Genetische Populationsstruktur einer Übergangszone zweier *Gammarus-fossarum*-Formen

Jakob Müller, Christiane Stürzbecher und Sybille Martin

Synopsis
A transition zone between two previously described *Gammarus fossarum* forms from Central Europe (SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN 1989) was investigated by allozyme electrophoresis. It appeared that most populations along the chosen transect were pure populations of either one or the other *G. fossarum* form. However, a third class of populations was found along the river Rhein. These populations, showing strong excess of homozygotes, revealed to be populations subdivided into two clusters of the genetically distinct *G. fossarum* forms. One of these subdivided populations was studied intensively. There, hybridization between both forms seems to be rare. This is indicated because no F1-genotypes were detected, and mixed pairing and intermediate genotypes were seldom found. Possible factors for coexistence in syntopic *G. fossarum* populations, i.e spatial and temporal habitat partitioning, are currently investigated. There is indication for differential reproductive activity between the *G. fossarum* forms.

Gammarus fossarum, contact zone, genetic structure, allozymes.

Gammarus fossarum, Kontaktzone, genetische Struktur, Allozyme.

1. Einführung

Gammarus fossarum Koch, 1835 (Crustacea: Amphipoda) wird taxonomisch der sogenannten *Gammarus-pulex*-Gruppe zugeordnet (KARAMAN & PINKSTER 1977). Die morphologische Variabilität zwischen europäischen Populationen von *G. fossarum* ist vergleichbar zu der anderer Gammariden-Arten der *G. pulex*-Gruppe. Es wurden sowohl stabile charakteristische Merkmale (z.B. das Längenverhältnis von Endo- zu Exopodit am 3. Uropoden) als auch variable Merkmale (z.B. die Beborstung einzelner Extremitäten) beschrieben. Die geographische Verbreitung mehrerer variabler Merkmale zeigte jedoch kein übereinstimmendes Muster, so daß diese morphologische Variabilität als phänotypische Anpassung an verschiedene Umwelten gedeutet wurde (GOEDMAKERS 1972). Die genetische Differenzierung (Allozym-Variabilität) zwischen europäischen *G. fossarum*-Populationen erwies sich als deutlich ausgeprägt und war z.T. vergleichbar mit genetischen Unterschieden zwischen Arten der *G. pulex* Gruppe (SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN 1989). Das geographische Verbreitungsmuster der genetisch differenzierten *G. fossarum* Formen zeigte etwas mehr Regelmäßigkeit als das der morphologisch differenzierten Formen. So bezeichneten SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN (1989) die *G. fossarum* Formen des Erstbeschreibungsgebietes (Donaugebiet um Regensburg) als *G. fossarum sensu stricto* und die der anderen untersuchten Gebiete (in Belgien, Frankreich und der Schweiz) als *G. fossarum sensu lato.*

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit weitergehenden Fragestellungen, die Aufschluß über den taxonomischen Status der Art (bzw. des Artkomplexes) *G. fossarum* geben sollen. Es wurde nach Kontaktzonen der genetisch differenzierten *G. fossarum* Formen gesucht, um deren direkte gegenseitige Beeinflussung bei Kontakt zu untersuchen. Folgende Fragestellungen sind dabei von zentraler Bedeutung: Ist die Verbreitung der *G. fossarum*-Formen parapatrisch oder gibt es auch sympatrische Vorkommen? Kommt es zur Hybridisierung entlang der Kontaktzonen?

2. Methode

Zwischen dem Untersuchungsgebiet von *G. fossarum s.str.* (SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN 1989, SIEGISMUND & MÜLLER 1991) und dem belgischen Untersuchungsgebiet von *G. fossarum s.l.* (SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN 1989) wurde ein Transekt gelegt, entlang dessen Proben genommen wurden. Abbildung 1 zeigt die Probenorte mit ihren Abkürzungen. Die Populationsstichproben wurden mit einem feinmaschigen Handsieb genommen, wobei darauf geachtet wurde, daß alle Habitattypen des beprobten Baches berücksichtigt wurden. Die Tiere wurden sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren und aufbewahrt. Alle Transekt-Proben wurden im April 1994 genommen. Durchschnittlich wurden 59 adulte Individuen (Bereich: 44 bis 72) pro Probenort enzymelektrophoretisch analysiert (Methode nach HEBERT & BEATON 1989). Die genetische Variation (Allozyme) wurde an den folgenden 7 Enzym-kodie-

