste Nahrungsressource darstellen (LUXTON 1972, MARAUN 1997). So ordnen VERA-ZIEGLER et al. (1990) *P. peltifer* mit den meisten übrigen Oribatiden den sapromycophagen Organismen zu. Neuere Arbeiten deuten jedoch darauf hin, dass sich *P. peltifer* primär saprophag ernährt (SCHEU & FALCA, 2000). *P. peltifer* pflanzt sich durch automiktische Thelytokie fort (TABERLY 1987). Die Entwicklung vom Ei zum adulten Tier verläuft wie bei allen Oribatiden über vier Stadien: Larve, Protonymph, Deutonymph und Tritonymph. Jedes dieser Stadien hat zu einer bestimmten Jahreszeit im Boden eine maximale Abundanz (BLOCK 1965). Dies weist auf eine nahezu synchrone Entwicklung der gesamten Population hin, bei welcher sich der Entwicklungszyklus vom Ei zum adulten Tier innerhalb eines Jahres vollzieht (HARLOV 1960, HARTENSTEIN 1962). Andere Arbeiten (VERA-ZIEGLER et al. 1990) beschreiben hingegen eine Abhängigkeit des Entwicklungszyklus vom Habitat, wobei verschiedene Nymphenstadien ganzjährig nebeneinander auftreten können.

1.2. DNA-Sequenzen für molekular-phylogenetische Untersuchungen:

Das Kerngenom des Großteils der Eukaryoten besteht aus 10^7 - 10^{11} Basenpaaren. Für phylogenetische Untersuchungen wird jedoch nur ein geringer Teil des Genoms herangezogen. Ein wichtiges Kriterium zur Auswahl geeigneter Abschnitte ist das phylogenetische Alter der zu untersuchenden Gruppe, sowie deren Evolutionsgeschwindigkeit, die mit der Mutationsrate verknüpft ist. Der herangezogene DNA-Abschnitt sollte so konserviert sein, dass gefundene Sequenzen gut homologisierbar sind, dass also die Übereinstimmung der Sequenzen verschiedener Proben eine zufällige Übereinstimmung deutlich übersteigt. Andererseits müssen die Sequenzen in einem Maß differieren, das eine eindeutige Unter-

scheidung zulässt (PATTERSON 1988, HILLIS & DIXON 1991). Liegen Gene mehrfach wiederholt im Genom vor, so ist deren Amplifikation oft einfacher. In hoher Kopienzahl finden sich die Gene der Histone, der ribosomalen RNA als „tandemartig“ wiederholte Gene (MILLER & BEATTY 1969) und tRNA-Gene sowie z. B. Actin- und Tubulingene als verstreut wiederholte Gene (LEWIN 1994). Die Transkriptionseinheit der rDNA-Gene bei Eukaryoten besteht aus den Genen der 18S rDNA, der 5,8S rDNA und der 28S rDNA. Diese Gene sowie die einzelnen Transkriptionseinheiten des „Tandems“ sind durch Spacer-Regionen voneinander getrennt. Die Spacer-Regionen in den Transkriptionseinheiten unterliegen einer schnelleren evolutiven Veränderung als die ribosomalen Gene (MOLINA et al. 1992). Die 18S-Gene sind am stärksten konserviert, ihnen folgen die 28S-Gene und schließlich die ITS-Bereiche (*internal transcribed spacer*) und die Sequenzen im ETS- und IGS-Bereich (*external transcribed spacer*, *intergenic spacer*; HILLIS & DIXON 1991).

Die Länge der Transkriptionseinheiten ist variabel, auch die Anzahl der Wiederholungen variiert in erheblichem Maße; so finden sich in dem Bakterium *Escherichia coli* nur sieben, bei den meisten Metazoen einige hundert und bei manchen Pflanzen mehr als tausend. Diese Wiederholungen sind untereinander in der Regel weitgehend identisch. Man bezeichnet dieses Phänomen als „concerted evolution“ (ARNHEIM 1983), welches auf stochastische Verteilungen der Chiasmata bei der Rekombination zurückzuführen ist. Die ITS-Regionen können jedoch auch innerhalb eines Individuums variabel sein (z. B. 1,07 % Abweichung im ITS 1-Bereich und 1,17 % im ITS 2-Bereich innerhalb eines Individuums bei *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae)). Für phylogenetische Untersuchungen wurden bisher am häufigsten die Gene der 18S rDNA herangezogen (z. B. FIELD et al. 1988). Das System der Arthropoden wurde von TURBEVILLE et al. (1991) anhand von 18S rDNA-Sequenzen untersucht. Weiterhin wurde die Systematik der holometabolen Insekten anhand von 18S rDNA-Sequenzen bearbeitet (CHALWATZIS et al. 1996). Das System der Oribatida und der astigmaten Milben wird derzeit anhand von 18S rDNA-Daten untersucht (THOMAS, NORTON, MARAUN unveröff.). Zur Untersuchung von Verwandtschaftsverhältnissen sich nahe stehender Spezies und intraspezifischer Variationen werden immer häufiger die ITS-Regionen der ribosomalen Transkriptionseinheiten verwendet (COLEMAN & MAI 1997, KUPERUS & CHAPCO 1994, NAVAJAS et al. 1998). *Ixodes scapularis* und *I. pacificus* wurden so von WESSON et al. (1993) aufgrund hoher Sequenzähnlichkeiten zu einer Art zusammengefasst.

Ziel dieser Arbeit ist, Zusammenhänge zwischen dem Habitat und dem Genotyp bei der parthenogenetischen Hornmilbenart *Platynothrus peltifer* zu untersuchen. Weiterhin wird untersucht, wie sich die genetische Diversität dieser Art regional verändert. Zur besseren Beurteilung der intraspezifischen Diversität wird *P. peltifer* mit der nah verwandten Art *Heminothrus thori* verglichen. Die gewonnenen Sequenzdaten werden mit verschiedenen biostatistischen Verfahren zur Rekonstruktion verwandtschaftlicher Verhältnisse analysiert. Hierbei soll die Eignung der Algorithmen dieser Verfahren zur Darstellung verwandtschaftlicher Verhältnisse bei geringer genetischer Distanz (intraindividuelle und intraspezifische genetische Variabilität) untersucht werden.

