

Von kryptischen Arten und Lebensräumen – DNA-Barcoding trifft auf die subterrane Fauna Deutschlands

von

DIRK STEINKE, STEFAN ZAENKER, BÄRBEL VOGEL & ALEXANDER M. WEIGAND

Zusammenfassung

In wissenschaftlicher Kooperation von Mitarbeitern verschiedener Institutionen wie des Biodiversity Institute of Ontario der University of Guelph, des Biospeläologischen Katasters von Hessen, des Verbands der deutschen Höhlen- und Karstforscher e.V. und der Goethe-Universität Frankfurt am Main wird angestrebt, jede für Deutschland morphologisch beschriebene Höhlentierart mittels DNA-Barcoding zu analysieren. Für die Erfassung der Höhlenfauna ist es bedeutsam, biospeläologische Mitarbeiter in ganz Deutschland zu finden.

Abstract

DNA barcoding of cave fauna

A scientific cooperation between different Institutions has been set up, with the expressed aim to analyze the German cave fauna genetically. Members of the Biodiversity Institute of Ontario (University of Guelph), the Biospeleological Register of the Hesse Federation for Cave and Karst Research, the German Federation for Cave and Karst Research and the Goethe University Frankfurt am Main will work together to archive a DNA barcoding of every species, which has been morphologically described and is known to occur in caves in Germany. For the field work of the project, it is important to find co-workers trained in biospeleological work in all areas of Germany.

Résumé

Barcoding ADN de la faune cavernicole

Une coopération scientifique a été mise en place entre plusieurs institutions dans le but d'analyser au moyen de la génétique la faune cavernicole allemande décrite actuellement sur des bases morphologiques. L'Institut de la Biodiversité de l'Ontario (Université de Guelph), l'Atlas Biospéléologique de la Hesse, la Fédération Spéléologique et Karstologique Allemande et l'Université Goethe de Francfort-am-Main vont travailler ensemble à archiver les codes-barres génétiques de toutes les espèces qui ont été décrites morphologiquement et sont connues pour se reproduire dans les grottes d'Allemagne. La capture d'échantillons de la faune cavernicole nécessitera le recrutement de collaborateurs biospéléologues dans toute l'Allemagne.

Was ist DNA-Barcoding?

Die Vererbung der Eigenschaften eines Organismus auf seine Nachkommen beruht auf der Bildung einer genauen Kopie des Erbguts, gängigerweise DNA genannt. Trotz weit reichender Vorkehrungen der Natur, diesen Kopierprozess möglichst fehlerfrei zu gestalten, kommt es hin und wieder zu Fehlern. Solche Mutationen entstehen sowohl beim Kopierprozess als auch spontan durch Umweltfaktoren wie radioaktive Strahlung oder chemische Stoffe. Mutationen gelten als eigentliche Kraft im Evolutionsgeschehen. Sie sind verantwortlich für genetische Unterschiede zwischen Individuen und liefern fortwährend neue Variationen, die durch den Prozess der natürlichen Auslese auf Lebensfähigkeit getestet werden. Dabei gibt es einen messbaren

Unterschied zwischen der Anzahl an Mutation innerhalb einer Art und zwischen verschiedenen Arten. Die Anzahl und Position von Mutationen innerhalb einer Art bleibt oftmals konstant. Die Version der DNA-Sequenz scheint optimal für die betreffende Art und wird im natürlichen Selektionsprozess beibehalten.

Das DNA-Barcoding macht sich dieses Phänomen zunutze und stellt ein technisches Verfahren dar, das Artidentifizierungen erleichtern soll. Für ein DNA-Barcoding von Tieren wird in der Regel ein kleines Stück aus der DNA des Mitochondriums verwendet – einer Zellorganelle, die für die Energieproduktion in Zellen verantwortlich ist und die über ein eigenes kleines Genom verfügt. Die Anzahl der Mitochondrien in einer Probe ist sehr groß, was es wiederum einfach und kostengünstig macht, ausreichend DNA für eine Analyse zu gewinnen. Das DNA-Stück der Wahl heißt *Cytochrom-C-Oxidase-Untereinheit* und wird kurz COI oder DNA-Barcode genannt. Auf diese Weise wurden seit 2003 über 1,5 Mio. DNA-Barcodes von mindestens 150.000 Arten, in der Mehrzahl Insekten, erfasst. Im Rahmen des International Barcode of Life Projektes (www.ibol.org) soll diese Zahl bis 2015 auf 500.000 ansteigen.

