Populationsgenetische Untersuchungen an Mittelmeerkolonien der »Unechten Karettschildkröte« *Caretta caretta*

Werner Schroth, Bernd Schierwater, Ulrich Joger und Bruno Streit

Synopsis
As documented in several studies by analyzing mitochondrial restriction-site-genotypes between globally distributed breeding colonies, nesting females of the two sea turtle species *Chelonia mydas* and *Caretta caretta* (family Cheloniidae) show a strong propensity for natal homing. The natal homing hypothesis was tested in geographically close nesting populations of loggerhead turtles (*C. caretta*) by means of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. The five investigated nesting sites on the Mediterranean coast of Turkey and Cyprus were discriminated from each other by measures of genetic dissimilarity, comparing the RAPD-fingerprints of all combinations of individuals. However, former studies suggested a male-mediated gene flow between rookeries. A comparison of the results of this nuclear-based study with a subsequently planned analysis of maternal lines (mt-DNA haplotypes) will provide a further method for quantitative measurements of the genetic exchange between neighbouring nesting colonies.

Meeresschildkröten, »Geburtsstrandprägung«, RAPD, genetischer Austausch
marine turtles, natal homing, RAPD-fingerprinting, gene flow

Einleitung

Meeresschildkröten gelten allgemein als eine besonders gefährdete Tiergruppe. Neben dem Fang von Jungtieren und Adulti ist infolge des massiv ansteigenden Tourismus die Reduktion der Niststrände von größter Bedeutung, so daß Untersuchungen sowohl zur Bestandsentwicklung, als auch zur Populationsgenetik notwendig sind. Die bisher existierenden Daten zur Populationsbiologie der im Erhebungsgebiet – östliches Mittelmeer – abundanten *Caretta caretta* basieren vorwiegend auf demographischen Studien (DODD 1988, GROOMBRIDGE 1990). Langfristige Untersuchungen zum Migrationsverhalten durch Markierung und Wiederfang, oder mit Hilfe von Satelliten-Telemetrie gestalten sich äußerst schwierig. Einer der Gründe liegt in der späten Erlangung der Geschlechtsreife (10–30 Jahre), so daß große Zeiträume für die Erhebung derartiger Daten überbrückt werden müssen.

Die Hypothese des *natal homing* (Geburtsstrandpräferenz) postuliert die ständige Rückkehr gravider Weibchen zu ihrem Geburtsstrand (CARR & CARR 1972, MEYLAN et al. 1990). Eine Konsequenz daraus kann die Manifestation einer »genetischen Niststrandlinie« über viele Generationen hinweg sein. Mit Hilfe der RAPD-Methode (***R**andom **A**mplified **P**olymorphic **D**NA*, WILLIAMS et al. 1990) soll die genetische Variabilität innerhalb und zwischen den Niststrandkolonien quantifiziert werden. Diese genetische Analyse bietet die Möglichkeit, die *natal homing*-Hypothese erstmals bei Niststränden von sehr geringer geographischer Distanz zu überprüfen.

Material und Methoden

Die Gewebeproben wurden von vier der Niststrände mit größter Individuendichte (BARAN & KASPAREK 1988) an der türkischen Mittelmeerküste gesammelt: Dalyan, Fethiye, Patara und Kumluca (Abb. 1). Bevorzugt wurden Herz oder Muskulatur verendeter Schlüpflinge und Embryonen gewählt. Von jedem Niststrand wurden 8 bis 12 Proben entnommen, wobei jede Probe von unterschiedlichen Gelegen stammt und somit jeweils das Genom einer elterlichen Linie repräsentiert. Zudem wurden drei Proben aus Zypern als Außengruppe der genetischen Analyse unterzogen. Die DNA-Isolation ergab bei Embryonen und länger toten Schlüpflingen eine DNA-Menge zwischen 50 und 200 ng/mg Gewebe, bei frisch gestorbenen ca. 500 ng/mg Gewebe.