2. Material und Methoden:

2.1. Untersuchungsmaterial:

In der Region von Darmstadt, im Solling, einem Mittelgebirge nordwestlich von Göttingen, und bei Berlin wurde Laubstreu gesammelt und die Fauna nach KEMPSON et al. (1963) extrahiert (Tab. 1). Es wurden 12 Individuen aus 6 unterschiedlichen Populationen von *Platynothenrus peltifer* und je 2 Individuen aus je einer Population von *Heminothenrus thori* und *Nothrus silvestris* gesammelt. Die erhaltenen Tiere wurden bis zur Untersuchung in 70 % Ethanol bei -20° C gelagert. In der Darmstädter Region wurden zwei Flächen beprobt, die sich deutlich bezüglich abiotischer Faktoren unterschieden, also unterschiedliche Habitate für die Bodenfauna darstellten. Auf der ersten Fläche, einem Erlenbruch in Tallage, betrug der pH-Wert des Oh-Horizontes 5,0. Auf der zweiten Fläche, einem Buchenwald auf einer Hügelkuppe mit geringer Bodenmächtigkeit über dem Ausgangsgestein Granit, betrug der pH-Wert dagegen nur 4,0. Durch die exponierte Lage war auf dieser Fläche ein großer Teil der Streu durch Auswehungen abgetragen.

Tab. 1: Fundorte und Bezeichnungen der untersuchten Tiere.

Bez.	Spezies	Fundort	Besonderheiten
PDE 1	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Erlenbruch	
PDE 2	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Erlenbruch	
PDE 3	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Erlenbruch	
PDE 4	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Erlenbruch	
PDK 1a-e	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Hügelkuppe	5 intraindividuelle Wiederholungen
PDK 2	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Hügelkuppe	
PDK 3	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Hügelkuppe	
PDK 4	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Hügelkuppe	
PDB 1	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Böllenfalltor	
PDW 1	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Darmstadt, Waschenbach	
PGS 1	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Göttingen, Solling	
PB 1	<i>Platynothenrus peltifer</i>	Berlin	
HB 1	<i>Heminothenrus thori</i>	Berlin	
HB 2	<i>Heminothenrus thori</i>	Berlin	
NGS 1	<i>Nothrus silvestris</i>	Göttingen, Solling	
NGS 2	<i>Nothrus silvestris</i>	Göttingen, Solling	

2.2. DNA-Isolierung, Amplifikation und Sequenzierung:

Die DNA wurde mit Hilfe des DNA Isolationskits Puregene® (Gentra Systems, Biozym) nach einem abgewandelten Protokoll von SAMBROOK et al. (1989) aus jeweils einem Individuum isoliert (Tab. 1). Mit Hilfe der „polymerase chain reaction“ (PCR, SAIKI et al. 1985) wurde die ITS 1-Region von *Platynothenrus peltifer*, *Heminothenrus thori* und *Nothrus silvestris* (NICOLET, 1855) vervielfältigt. Die PCR wurde mit dem Taq DNA Polymerase-Kit (Biozym, Oldendorf) durchgeführt (2,5 mM MgCl₂, 0,2 nM dNTP's, 0,5 µM je Primer, ca. 3 ng DNS – Denaturierung: 4 min bei 95° C; Amplifikation: 35 Zyklen a 45 sec bei 95° C, 45 sec bei 57° C und 60 sec bei 72° C; abschließende

Elongation: 10 min bei 72° C). Die PCR-Produkte wurden in einem 1%-igen Agarosegel getrennt und mit dem GeneClean II Kit (Bio 101, USA) aus dem Gel gereinigt. Die gereinigten Fragmente wurden nach Klonierung in einen TA-Vektor (Invitrogen, Groningen) mittels Elektroporation (25 nF, 2500 V, 200 W) in *E. coli* SURE™ (Stratagene, Heidelberg) transformiert. Mit dem Sequi Therm Long Read Sequencing Kit (Biozym, Oldenburg) wurden die ITS 1-Regionen schließlich in einem automatisierten LI-COR Sequenziergerät nach der Kettenabbruchmethode (SANGER et al. 1977) sequenziert.

Da aufgrund der geringen Größe der Tiere ganze Individuen für die DNA-Isolierung eingesetzt wurden, mussten Kontaminationen mit DNA anderer Organismen, z. B. aus dem Darm der Tiere, ausgeschlossen werden. Hierzu wurden die erhaltenen Sequenzdaten über das NCBI-BLAST Search - Programm (ALTSCHUL et al. 1997) mit bereits in Datenbanken von Genbank und EMBL veröffentlichten Sequenzen verglichen. Zur Untersuchung intraindividuelle Variabilität wurden fünf verschiedene Wiederholungen des ITS 1 aus einem Individuum sequenziert (PDK 1a-e).

2.3. Phylogenetische Rekonstruktion:

Vergleicht man zur Rekonstruktion von Verwandtschaftsverhältnissen verschiedener Gruppen Sequenzdaten, so muss besonders mit dem Auftreten von Konvergenzen gerechnet werden (HILLIS et al. 1996). Um dennoch Aussagen über Verwandtschaftsverhältnisse verschiedener Gruppen treffen zu können, wurden spezielle Algorithmen entwickelt, welche eine Rekonstruktion ancestraler Beziehungen erlauben. Diese Algorithmen lassen sich in zwei Kategorien unterteilen: Distanz-Matrix Methoden und merkmalsbezogene Methoden. Nach Distanz-Matrix-Methoden werden auf Distanz-Daten basierende Stammbäume erstellt. Zur Berechnung dieser Daten wurden verschiedene Modelle entwickelt (JUKES & CANTOR 1969, KIMURA 1980, JIN & NEI 1990). Zu den Distanz-Matrix-Methoden gehört z. B. die „Neighbour joining“-Methode (SAITOU & NEI 1987). Die Distanzen wurden mit dem Programm DNADIST, die Kladogramme mit dem Programm NEIGHBOR aus dem PHYLIP 3.55 Programmpaket (FELSENSTEIN 1989, 1993) berechnet.

Da es nicht möglich ist, aus den berechneten Distanzen der Distanz-Matrix auf die Ausgangsequenzen rückzuschließen (HILLIS et al. 1996), sollten zur Rekonstruktion von exakten Stammbäumen die Original-Sequenzdaten herangezogen werden. Dies ermöglichen zwei unterschiedliche Verfahren: Die Methode der sparsamsten Erklärung („Maximum parsimony“) und die der größten Wahrscheinlichkeit („Maximum likelihood“). Nach Maximum parsimony-Kriterien sind solche Positionen aussagekräftig, bei denen für unterschiedliche Verwandtschaftsverhältnisse unterschiedlich viele Mutationen angenommen werden müssen (LI & GRAUR 1991). Das Programm DNAPARS aus dem PHYLIP 3.55 Paket sowie PAUP 3.0 ermöglicht die Analyse der Daten nach dem Sparsamkeitsprinzip.