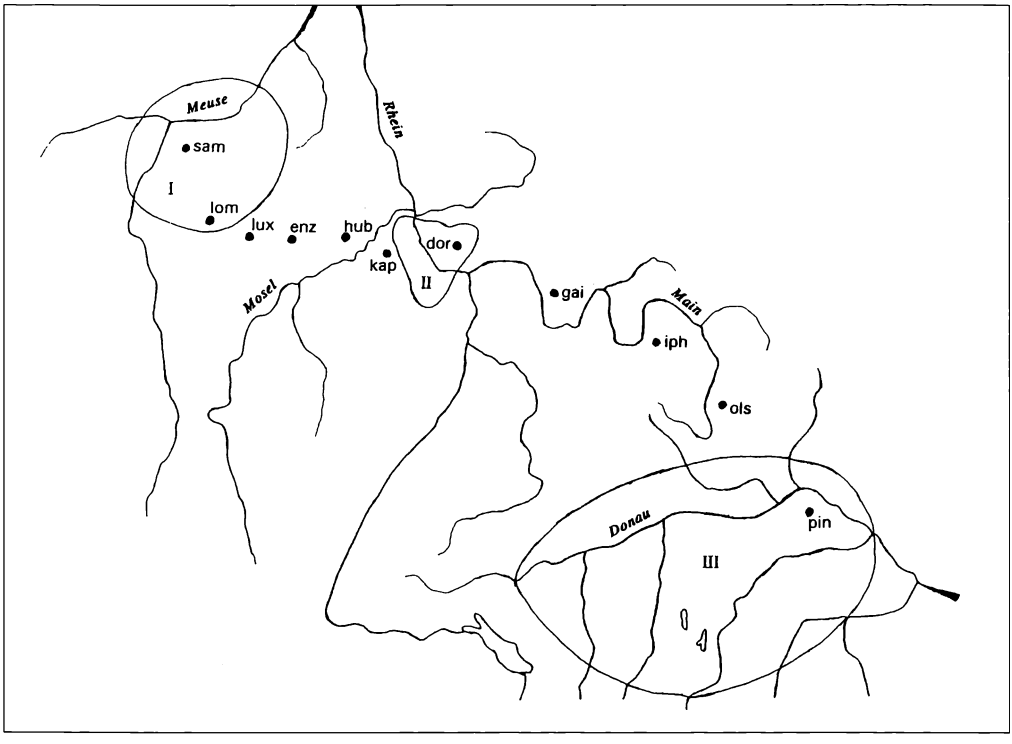

Abb. 1: **Probenorte des Transekts mit ihren Abkürzungen; Untersuchungsgebiet I: belgische *G. fossarum s.l.* Populationen von SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN (1989); Untersuchungsgebiet II: unterteilte Populationen von MARTIN & TROST (1993), MÜLLER und STÜRZBECHER (unveröffentlicht); Untersuchungsgebiet III: *G. fossarum s.str.* Populationen von SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN (1989) und SIEGISMUND & MÜLLER (1991).**

Fig. 1: **Sampling sites of the transect with their abbreviations; study area I: Belgian *G. fossarum s.l.* populations of SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN (1989); study area II: subdivided populations of MARTIN & TROST (1993), MÜLLER and STÜRZBECHER (unpublished); study area III: *G. fossarum s.str.* populations of SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN (1989) and SIEGISMUND & MÜLLER (1991).**

renden Loci ermittelt: Phosphoglucoseisomerase (PGI, EC 5.3.1.9), Mannosephosphatisomerase (MPI, EC 5.3.1.8), Glycin-Leucin Peptidase (PEP, EC 3.4.11 oder 13.*), Glutamatoxaloacetattransaminase I und II (GOT-I und GOT-II, EC 2.6.1.1) und Phosphoglucomutase fast und slow (PGM-f und PGM-s, EC 2.7.5.1). Die Allelfrequenzen, Heterozygotien, Abweichungen vom Hardy-Weinberg Gleichgewicht und RxC Tests wurden mit dem Programm G-Stat (SIEGISMUND 1993) berechnet. Zur Erstellung der genetischen Verwandtschaftsbäume dienten die Programmpakete PHYLIP (FELSENSTEIN 1993) und NTSYS (ROHLF 1990).