RAPD-Analyse

Die Reaktion wurde in einem 9600 Perkin Elmer Cetus Thermocycler durchgeführt. Reaktionsansatz (12,5 µL): 1 x Amplifikationspuffer (BM); 0,1 mM jedes dNTP (BM); 3 pmol Primer (Operon, USA); 0,35 U Taq-Polymerase (BM) und 2–5 ng DNA-Matrize. Die Amplifikate wurden in 1,4% Agarosegelen unter Ethidiumbromidfärbung aufgetrennt und unter UV-Licht photographiert.

Die Muster der generierten Fingerprints wurden zur Auswertung in eine 0/1-Matrix überführt, wobei 1 das Vorhandensein und 0 das Fehlen eines DNA-Fragments definierter Länge charakterisiert. Unter Verwendung von PAUP 3.1 wurden mit den binär

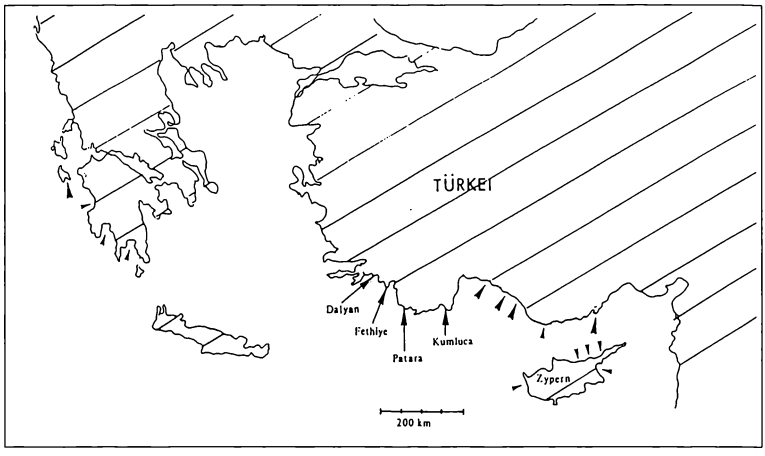

Abb. 1
Die wichtigsten Niststrände von *Caretta caretta* im Mittelmeer. Die Pfeilgröße verdeutlicht die Größe der Kolonien.

Fig. 1
Most important nesting sites of *Caretta caretta* in the Mediterranean Sea. Size of arrows indicates the size of the colonies.

codierten Fingerprints der *dissimilarity*-Koeffizient zwischen jeweils 2 Individuen errechnet. Der daraus resultierende Wert ist als Maß für die »Nicht-Ähnlichkeit«, oder genetische Distanz der beiden Fingerprint-Phänotypen zu verstehen. Als Korrelationsgröße zur genetischen Distanzmatrix diente eine geographische Distanzmatrix, wobei die Entfernungen zwischen den Niststränden in km/10 zugrundelagen.

Ergebnisse

Die Primer AB4, M4, M9, M12 und P2 (*Operon Technologies*) erwiesen sich als informativ, da sie polymorphe DNA-Marker auf Individuen- und Niststrandebene lieferten. Der mit Primer M12 erzielte Fingerprint zeigt Variation auf individueller Ebene (Abb. 2).

Da bislang kein niststrandspezifischer Marker gefunden wurde, der alle Individuen einer Kolonie charakterisiert, erfolgte die weitere Interpretation der Fingerprints über die mathematische Bewertung der paarweise errechneten Distanzkoeffizienten. In Abb. 3 sind die Mittelwerte der Distanzkoeffizienten zwischen drei Niststränden und der Referenzkolonie Dalyan aufgetragen. Der Test auf Korrelation zwischen geographischer Entfernung und genetischer Abgrenzung erfolgte über einen Distanzmatrixvergleich: Die Produkte gleicher Elemente von genetischer Distanz (Koeffizient x 100) und geographischer Distanz (geograph. Entfernung in km/10) wurden aufsummiert. Die erhaltene Schätzgröße, Mantels Z-Variable, wurde mit zufällig permutierten Werten für Z verglichen. Der Wert für Z sollte bei signifikanter Korrelation größer als alle zufällig generierten Werte sein (MANTEL 1967, SOKAL 1979). Die Permutationen für den Matrixvergleich aller 5 untersuchten Niststrände ergaben 5! = 120 mögliche Werte für Z im Bereich von 7025 und 7642. Zwei Werte lagen über der korrelierten Schätzgröße Z = 7633. Mit einer insgesamten Irrtumswahrscheinlichkeit von p = 0,025 (3/120) korreliert die genetische Distanz zwischen den Nistkolonien mit einer zunehmenden geographischen Entfernung.