Bei der Maximum likelihood-Methode wird die Wahrscheinlichkeit für eine bestimmte Stammbaumtopologie ermittelt und die Topologie mit der größten Wahrscheinlichkeit als Ergebnis ausgegeben. Für Sequenzdaten modifizierte FELSENSTEIN (1981) die Methode und integrierte sie mit dem Programm DNAML in das PHYLIP 3.5c Programmpaket.

3. Ergebnisse:

3.1. Die ITS1 Region:

Die durchschnittliche Gesamtlänge des ITS 1 bestand bei *Platynothrus peltifer* aus 414 bp, bei *Heminothrus thori* aus 413 bp und bei *Nothrus silvestris* aus 433 bp. Die GC-Gehalte betragen bei *P. peltifer* 40,96 %, bei *H. thori* 39,23 % und bei *N. silvestris* 44,46 %. Die intraindividuelle Variabilität lag für *P. peltifer* bei 4,1 % (ermittelt aus 5 Wie-

rechneten Kladogramme sind „Consensus“-Kladogramme, welche nicht ein tatsächlich existierendes Kladogramm wiedergeben müssen. Nur das Neighbour joining Verfahren liefert als Ergebnis nur einen einzigen Stammbaum. Hier wurde ein „Consensus“-Kladogramm aus den Bootstrap-Wiederholungen berechnet.

PHYLIP – Neighbour joining:

Das berechnete Kladogramm trennt deutlich *H. thori* von *P. peltifer* (Abb. 1). Die intraindividuellen Sequenzen bilden jedoch keine zusammenhängende Gruppe. Vielmehr wird PDK 1d mit PDK 3 gruppiert und distanziert sich damit deutlich von den anderen Wiederholungen aus demselben Individuum. PDK 1c und PDK 1e sowie PDK 1a und PDK 1b sind sich jedoch so ähnlich, dass sie nach diesem Verfahren zusammengefasst werden. Insgesamt trennen sich innerhalb von *P. peltifer* zwei große Gruppen ab: PDK 4, PDK 1a, PDK 1b, PDW 1, PDK 2, PDK 1c und PDK 1e stehen PDE 4, PDB 1, PDE 3, PB 1, PGS 1, PDE 2, PDE 1, PDK 1d und PDK 3 gegenüber. Die Tiere aus Göttingen und Berlin trennen sich dabei nicht von denen aus Darmstadt.

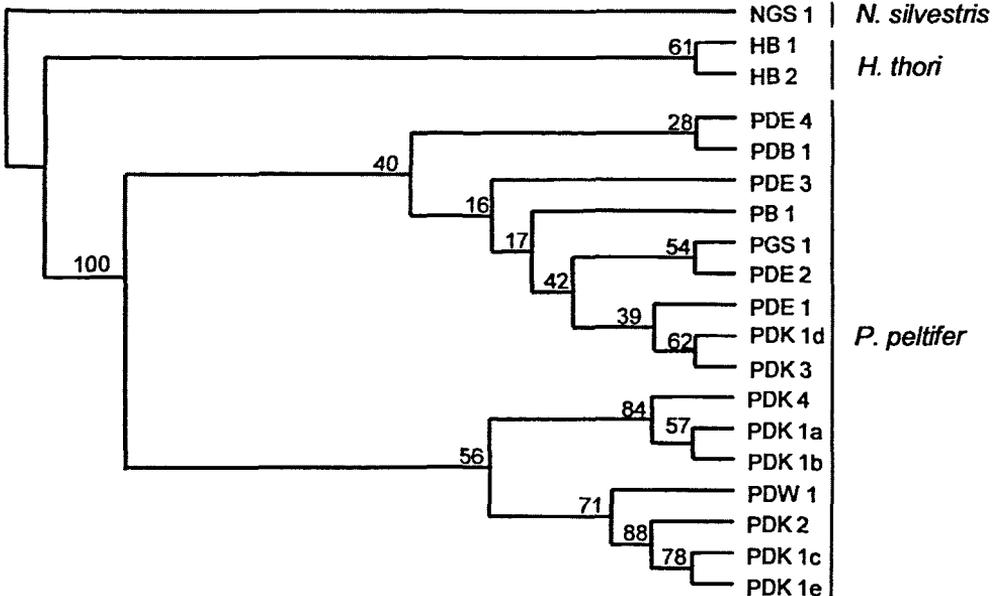


Abb. 1: „Consensus“-Stammbaum nach der Neighbour joining-Methode in PHYLIP 3.5c. Als Außengruppe wurde *N. silvestris* definiert. Zur Bedeutung der Abkürzungen s. Tab. 1. Die Berechnung der Distanzen erfolgte nach der JIN & NEI-Methode, es wurde eine Transitions-Transversions-Rate von 1,4 zugrunde gelegt. Der dargestellte „Consensus“-Baum wurde aus 100 Bootstrap-Wiederholungen berechnet. Die Zahlen an den Verzweigungspunkten geben die „Bootstrap“-Werte an.

PHYLIP – Maximum likelihood:

Auch bei dieser Methode wird *H. thori* von *P. peltifer* getrennt (Abb. 2). Ebenso werden die intraindividuellen Sequenzwiederholungen nicht in einer Gruppe zusammenge-

fasst, vielmehr gruppieren PDK 1e mit PDK 2, PDK 1d mit PDK 3 und PDK 1b mit PDK 4. PDK 1a und PDK 1c werden jeweils einem Paar von Sequenzen gegenübergestellt, die teilweise aus anderen Individuen stammen. Insgesamt fallen die Sequenzen auch hier in zwei große Gruppen, diese unterscheiden sich jedoch von denen der Neighbour joining-Methode (Abb. 1). So werden z. B. PDE 4 und PDE 3 bei beiden Verfahren unterschiedlichen Großgruppen zugeordnet. Auch innerhalb der beiden Großgruppen ist die Zuordnung unterschiedlich. So werden z. B. PDB 1 und PDE 1, die bei der Maximum likelihood-Methode eine Gruppe bilden, bei der Neighbour joining-Methode deutlich getrennt.