Eine der Transektpopulationen – die Population dor aus dem Überlappungsgebiet (siehe Abb.1) – wurde im Juni 1994 eingehender untersucht. Zusätzlich zur zufälligen Stichprobe der Adulten (240 Individuen) wurden getrennte Stichproben der sexuell aktiven (158 Paare) und sexuell inaktiven Tiere (216 Individuen) gesammelt. Als sexuell aktiv galten die Paare, die als sogenannte Präkopulae auftraten. Diese Präkopula-Paare wurden einzeln gesammelt, so daß Paarungshäufigkeiten der Genotypen ermittelt werden konnten.

3. Ergebnisse

Um die genetische Verwandtschaft zwischen den Transekt-Populationen darzustellen, wurde aus den Allelfrequenzen aller 7 Loci nach der 'maximum-likelihood' Methode (FELSENSTEIN 1981) ein Verwandtschaftsbaum konstruiert (Abb.2). Der Baum läßt drei Gruppen von Populationen erkennen: 1. Die Populationen gai, kap, hub, sam, lom und enz auf dem linken Ast. Sie schließen die belgischen *G. fossarum s.l.* Populationen (sam und lom) mit ein. 2. Die Populationen pin, ols und iph auf dem rechten Ast. Zu die-

ser Gruppe gehört auch die *G. fossarum s.str.* Population pin. 3. Die Populationen dor und lux liegen zwischen diesen beiden Gruppen. Um die beiden *G. fossarum* Gruppen auch sprachlich besser voneinander abzugrenzen, werden sie im folgenden als Form A (*G. fossarum s.str.*) und als Form B (belgische *G. fossarum s.l.*) bezeichnet. Die Zwischenpopulationen dor und lux könnten somit Hybridpopulationen oder aus beiden Formen gemischte (unterteilte) Populationen darstellen.

Inwieweit die beobachteten Genotypverteilungen von den nach Hardy-Weinberg erwarteten Verteilungen abweichen, läßt sich aus Abbildung 3 erkennen. Als Maß diente -log P(G), wobei P(G) die Wahrscheinlichkeit aus einem G-Test ist, daß die Genotypverteilung den Hardy-Weinberg Erwartungen entspricht (HEBERT & al. 1988). Dargestellt sind Mittelwerte über alle polymorphen Loci. Die stärksten Hardy-Weinberg Abweichungen zeigen die beiden Populationen der 3. oben erwähnten Gruppe (dor und lux). Am Verlauf des zweiten Parameters (1 – Het(obs)/Het(exp)), der die Abweichung der beobachteten Heterozygotie von der nach Hardy-Weinberg erwarteten Heterozygotie quantifiziert, läßt sich ablesen, daß die beiden Populationen dor und lux Homozygotenüberschuß besitzen. Dieses Ergebnis wird dahingehend interpretiert, daß diese beiden Populationen eine unterteilte Populationsstruktur haben; d.h. nicht panmiktisch sind.

Die Unterteilung der Population dor ist in Abbildung 4 sichtbar gemacht. Die Individuen der Zufallsstichprobe dieser Population wurden durch die Kombinationen der 7 Einzellocus-Genotypen charakterisiert, d.h sogenannten Multilocus- (ML-) Genotypen zugeordnet. Die genetische Verwandtschaft zwischen den beobachteten Multilocus-Genotypen, berechnet als Manhattan-Distanzen, wurde in einem UPGMA-Phänogramm dargestellt (Abb.4). Es lassen sich deutlich zwei Cluster erkennen, die sich aufgrund ihrer typischen Allele der *G. fossarum*-Form A

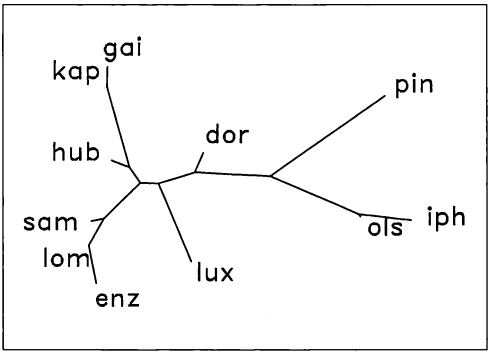

Abbildung 2
Genetische Verwandtschaft der Transsekt-Populationen; zur geographischen Lage der Probenorte siehe Abb.1.
Figure 2
Genetic relationship between transsect populations; for geographic location of these populations see figure 1.