Die Vorteile dieser Methode liegen in ihrer Effektivität, ihrer Geschwindigkeit und der hohen Kostenersparnis. Ein winziges Stück Gewebe genügt, um die DNA zu isolieren und den DNA-Barcode zu sequenzieren. Liegt einmal eine umfangreiche Referenzbibliothek (www.boldsystems.org) vor, mit der eine unbekannt Art verglichen werden kann, so ist die Wahrscheinlichkeit hoch, bereits mit einem kleinen Fragment eines Tieres oder einer Pflanze eine Artidentifikation vorzunehmen. Bereits heute werden DNA-Barcodes verwendet, um Fischfilets zu testen. Erste Barcoding-Studien haben gezeigt, dass in Restaurants und Märkten bis zu 40 % der Fische unter falscher Artangabe verkauft werden. Um jedoch eine korrekte Artidentifikation gewährleisten zu können, müssen Qualität und Umfang einer solchen Referenzbibliothek ständig aktualisiert, erweitert und den modernsten Forschungsergebnissen angepasst werden. Absolut notwendig ist es auch, nicht nur die betreffenden DNA-Sequenzen der Öffentlichkeit zur Verfügung zu stellen, sondern diese mit weiteren Informationen zu verbinden. So ist ein DNA-Barcode viel mehr als die blanke DNA-Sequenz eines Tieres, Pilzes oder einer Pflanze, sondern mit einer ganzen Reihe von weiteren Informationen verknüpft. Details zu Fundort, Sammler und taxonomischer Einordnung gehören ebenso dazu wie die Angabe von Geschlecht, Lebensstadium und Bildmaterial des Organismus. Eine hochauflösende Fotografie ist insbesondere dann äußerst hilfreich, wenn eine Probe anfänglich falsch bestimmt wurde. Sie kann später erleichternd zur Korrektur der taxonomischen Einordnung beitragen. Am Ende jedoch soll jeder DNA-Barcode durch ein sogenanntes Voucherexemplar repräsentiert werden. Darunter versteht man den Originalorganismus eines DNA-Barcodes, der in einem Museum hinterlegt wurde. Dieser Ablauf richtet sich dabei exakt nach den Vorgaben, die bei einer klassischen taxonomischen Erstbeschreibung vorgeschrieben

sind. Ein wesentlicher Vorteil des DNA-Barcoding besteht in der Bestimmung von Arten, die auf herkömmlichem Wege, d.h. morphologisch nur schwer zu unterscheiden sind und für die es unter Umständen nur noch sehr wenige wirkliche taxonomische Experten gibt. Dabei stellen insbesondere Höhlen einen extremen Lebensraum dar, an den sich viele Tierarten unabhängig voneinander in einem Prozess der konvergenten Evolution angepasst haben. Die Pigmentlosigkeit vieler Höhlenbewohner und der Verlust der visuellen Wahrnehmung sind dabei ebenso oft zu beobachten wie die Verlängerung der Extremitäten. Letztere dient womöglich dem Erzielen einer verbesserten chemosensorischen Orientierung durch die Optimierung des Geruchs- und Tastsinns. Einmal an diese hochselektiven Bedingungen angepasst, bleibt das äußere Erscheinungsbild vieler Höhlenbewohner äußerst konstant. Man spricht hier auch vom Phänomen der morphologischen Stasis. Da jedoch genau dieses äußere Erscheinungsbild die Grundlage aller historischen, d.h. morphologischen Artbeschreibungen bildet, kann mit Hilfe des DNA-Barcodings an dieser wissenschaftlichen Schnittstelle ein wesentlicher Wissenszuwachs erwartet werden. So legen neueste mit dem DNA-Barcoding erzielte taxonomische Erkenntnisse an höhlenbewohnenden Mikroschnecken die Vermutung nahe, dass im Untergrund der Julischen Alpen, der Dinariden und des Kantabrischen Gebirges viele der klassisch beschriebenen Arten zumeist mehr als eine unentdeckte oder unerkannte, kryptische Art beinhalten. Hierbei erreicht die kryptische, bisher unbeschriebene Biodiversität Werte von rund 50 %.