Diskussion

Bisherige Untersuchungen zur Populationsgenetik und *natal homing* von Meeresschildkröten zeigten eine distinkte Abgrenzung geographisch sehr weit entfernter Nistkolonien bei Analyse maternaler Genotypen (BOWEN et al. 1992), oder die Abgrenzung zwischen Mittelmeer- und Atlantikpopulationen durch Cytochrom *b*-Sequenzanalysen (LAURENT et al. 1993). Andererseits ergaben RFLP-Daten von nuklearen *single-copy* Loci ein geringes Maß an genetischer Isolation, was auf einen durch Männchen vermittelten Genfluß zwischen benachbarten Kolonien mit z.B. gemeinsamen Nahrungsgebiet zurückgeführt wird (KARL et al. 1992). Im Gegensatz dazu weisen die RAPD-Daten auf einen eingeschränkten Genaustausch zwischen den untersuchten Niststränden hin. Möglicherweise läßt sich dies auf das sensitivere Genom-*screening* zurückführen, bei dem auch nicht kodierende, schneller evolvierende DNA-Loci erfaßt werden.

RAPD-Marker, die biparental vererbt werden, konstituieren sich zur Hälfte aus dem väterlichen Genom. Da bislang keine *natal homing*-Tendenz der Männchen zur Paarungszeit nachgewiesen wurde, weist die genetische Diversität geographisch relativ benachbarter Kolonien auf maternal bedingte Substrukturierung der untersuchten Mittelmeerkolonien hin. Ein durch Männchen vermittelter Genfluß durch multiple Paarungen zwischen migrierenden Männ-

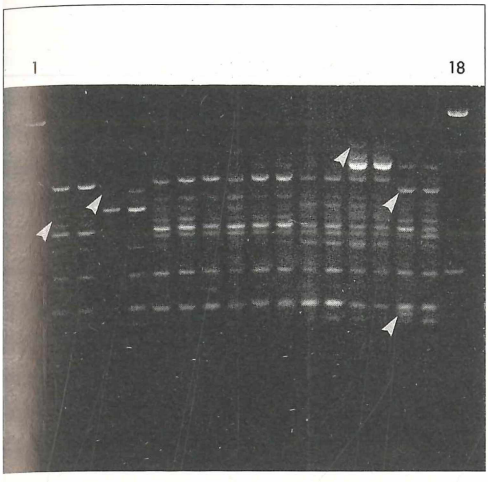

Abb. 2
Vom Primer M12 erzeugter Fingerprint mit jeweils zwei Replikaten. Die Pfeile zeigen individuelle Variationen. Fethiye (lane 2–7), Dalyan (lane 8–11), Kumluca (lane 12–15), Zypern (lane 16 und 17), Längenstandard in lane 1 und 18.
Fig. 2
Fingerprint, generated with M12 and two replicates for each individual. Arrows show individual variations.

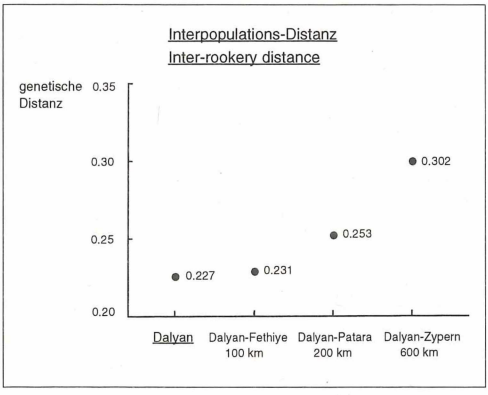

Abb. 3
Mittelwerte der jeweiligen genetischen Distanz zwischen den Nistkolonien Fethiye, Patara, Zypern und der Referenzkolonie Dalyan. Der Wert für Dalyan beschreibt die Variation innerhalb der Kolonie. Mit zunehmender geographischer Distanz wird die genetische Abgrenzung gegen Dalyan deutlicher.
Fig. 3
Level of genetic distance between each of three nesting sites and the rookery Dalyan. The genetic differentation between the compared rookeries correlates with geographic distance.

chen und Weibchen unterschiedlicher Nistkolonieherkunft muß postuliert werden.