bzw. Form B zuordnen lassen. ML-Genotypen, die ein oder zwei typische Allele des anderen Clusters (dem sie nicht zugeordnet werden) besitzen, können als Intermediäre bezeichnet werden. Diese intermediären Genotypen (Genotypen 10–13, 15–19, 24, 26–30, 33–34, 37, 39–41, 43) kamen in dieser Population zu diesem Zeitpunkt selten vor (14% der untersuchten Individuen). Potentielle F1-Hybride, die an allen 7 Loci heterozygot für die entsprechend typischen Allele der beiden Formen sind, wurden nicht gefunden.

Die beobachteten Paarungshäufigkeiten (d.h. Präkopula-Kombinationen) innerhalb und zwischen den Clustern (Formen) zeigt Tabelle 1. Es wurde nur eine Paarung zwischen den genetisch definierten Formen beobachtet.

Um zu sehen, ob sich die beiden Formen gleich häufig in den sexuell aktiven Individuen (Präkopula-

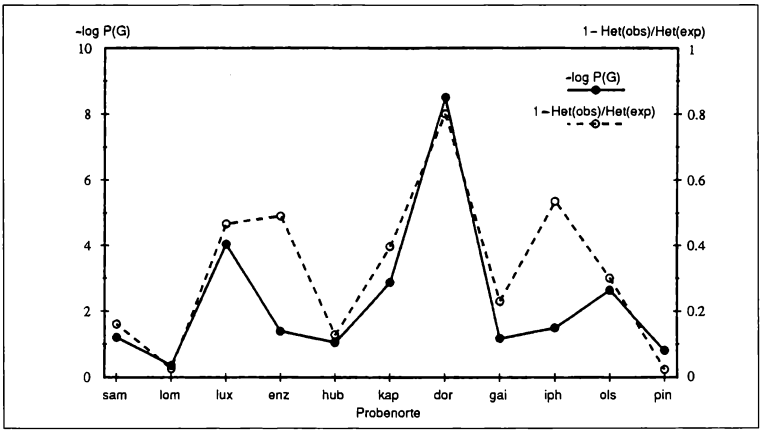

Abbildung 3
Abweichungen der beobachteten Genotypverteilungen von den nach Hardy-Weinberg zu erwartenden Verteilungen (siehe Text); Probenorte siehe Abb.1.

Figure 3
Deviations of observed genotypic frequency distributions from expected Hardy-Weinberg distributions (parameter see text); sampling sites see figure 1.

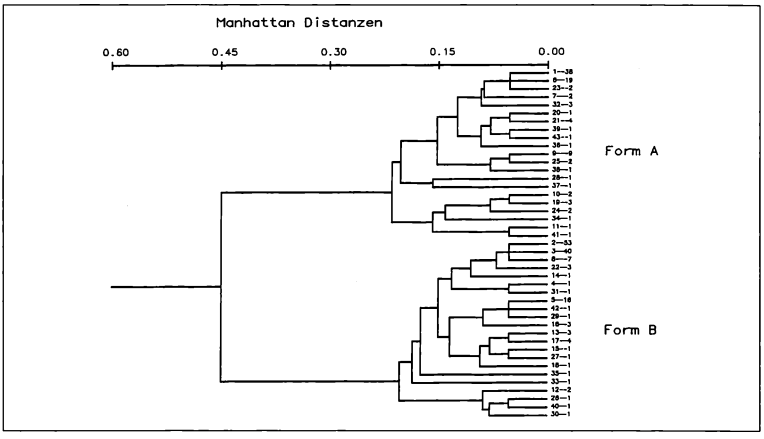

Abbildung 4
UPGMA-Phänogramm der ML-Genotypen; Population dor im Juni 1994; die ML-Genotypen sind mit ihrem Kürzel (1. Zahl) und ihrer absoluten Häufigkeit (2. Zahl) beschriftet.
Figure 4
UPGMA phenogram of ML-genotypes; population dor in June 1994; ML-genotypes are labeled with their identification number (1. number) and their absolute frequency (2. number).