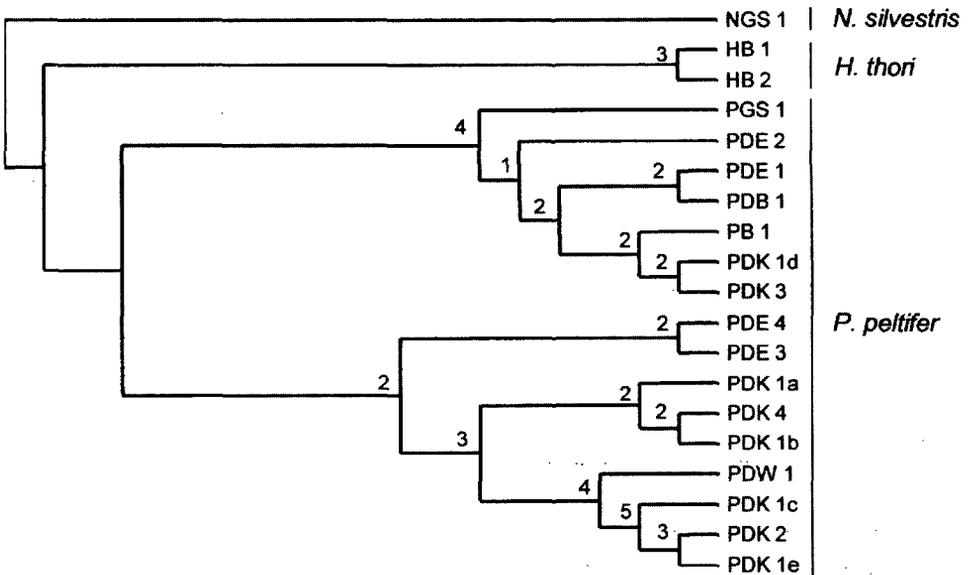


Abb. 2: „Consensus“-Stammbaum nach der Maximum likelihood-Methode in PHYLIP 3.5c. Als Außengruppe wurde *N. silvestris* definiert. Zur Bedeutung der Abkürzungen s. Tab. I. Diese aufwendige Methode beansprucht die meiste Rechnerkapazität (HOLMES 1999). Daher wurden nur 5 Wiederholungen durchgeführt. Die Zahlen an den Verzweigungspunkten geben die Häufigkeiten der Verzweigung in den 5 berechneten Kladogrammen an.

PHYLIP – Maximum parsimony:

Auch diese Methode trennt *P. peltifer* von *H. thori* (Abb. 3). Ebenso streuen die intra-individuellen Wiederholungen von *P. peltifer* über das gesamte Kladogramm; PDK 1d gruppiert mit PDK 3, PDK 1b wird mit PDK 4 zusammengefasst. Eine Trennung der Sequenzen von *P. peltifer* in zwei Großgruppen erfolgt bei diesem Verfahren nicht. PGS 1 steht jedoch wie bei der Neighbour joining-Methode und der Maximum likelihood-Methode wieder nahe bei PDE 2; auch wird wie bei der Maximum likelihood-Methode PDE 1 mit PDB 1 wieder zu einer Gruppe zusammengefasst. Im Gegensatz zu den beiden anderen Methoden wird jedoch PB 1 sämtlichen anderen Sequenzen von *P. peltifer* gegenübergestellt.

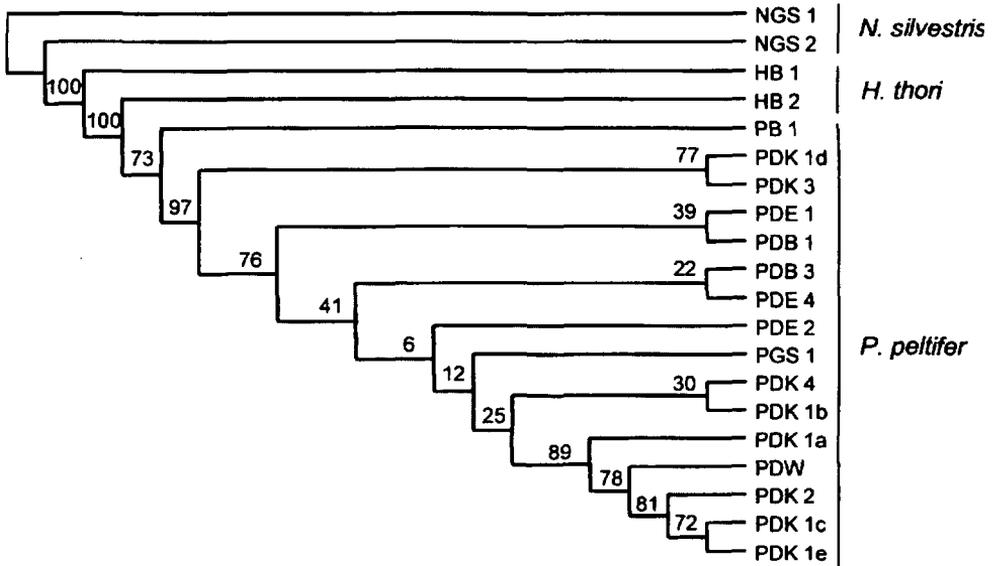


Abb. 3: „Strict consensus“-Stammbaum nach der Maximum parsimony-Methode in PHYLIP 3.5c. Als Außengruppe wurde *N. silvestris* definiert. Zur Bedeutung der Abkürzungen s. Tab. 1. Das dargestellte Kladogramm ist ein „Consensus“-Kladogramm aus 100 Bootstrap-Wiederholungen. Die Zahlen an den Verzweigungspunkten geben die „Bootstrap“-Werte an. Bei dieser Analyse ist es wichtig, dass zwei Sequenzen des Außengruppenvertreters mit einbezogen werden, um Unterschiede zwischen der Außen- und der Innengruppe als aussagekräftige Merkmale zu erhalten.

PAUP – Maximum parsimony:

Im Gegensatz zu PHYLIP ist PAUP in der Lage, unsichere Aufspaltungen als Polytomien wiederzugeben (Abb. 4; MEIER 1992). *H. thori* und *P. peltifer* werden auch hier getrennt. Innerhalb der *P. peltifer*-Gruppe werden drei Gruppierungen vorgenommen: PDW 1, PDK 2, PDK 1c und PDK 1c werden mit PDK 1a, PDK 4 und PDK 1b den restlichen Sequenzen gegenübergestellt. Intraindividuelle Wiederholungen finden sich dabei in jeder der drei Gruppen. Innerhalb dieser drei Gruppen werden keine weiteren Aufspaltungen vorgenommen, die einzelnen Sequenzen werden als „Heugabel“ miteinander verbunden.