Um das Ausmaß dieses Genflusses zu quantifizieren, sowie die postulierten Substrukturen innerhalb der gesamten Mittelmeerpopulation qualitativ abzuschätzen, werden die vorliegenden RAPD-Daten erweitert und Allelfrequenzen an mehreren Loci ermittelt. Untersuchungen mit maternal vererbten Markern, z.B. mt-DNA-RFLPs, können mit den daraus ermittelten mt-DNA-Haplotypen Aufschluß über distinkte maternale Linien geben und einer kladistischen Analyse unterzogen werden.

Die Erkenntnisse zur genetischen Diversität der untersuchten »Niststrandpopulationen« können unmittelbare Konsequenzen für einen effektiveren Artenschutz haben. Der Entwurf von Schutzprogrammen für *Caretta caretta* hätte – bei nachgewiesener Niststrandabgrenzung – jede Nistkolonie und deren Habitat als genetische Einheit bzw. als »Managementeinheit » zu behandeln.

Danksagung

Die Arbeit wurde von SunEXPRESS unterstützt. Luc Laurent, Prof. I. Baran und seinen Studenten wird für die produktive Zusammenarbeit, insbesondere der Beschaffung von Probenmaterial gedankt.

Literatur

BARAN, I. & M. KASPAREK, 1988: Marine Turtles Turkey. Status survey 1988 and recommendations for conservation and management. WWF-Report.

BOWEN, B.W., A.B. MEYLAN, J. ROSS, C.J. LIMPUS, BALAZS, G. & J.C. AVISE, 1992: Global population structure and natural history of the green turtle (*Chelonia mydas)* in terms of matriarchal phylogeny. Evolution 46: 865–881.

CARR, A. & M.H. CARR, 1972: Site fixity in the Caribbean green turtle. Ecology 53: 425–429.

DODD, C.K., JR., 1988: Synopsis of the biological data on the Loggerhead Sea Turtle *Caretta caretta.* U.S. Fish Wildl. Serv., Biol. Rep. 88.110 pp.

GROOMBRIDGE, B., 1990: Marine turtles in the Mediterranean: distribution, population status, conservation. Council of Europe.

KARL, S.A., BOWEN, B.W. & J.C. AVISE, 1992: Global population genetic structure and male-mediated gene flow in the green turtle (*Chelonia mydas*): RFLP analyses of anonymous nuclear loci. Genetics 131: 163–173.

LAURENT, L., LESCURE, J., EXCOFFIER, L., BOWEN, B., DOMINGO, M., HADJI-CHRISTOPHOROU, M., KORNARAKI, L. & G. TRABUCHET, 1993: Étude génétique des relations entre

poulation méditerranéenne et atlantique d'une tortue marine (*Caretta caretta*) à l'aide dún marquer mitochondrial. C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie/Life sciences 316: 1233–9.

MANTEL, N., 1967: The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Res. 27: 209–220.

MEYLAN, A.B., BOWEN, B.W. & J.C. AVISE, 1990: A genetic test of the natal homing *versus* social facilitation models for green turtle migration. Science 248: 724–727.

SOKAL, R. R., 1979: Testing statistical significance of geographic variation patterns. Syst. Zool. 28: 227–232.

WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A. & S.V. TINGEY, 1990: DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Res. 18: 6531–6535.

Adressen

W. Schroth, B. Schierwater, B. Streit
J.W. Goethe-Universität
Zoologisches Institut
Abt. Ökologie und Evolution
Siesmayerstr. 70, 60054 Frankfurt/Main

Dr. U. Joger
Hessisches Landesmuseum
Zoologische Abteilung
Friedensplatz 1, D-64283 Darmstadt

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): Schierwater Bernd, Joger Ulrich, Streit Bruno, Schroth Werner

Artikel/Article: Populationsgenetische Untersuchungen an Mittelmeerkolonien der »Unechten Karettschildkröte« Caretta caretta 151-154