Gruppe) und den sexuell inaktiven Individuen (Solisten-Gruppe) wiederfinden, wurde die Unabhängigkeit der Genotypverteilungen dieser beiden Gruppen getestet (Tab.2). An allen polymorphen Loci zeigten sich signifikante Unterschiede der Genotypverteilungen.

4. Diskussion

Entlang des Ost-West Transektes zwischen den von SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN (1989) charakterisierten belgischen *G. fossarum s.l.* Populationen und den bayrischen *G. fossarum s.str.* Populationen ließen sich die meisten Populationen den beiden *G. fossarum* – Formen zuordnen. Eine scharfe Grenze zwischen beiden Formen verläuft zwischen den Populationen gai und iph. Die Frequenzverschiebung aller im Transekt häufigen Allele ist zwischen diesen Populationen deutlich ausgeprägt. Konkordante Kline dieser Art sprechen für einen Sekundärkontakt zweier vorher genetisch differenzierter Gruppen (FUTUYMA 1990). Das Entstehen solch konkordanter Kline durch Primärkontakt ist eher unwahrscheinlich, da sich kein deutlicher Bruch in der Landschaftsstruktur erkennen läßt, der zu unterschiedlichen Selektionsbedingungen auf beiden Seiten der Grenze führen könnte. Es wird vermutet, daß sich die beiden *G. fossarum* Formen während einer eiszeitlichen Trennung genetisch differenzieren konnten (SCHEEPMAKER, pers. Mittl.).

Neben diesen reinen *G. fossarum* Populationen der einen oder anderen Form, fanden wir zwei Populationen (dor und lux) mit unterteilter genetischer Struktur. Diese Populationen charakterisierten sich durch starken Homozygotenüberschuß, was bisher in den zahlreich untersuchten europäischen Populationen sowohl von *G. fossarum s.l.* (SCHEEPMAKER & VAN DALFSEN 1989) als auch von *G. fossarum s.str.*

Tabelle 1
Häufigkeit der Präkopula-Kombinationen in der Population dor im Juni 1994
Table 1
Frequency of precopula combinations in population dor in June 1994

Präkopula	Anzahl
Form A - Form A	50
Form A - Form B	1
Form B - Form B	107

Tabelle 2
R x C-Tests (G-Tests) auf Unabhängigkeit der Genotyphäufigkeitsverteilungen zwischen Präkopula- und Solisten-Gruppe; N = Stichprobengröße; Population dor im Juni 1994.
Table 2
R x C tests for independence in distributions of genotypic frequencies between the precopulae and the singles subpopulation; N = sample size; population dor in June 1994.

Locus	N	G	FG	P
PGI	532	18,7	5	0,002 *
MPI	532	14,7	1	< 0,001 *
PEP	532	17,7	3	< 0,001 *
PGM-f	529	10,5	1	0,001 *
GOT-I	532	9,2	3	0,026 *
GOT-II	532	5,0	1	0,026 *

(SIEGISMUND & MÜLLER 1991) nicht beobachtet wurde. Anhand der Population dor konnte von uns gezeigt werden, daß sie sich in zwei genetisch disjunkte Cluster unterteilen läßt, die den beiden *G. fossarum* Formen entsprechen. In den Populationen dor und vermutlich auch lux kommen die beiden *G. fossarum* Formen also syntopisch vor. Ähnlich starke Hardy-Weinberg Abweichungen wurden in 35 weiteren von uns untersuchten lokalen Populationen aus dem Rheinischen Schiefergebirge (Untersuchungsgebiet II, Abb.1) gefunden. Es wird vermutet, daß sich sekundäre Kontaktzonen (bzw. Überlappungszonen mit syntopischem Vorkommen) entlang von Migrationsbarrieren ausgebildet haben. Für *G. fossarum*, der an die Oberläufe von Flüssen und Bächen angepasst ist (KARAMAN & PINKSTER 1977), könnten große Flüsse (wie z.B. der Rhein) oder trockene Tiefländer Migrationsbarrieren darstellen. Weitere geplante großräumige Untersuchungen sollen darüber Aufschluß geben, ob das geographische Muster der Kontaktzonen dem anderer Mittelgebirgsarten entspricht (VEITH 1992).