4. Diskussion:

4.1. Computergestützte Sequenzanalysemethoden:

Bei phylogenetischen Analysen mit Merkmalstabellen, bei denen es nicht zu vielen Merkmalskonflikten kommt, ist eine traditionelle Analyse „von Hand“ durchaus möglich (MEIER 1992). Große Merkmalstabellen, wie sie bei Analysen molekularer Daten zustande kommen, erfüllen dieses Kriterium jedoch meist nicht, so dass eine Auswertung von Hand nur schwer oder gar nicht möglich ist (ARNOLD & DUNCAN 1984, SANDERSON & DONOGHUE 1989). Daher ist die unterstützende Verwendung von Computerprogrammen ein unver-

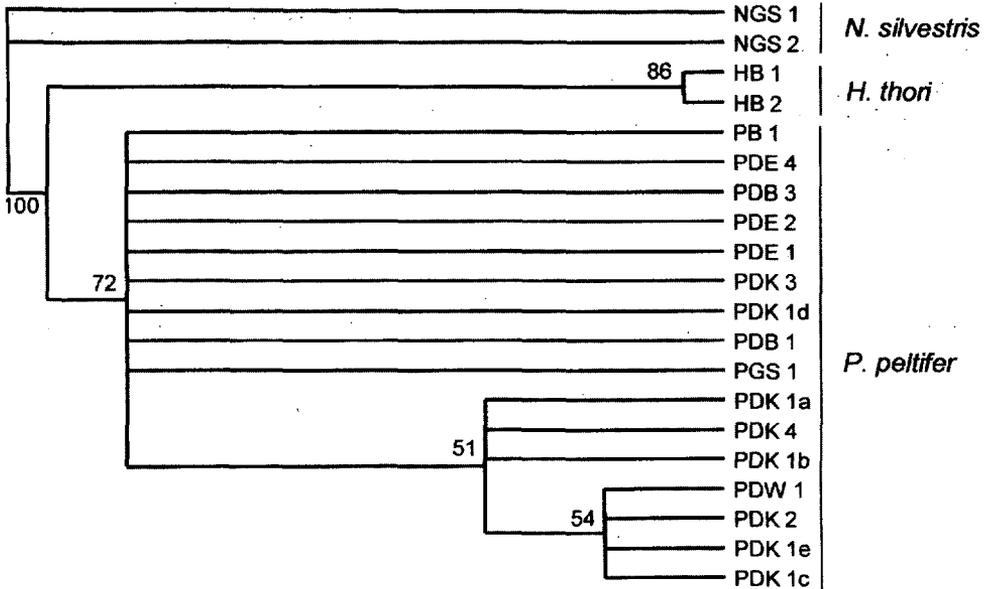


Abb. 4: „Consensus“-Stammbaum nach der Maximum parsimony-Methode in PAUP 3.0. Als Außengruppe wurde *N. silvestris* definiert. Zur Bedeutung der Abkürzungen s. Tab. 1. Die Zahlen an den Verzweigungspunkten geben die „Bootstrap“-Werte an. Der Consistency-Index beträgt 0,88, der Retention-Index 0,88 und der Rescaled-Consistency-Index liegt bei 0,77.

zichtbares Hilfsmittel zur Analyse molekularer Merkmalstabellen geworden. Die computergestützte Rekonstruktion von Kladogrammen ist eine kontrovers diskutierte Arbeitsrichtung in der Biostatistik (MEIER 1992, HILLIS et al. 1996, HOLMES 1999). Meist werden drei mathematische Verfahren verwendet: Neighbour joining, Maximum likelihood und Maximum parsimony. Die Neighbour joining-Methode zählt zu den distanzbasierenden Rechenalgorithmen. Statistisch ist die Methode zu den parametrischen Tests zu zählen (LI 1997, HOLMES 1999). Parametrische Tests untersuchen typische Parameter der Verteilung, sie sind hinsichtlich der Genauigkeit ihrer Aussagen stärker als parameterfreie Tests, sie erfordern jedoch klar definierte Voraussetzungen wie z. B. Normalverteilung der Daten. Ob Sequenzdaten diese Voraussetzungen erfüllen, ist fraglich und schwer zu prüfen. Die Rekonstruktion der Ausgangssequenzen aus den Distanzwerten ist nicht möglich (HOLMES 1999). Da jedoch eine große Menge an Daten bearbeitet werden kann und die Ergebnisse meist mit denen genauer Analysen konform sind; sind die Distanz-Matrix-Methoden die meistgenutzten Analysemethoden (HILLIS et al. 1996).

Die Maximum likelihood-Methode ist ebenfalls ein parametrischer Test und bezieht den kompletten Datensatz an Sequenzen in die Stammbaumberechnungen mit ein (MEIER 1992, LI 1997, HILLIS et al. 1996). Es wird davon ausgegangen, dass selbst solche Positionen, die in allen Taxa identisch sind, Informationen über die relative Frequenz variabler

Positionen im Datensatz liefern können (HOLMES 1999). Der berechnete Stammbaum ist der aufgrund der gegebenen parametrischen Annahmen wahrscheinlichste. Die Methode wird von Biologen wegen ihrer sehr aufwendigen Berechnung und vor allem wegen fehlendem biologischen Realitätsbezug der parametrischen Annahmen relativ wenig benutzt (HOLMES 1999). Da sie jedoch als einzige Methode mit dem kompletten Datensatz arbeitet, wurde sie in dieser Arbeit vergleichend angewendet.

Die Maximum parsimony-Methode ist ein parameterfreier Test und versucht aus allen möglichen Verwandtschaftsdiagrammen diejenigen zu finden, für welche die geringste Anzahl an Mutationen notwendig ist. Sind die beobachteten Merkmale hochvariabel oder finden sich viele Autapomorphien im gesuchten Diagramm, so sind Berechnungen mit dieser Methode nicht ausführbar (HILLIS et al. 1996). Durch die Reduktion des Datensatzes auf aussagekräftige Positionen werden Merkmale, die nur eine einzelne Gruppe gegen die anderen abtrennen, nicht beachtet (LI 1997, HOLMES 1999).

4.2. Vergleich von PHYLIP und PAUP:

PHYLIP (FELSENSTEIN 1989, 1993) und PAUP (SWOFFORD 1990) sind die mit am meisten für kladistische Analysen verwendeten Programme. PHYLIP hat keine zuverlässigen Optionen, die wirklich alle sparsamsten Kladogramme finden. Ein großes Problem bei der Benutzung von PHYLIP ist, dass in der Ergebnisdatei alle Polytomien in Dichotomien aufgebrochen werden, auch wenn diese nicht durch ein Merkmal begründet sind (MEIER 1992). PAUP ist hingegen in der Lage, Polytomien darzustellen. PHYLIP erlaubt nur die Definition einer Außengruppe, wohingegen bei PAUP mehrere Taxa als Außengruppen definiert werden können. Bei heuristischen Annäherungen an den tatsächlichen Stammbaum verwendet PHYLIP die ersten drei Taxa des Datensatzes und ordnet diesen nacheinander je ein weiteres Taxon an der entsprechenden Stelle zu. PAUP beginnt anders: zuerst werden die drei Taxa gesucht, die zusammen das kürzeste Kladogramm ergeben und diesen werden dann schrittweise die anderen Taxa zugeordnet (HILLIS et al. 1996). PAUP 3.0 basiert ausschließlich auf der merkmalsbasierenden Maximum parsimony-Methode, wohingegen PHYLIP wahlweise sowohl distanzbezogene (Neighbour joining) als auch merkmalsbezogene Methoden (Maximum parsimony und Maximum likelihood) beinhaltet. Die aktuellste PAUP-Version (PAUP 4.0) beinhaltet jedoch nun auch Algorithmen für Neighbour joining- und Maximum likelihood-Berechnungen.