Systematische Erfassung der Höhlentiere

In Deutschland sind bislang etwa 3.000 Tier- und Pflanzenarten in Höhlen, künstlichen Hohlräumen und im Grundwasser nachgewiesen worden. Dabei handelt es sich nicht nur um speziell an das Höhlenleben angepasste Organismen (Eutrogllobionte), sondern ebenso sind Arten dokumentiert, die Höhlen als Zufluchtsorte oder zu bestimmten Jahreszeiten aufsuchen bzw. dort eigenständige Populationen bilden können (Sub- und Eutroglophile). Rein zufällig in Höhlen gelangte Arten bezeichnet man als Eutrogloxene. Jedes Jahr werden in deutschen Höhlen neue Arten entdeckt, was natürlich auch daran liegt, dass die Erforschung der subterranean Organismen noch am Anfang steht und meist auf ehrenamtlicher Basis erfolgt. Der Beginn des German Barcode of Life (GBOL)-Projektes in diesem Jahr, welches die genetische Charakterisierung und Inventarisierung aller in Deutschland beheimateten Organismen als ambitioniertes Ziel hat, bietet gerade jetzt eine geeignetes Umfeld, um die subterranean Fauna Deutschlands systematisch zu erfassen. Durch die wissenschaftliche Kooperation von Mitarbeitern verschiedener Institutionen wie des Biodiversity Institute of Ontario der University of Guelph, des Biospeläologischen Katasters von Hessen, des Verbands der deutschen Höhlen- und Karstforscher e.V. und der Goethe-Universität Frankfurt am Main wird angestrebt, jede morphologisch beschriebene Höhlenart mit drei DNA-Barcodes pro Höhle an fünf repräsentativen, d. h. die geografische Verbreitung der Art innerhalb Deutschlands bestmöglich abdeckenden Standorten zu analysieren. Den Anfang der Erfassung bildet die umfangreiche Materialsammlung des Biospeläologischen Katasters von Hessen. Diese Referenzsammlung beinhaltet über 67.000 Proben mit wirbellosen Tieren aus zahlreichen Höhlen, künstlichen Hohlräumen und Quellen mit Schwerpunkt Hessen und angrenzende Gebiete. Aber auch Tiere aus anderen deutschen Höhlenregionen sind punktuell in dieser Sammlung enthalten. Sämtliche Proben sind mit relevanten Fundortangaben sowie den Bestimmungsergebnissen anerkannter taxonomischer Spezialisten für einzelne Artengruppen in einer relationalen Datenbank erfasst, so dass Auswertungen in vielfältiger Hin-

sicht möglich sind. Die Proben sind in hochprozentigem Alkohol gelagert, was zur Konservierung des Erbguts notwendig ist und das DNA-Barcoding erst ermöglicht.

Ausblick

Für die Erfassung der gesamtdeutschen Höhlenfauna ist es bedeutsam, biospeläologische Mitarbeiter in ganz Deutschland zu finden. Im Rahmen der vom Verband der deutschen Höhlen- und Karstforscher e.V. regelmäßig angebotenen biospeläologischen Seminare wird das Wissen über gezielte Sammelmethode und die richtige Konservierung der Höhlentiere vermittelt. An taxonomisch gut bestimmtem und in Alkohol konserviertem Material aus allen deutschen Höhlen sind die Verfasser sehr interessiert und würden sich über eine Kontaktaufnahme freuen.

Autoren: Dr. Dirk Steinke, University of Guelph, Biodiversity Institute of Ontario, 50 Stone Road East, Guelph, ON, N1G2W1, Kanada, dsteinke@uoguelph.ca; Stefan Zaenker, Landesverband für Höhlen- und Karstforschung Hessen e.V., Königswarter Straße 2a, 36039 Fulda, stefan.zaenker@hoehlenkataster-hessen.de; Bärbel Vogel, Verband der deutschen Höhlen- und Karstforscher e.V., Graßlberggasse 24, 83486 Ramsau, b.w.vogel@gmx.de; Alexander M. Weigand, Goethe-Universität Frankfurt am Main, Institut für Ökologie, Evolution und Diversität, Max von Laue-Straße 13, 60438 Frankfurt am Main, A.Weigand@bio.uni-frankfurt.de



Überwinternde Stechmücken an der Höhlenwand; Foto: Klaus Bogen