Die beiden *G. fossarum* Formen scheinen in der untersuchten syntopischen Population dor weitgehend reproduktiv isoliert zu sein. Sie zeigten positiv assortative Paarung (Tab.1) und F1-Hybride konnten nicht gefunden werden. Introgressive Hybridisierung (Auftreten von Mischpaarung und intermediären Genotypen) ist vermutlich selten. So könnte man hier von Geschwisterarten reden. Die *G. fossarum s.l.* Form sollte dann ihren alten Namen *Gammarus delabecquei* Chevreux & de Guerne, 1892 wiederbekommen (SCHEEPMAKER, pers. Mittl.). Als morphologisches Unterscheidungskriterium dieser Art könnten sich die relativ kürzeren Borsten an den 2. Antennen der Männchen herausstellen (eigene Beobachtungen).

Die möglichen Faktoren, die eine Koexistenz der beiden *G. fossarum* Formen im sympatrischen Gebiet ermöglicht, werden zur Zeit von uns untersucht. Hinweise einer unterschiedlichen Fortpflanzungsaktivität beider Formen (z.B. einer zeitlichen Trennung) liefert das Ergebnis aus Tabelle 2.

5. Literatur

FELSENSTEIN, J., 1981: Evolutionary trees from gene frequencies and quantitative characters: finding maximum likelihood estimates. – Evolution 35: 1229–1242.

FELSENSTEIN, J., 1993: PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Ver.3.5c. – Department of Genetics, University of Washington, Seattle, Washington.

FUTUYMA, D.J., 1990: Evolutionsbiologie. – Birkhäuser, Basel.

GOEDMAKERS, A., 1972: *Gammarus fossarum* Koch, 1835: Redescription based on neotype material and notes on its local variation (Crustacea, Amphipoda). – Bijdr. Dierk. 42: 124–138.

HEBERT, P.D.N. & M.J. BEATON, 1989: Methodologies for allozyme analysis using Cellulose Acetate electrophoresis: a practical handbook. – Helena Laboratories, Beaumont, Texas: 31 pp..

HEBERT, P.D.N., WARD, R.D. & L.J. WEIDER, 1988: Clonal-diversity patterns and breeding-system variation in *Daphnia pulex*, an asexual-sexual complex. – Evolution 42: 147–159.

KARAMAN, G.S. & S. PINKSTER, 1977: Freshwater *Gammarus* species from Europe, North Africa and adjacent regions of Asia (Crustacea-Amphipoda). Part I. *Gammarus pulex*-group and related species. – Bijdr. Dierk. 47: 1–97.

MARTIN, S. & E. TROST, 1993: Populationsgenetische Untersuchungen an *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) aus zwei heimischen Bachsystemen. – Diplomarbeit am Fachbereich Biologie, Zoologisches Institut der Universität Mainz.

ROHLF, F.J., 1990: NTSYS, Numerical taxonomy and multivariate analysis system ver.1.60, Exeter Software, Setauket, New York.

SCHEEPMAKER, M. & J. VAN DALFSEN, 1989: Genetic differentiation in *Gammarus fossarum* and *G. caparti* (Crustacea, Amphipoda) with reference to *G. pulex pulex* in northwestern Europe. – Bijdr. Dierk. 59: 127–139.

SIEGISMUND, H.R., 1993: G-Stat, ver.3, Genetical statistical programs for the analysis of population data. – The Arboretum, Royal Veterinary and Agricultural University, Horsholm, Denmark.

SIEGISMUND, H.R. & J. MÜLLER, 1991: Genetic structure of *Gammarus fossarum* populations. – Heredity 66: 419–436.

VEITH, M., 1992: The fire salamander, *Salamandra salamandra* L., in Central Europe: subspecies distribution and intergradation. – Amphibia-Reptilia 13: 297–313.

Adressen

Jakob Müller
Christiane Stürzbecher
Sybille Martin-Regn
Abt. Populationsbiologie
Zoologisches Institut
Johannes Gutenberg Universität
Saarstr. 21
55099 Mainz

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie

Jahr/Year: 1995

Band/Volume: 24_1995

Autor(en)/Author(s): Müller Jakob, Stürzbecher Christiane, Martin-Regn Sybille

Artikel/Article: Genetische Populationsstruktur einer Übergangszone zweier Gammarus-fossarum-Formen 139-143