4.3. Vergleich der Kladogramme:

Alle Verfahren trennen die beiden Arten *P. peltifer* und *H. thori*. Mit Ausnahme des Maximum parsimony-Verfahrens unter PHYLIP werden die beiden Individuen von *H. thori* zu einer monophyletischen Gruppe zusammengefasst. Dagegen werden die intraindividuellen Wiederholungen in keinem der Verfahren zusammen gruppiert, sie sind jeweils über das gesamte Kladogramm verteilt. Bei allen Methoden treten zwei Teilgruppen auf, die zueinander in enger Nachbarschaft stehen, diese bestehen zum Einen aus PDK 4, PDK 1b und PDK 1a und zum Anderen aus PDW 1, PDK 2, PDK 1c und PDK 1e. Die Aufspaltung

gen innerhalb dieser Gruppen variieren bei den einzelnen mit PHYLIP durchgeführten Analysen, PAUP liefert hier nur eine gleichberechtigte Aufspaltung zu „Heugabeln“. Neben diesen konsistenten Gruppierungen lassen sich bei PHYLIP in Abhängigkeit von der angewandten Methode noch verschiedene Gruppierungen finden. PHYLIP liefert bei jedem Rechenalgorithmus einen Zusammenschluss von PDK 1d und PDK 3, dieses Ergebnis deckt sich nicht mit der Analyse unter PAUP, wo sie gleichberechtigt mit weiteren Sequenzen den zwei anderen Gruppen gegenübergestellt werden.

In allen Verfahren wurden die drei Spezies *Nothrus silvestris*, *Heminothrus thori* und *Platynothrus peltifer* sicher voneinander getrennt. Sind die Unterschiede zwischen den zu vergleichenden Sequenzen also groß, so hat die Wahl des Berechnungsverfahrens auf die Topologie des Kladogramms keinen starken Einfluss. Anders ist dies, wenn die Variabilitäten zwischen den einzelnen Datensätzen vergleichsweise klein und inkonsistent sind. Ist das der Fall, so kann die Auswahl des Verfahrens durchaus ausschlaggebend für die Topologie des Stammbaums sein. Besonders der Vergleich der drei unter PHYLIP berechneten Kladogramme zeigt, dass sowohl endständige als auch basale Verzweigungen in Abhängigkeit des Berechnungsalgorithmus variieren können. Der Neighbour joining-Stammbaum zeigt eine Aufspaltung in zwei Gruppen (PDK 4, PDK 1b, PDK 1a, PDW 1, PDK 2, PDK 1c, PDK 1e und PDE 4, PDB 1, PDE 3, PB 1, PGS 1, PDE 2, PDE 1, PDK 1d, PDK 3) mit einem Bootstrap-Wert von 100. Dieser hohe Wert scheint über die Sicherheit der Trennung dieser beiden Gruppen keinen Zweifel zu lassen. Unter Verwendung des Maximum likelihood-Verfahrens und des Maximum parsimony-Verfahrens lassen sich diese beiden Gruppen jedoch nicht wiederfinden. Diese Widersprüchlichkeit der Kladogramme lässt sich einerseits durch die verschiedenen Rechenalgorithmen der Analysen erklären, andererseits ist auch die Eigenschaft von PHYLIP, Polytomien in Dichotomien umzuwandeln eine potentielle Quelle solcher Fehldarstellungen. Ein wesentlicher Vorteil von PAUP ist die Möglichkeit, Polytomien darzustellen, was besonders bei geringen und inkonsistenten Variabilitäten sinnvoll ist. Alle Verzweigungsmuster, die in den verschiedenen PHYLIP-Kladogrammen variieren, sind in PAUP als „Heugabel“ dargestellt. Nur Gruppen, die sich sicher voneinander trennen lassen, werden dichotom verzweigt (PB 1, PDE 4, PDE 3, PDE 2, PDE 1, PDK 3, PDK 1d, PDB 1, PGS 1 sowie PDK 1a, PDK 4, PDK 1b und PDW 1; PDK 2, PDK 1e, PDK 1c). Diese drei Gruppen lassen sich auch in allen PHYLIP-Stammbäumen wiederfinden, wenn auch mit unterschiedlichen Verzweigungsmustern.

4.4. Einordnung von *Platynothrus peltifer*:

Enzymelektrophoretische Untersuchungen an *Platynothrus peltifer* brachten keine Hinweise für die Existenz verschiedener Genotypen in unterschiedlichen Habitaten (VERA-ZIEGLER et al. 1990). Da enzymelektrophoretische Verfahren sich jedoch nur bedingt eignen, um verschiedene Genotypen einer parthenogenetischen Art zu identifizieren (VRIJENHOEK 1998), wurde in dieser Arbeit die Methode des direkten DNA-Vergleichs gewählt. Die ribosomalen Gene liegen vielfach wiederholt im Kerngenom vor. Bei *P. peltifer* vari-

ieren diese Wiederholungen um 4,1 % (diese Variabilität wurde bisher nur durch den Vergleich von 5 Wiederholungen der ITS 1 Region aus einem Individuum ermittelt). Diese Variabilität spricht gegen das Prinzip der „concerted evolution“, lässt sich jedoch bei *P. peltifer* durch die eingeschränkte Rekombination bei der Meiose der automiktischen Tiere erklären. Zur Untersuchung der genotypischen Diversität muß demnach die intraspezifische Variabilität mit der intraindividuellen verglichen werden. Zwei einzelne Sequenzen aus verschiedenen Individuen sollten sich deutlich stärker voneinander unterscheiden als zwei Sequenzen aus einem Individuum, um auf das Vorhandensein von zwei verschiedenen Genotypen schließen zu können. Die DNA-Variabilität zwischen den Tieren der unterschiedlichen Habitats und Gebiete lag bei 4,3 %, also in der gleichen Größenordnung wie die intraindividuellen Unterschiede. Die im Vergleich zur intraindividuellen extrem geringe intraspezifische Variabilität bei *P. peltifer* deutet darauf hin, dass möglicherweise alle untersuchten Individuen einen identischen Genotyp besitzen könnten. Parthenogenetische Arten, die bei geringer genotypischer Diversität eine sehr breite ökologische Valenz besitzen, wurden von LYNCH (1984) als Arten mit einem „general purpose genotype“ bezeichnet. Ein solcher Genotyp zeigt im Laufe der Zeit eine geringere Fitness-Varianz als verschiedene, an Faktoren, welche in der Zeit variieren können, stark angepasste Genotypen, und sollte sich daher in evolutionär langen Zeiträumen durchsetzen. Er ist daher vor allem bei alten parthenogenetischen Arten zu erwarten. *P. peltifer* könnte eine solche Art zu sein, da sich ihr Genotyp weder lokal zwischen verschiedenen Habitats noch regional deutlich differenziert und sie seit dem Devon fossil belegt ist. Die geringe genetische Variabilität lässt sich jedoch auch alternativ über das Alter der untersuchten Populationen erklären. Alle untersuchten Populationen sind wahrscheinlich postglazial entstanden und könnten somit aus einer einzigen Gründerpopulation hervorgegangen sein. Dieses relativ junge Alter der Populationen könnte die geringe Anzahl an Mutationen im ITS 1 Bereich erklären. Die beiden Hypothesen könnten durch die Untersuchung von Tieren aus anderen Kontinenten und anderen glazialen Refugien überprüft werden.

5. Zusammenfassung:

Von *Platynothrus peltifer*, *Heminothrus thori* und *Nothrus silvestris* wurden mehrere Individuen aus Wäldern in der Region von Darmstadt (*P. peltifer*), Göttingen (*P. peltifer*, *N. silvestris*) und Berlin (*P. peltifer*, *H. thori*) gesammelt. Die genomische DNA wurde isoliert und die Region des ribosomalen „internal transcribed spacer 1“ (ITS1) wurde mittels PCR amplifiziert und sequenziert. Die rund 415 bp langen Sequenzen wurden mit unterschiedlichen Verfahren in den phylogenetischen Computerprogrammen PHYLIP 3.5c und PAUP 3.0 analysiert, wobei *N. silvestris* als Außengruppe festgelegt wurde. Bei *P. peltifer* lag die intraindividuelle Variabilität bei 4,1 % und die interindividuelle bei 4,3 %. Die hohe intraindividuelle Variabilität der ITS 1 Region deutet darauf hin, dass sich *P. peltifer* seit langer Zeit automiktisch mit eingeschränkter Meiose reproduziert. Daher sollte die interindividuelle Variabilität im Vergleich zur intraindividuellen gedeutet werden. Die interspezifische Variabilität zwischen *P. peltifer* und *H. thori* betrug 8,4 %. Die phylogenetischen

Analysen deuten darauf hin, dass die untersuchten Individuen von *P. peltifer* aus Darmstadt, Göttingen und Berlin einen identischen Genotyp besitzen könnten. Dies würde den Schluss zulassen, dass *P. peltifer* einen „generalisierten Genotyp“ und damit eine breite ökologische Valenz besitzt.

Dank: Prof. F. K. Zimmermann von der TU Darmstadt für die Finanzierung der molekularbiologischen Arbeiten. Prof. G. Weigmann von der FU Berlin für die Bereitstellung von Tiermaterial.

6. Literatur:

- ALTSCHUL, S.F., T.L. MADDEN, A.A. SCHAFER, J. ZHANG, Z. ZHANG, W. MILLER & J. LIPMAN, J. (1997): Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. – Oxford University Press: 3389 - 3402.
- ARNHEIM, N. (1983): Concerted evolution of multigene families. –In: NEI, M. & R.K. KOEHN (eds.): Evolution of genes and proteins. Sinauer, Sunderland: 38 - 61.
- ARNOLD, E.N. & T. DUNCAN (1984): An introduction to computer-assisted cladistic analysis. – In: DUNCAN, T. & T.F. STUESSY (eds): Cladistics: Perspectives on the reconstruction of evolutionary history. Columbia University press: 295 - 298.
- BLOCK, W.C. (1965): The life histories of *Platynothrus peltifer* (Koch 1839) and *Damaeus clavipes* (Hermann 1804) (Acarina: Cryptostigmata) in soils of Pennine moorland. – *Acarologia* **7**: 735 - 743.
- CHALWATZIS, N., J. HAUF, Y. VAN DE PEER, R. KINZELBACH & F.K. ZIMMERMANN (1996): 18S Ribosomal RNA Genes of Insects: Primary Structure of the Genes and Molecular Phylogeny of the Holometabola. – *Ann. Entomol. Soc. Am.* **89** (6): 788 - 803.
- COLEMAN, A.W. & J.C. MAI (1997): Ribosomal DNA ITS-1 and ITS-2 Sequence Comparisons as a Tool for Predicting Genetic Relatedness. – *J. Mol. Evol.* **45**: 168 - 177.
- FELSENSTEIN, J. (1981): Evolutionary trees from gene frequencies and quantitative characters: finding maximum likelihood estimates. – *Evolution* **35**: 1229 - 1242.
- (1989): PHYLIP – Phylogeny Inference Package (vers. 3.2.). – *Cladistics* **5**: 164 - 166.
- (1993): PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c, distributed by the author. – Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- FIELD, K.G., G.J. OLSEN, D.J. LANE, S.J. GIOVANNONI, M.T. GHISLEIN, E.C. RAFF, N.R. PACE & R.A. RAFF (1988): Molecular phylogeny of the animal kingdom. – *Science* **239**: 748 - 753.
- GRANDJEAN, F. (1941): Statistique sexuelle et parthénogenèse chez les Qribates (Acarieus). – *C. R. Seanc. Acad. Sci.* **212**: 463 - 467.
- HAARLØV, N. (1960): Micro-arthropods from Danish soils. Ecology, phenology. – *Oikos, supplementum* **3**: 176 pp.
- HARTENSTEIN, R. (1962): Soil Oribatei. V. Investigations on *Platynothrus peltifer* (Acarina: Camisiidae). – *Ann. Ent. Soc. Am.* **55** (6): 709 - 713.
- HILLIS, M.D. & M.T. DIXON (1991): Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. – *Quat. Rev. Biol.* **66** (4): 411 - 453.
- HILLIS, M.D., M.C. MORITZ & B.K. MABLE (1996): *Molecular Systematics*. – Sinauer Associates, Canada.
- HOLMES, S.P. (1999): Phylogenies: An overview. – In: HALLORAN, M.E. & G. SEYMOR (eds.): *Statistics in Genetics*: 81 - 118.
- JIN, L. & M. NEI (1990): Limitations of the evolutionary parsimony method of phylogenetic analysis. – *Mol. Biol. Evol.* **7**: 82 - 102.

- JUKES, T.H. & C.R. CANTOR (1969): Evolution of protein molecules. – In: MUNORO H.N. (ed.): Mammalian protein metabolism. Academic Press, New York: 21 - 132.
- KEMPSON, D., M. LLOYD & R. GHELARDI (1963): A new extractor for woodland litter. – *Pedobiologia* **3**: 1 - 21.
- KIMURA, M. (1980): A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequence. – *J. Mol. Evol.* **16**: 111 - 120.
- KUPERUS, W.R. & W. CHAPCO (1994): Usefulness of Internal Transcribed Spacer Regions of Ribosomal DNA in Melanoptera (Orthoptera: Acrididae) Systematics. – *Ann. Entomol. Soc. Am.* **87** (6): 751 - 754.
- LEWIN, B. (1994): *Genes V.* – Oxford, 1272 pp.
- LI, W.H. (1997): *Molecular evolution.* – Sinauer, Boston.
- LI, W.H. & D. GRAUR (1991): *Fundamentals of Molecular Evolution.* – Sunderland, Massachusetts.
- LUXTON, M. (1972): Studies on the oribatid mites of a Danish beech wood soil. I. Nutritional biology. – *Pedobiologia* **12**: 434 - 463.
- LYNCH, M. (1984): Destabilizing hybridization, general-purpose genotypes and geographic parthenogenesis. – *Quat. Rev. Biol.* **59**: 257 - 290.
- MARAUN, M. (1997): Hornmilben (Oribatida) in Buchenwäldern: Nahrungsbiologie und Einfluß auf Stoff-Flüsse. – *Berichte des Forschungszentrums Waldökosysteme, Reihe A, Bd. 143.*
- MEIER, R. (1992): Der Einsatz von Computern in phylogenetischen Analysen – eine Übersicht. – *Zool Anz.* **229** (3/4): 106 - 133.
- MILLER, O.M. & B.R. BEATTY (1969): Visualisation of nuclear genomes. – *Science* **164**: 955 - 957.
- MOLINA, F.I., T. INOUE & S.C. JONG (1992): Restriction polymorphisms in the internal transcribed spacers and 5.8S rDNA of *Saccharomyces*. – *Curr. Microbiol.* **25** (5): 251 - 255.
- NAVAJAS, M., J. LAGNEL, J. GUTIERREZ & P. BOURSOT (1998): Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrast with extensive mitochondrial COI polymorphism. – *Heredity* **80**: 742 - 752.
- NORTON, R.A., S.C. PALMER & H.-F. WANG (1986): Parthenogenesis in Nothridae and related groups. – In: CHANNABASAVANNA, G.P. & C.A. VIRAKATAMATH (eds.): *Progress in Acarology 1*, Oxford & IBH, New Delhi: 255 - 259.
- NORTON, R.A., P.M. BONAMO, J.D. GRIERSON & W.A. SHEAR (1988): Oribatid mite fossils from a terrestrial Devonian deposit near Gilboa, New York. – *J. Paleont.* **62**: 259 - 269.
- OLIVER, J. (1971): Parthenogenesis in mites and ticks. – *Amer. Zool.* **11**: 283 - 299.
- PATTERSON, C. (1988): Homology in classical and molecular biology. – *Mol. Biol. Evol.* **5** (6): 603 - 625.
- SAIKI, R.K., S. SCHARF, F. FALOONA, K.B. MULLIS, G.T. HORU, H.A. ERLICH & N. ARNHEIM (1985): Enzymatic amplification of β -globin sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. – *Science* **230**: 1350 - 1354.
- SAITOU, N. & M. NEI (1987): The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. – *Mol. Biol. Evol.* **4** (4): 406 - 425.
- SAMBROOK, J., E.F. FRITSCH & T. MANIATIS (1989): *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. – Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- SANDERSON, M.J. & M.J. DONOGHUE (1989): Patterns of variation in levels of homoplasy. – *Evolution* **43**: 1781 - 1795.
- SANDER, F., S. NICKLEN & M. COULSON (1977): DNA sequencing with chain terminating inhibitors. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **162**: 463 - 467.
- SCHEU, S. & M. FALCA (2000): The soil food web of two beech forests (*Fagus sylvatica*) of contrasting humustype: stable isotope analysis of a macro- and a mesofauna-dominated community. – *Oecologia* **123**: 285 - 296.

- SIEPEL, H. (1990): Niche relationships between two panphytophagous soil mites, *Nothrus silvestris* Nicolet (Acari, Oribatida, Nothridae) and *Platynothrus peltifer* (Koch) (Acari, Oribatida, Camisiidae). – Biol. Fertil Soils **9**: 139 - 144.
- SWOFFORD, D.L. (1990): PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Version 3.0. – Illinois Natl. Hist. Surv., Champaign, IL.
- TABERLY, G. (1987): Recherches sur la parthénogénèse thélytoque de deux espèces d'acariens oribatides: *Trhypochthonius tectorum* (Berlese) et *Platynothrus peltifer* (Koch). III. Etude anatomique, histologique et cytologique des femelles parthénogénétiques. – Acarologia **28**: 389 - 403.
- TURBEVILLE, J.M., D.M. PFEIFER, K.G. FIELD & R.A. RAFF (1991): The phylogenetic status of arthropods, as inferred from the 18S rRNA. – Mol. Biol. Evol. **8** (5): 669 - 686.
- VERA-ZIEGLER, H., T. BACKELJAU & G. WAUTHY (1990): Alloenzyme Variation in Two Forest Populations of *Platynothrus peltifer* (Acari, Oribatida). – Biochem. Syst. and Ecol. **18** (1): 57 - 62.
- VRIJENHOEK, R.C. (1998): Clonal organisms and the Benefits of Sex. – In: CARVALHO, G.R. (ed.): Advances in Molecular Ecology, IOS Press: 151 - 172.
- WESSON, D.M., D.K. MCLAIN., J.H. OLIVER, J. PIESMAN & F.H. COLLINS (1993): Investigation of the validity of species status of *Ixodes dammini* (Acari: Ixoidae) using rDNA. – Proc. Natl. Acad. Sci. **90**: 10221 - 10225.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte des naturwissenschaftlichen-medizinischen Verein Innsbruck](#)

Jahr/Year: 2000

Band/Volume: [87](#)

Autor(en)/Author(s): Maraun Mark, Heethoff Michael, Scheu Stefan

Artikel/Article: [Genetische Variabilität der ribosomalen ITS1-Sequenzen bei der parthenogenetischen Hornmilbe *Platynothrus peltifer* \(C.L. Koch, 1839\). 339-354](#)