

Neue Methoden der Arterkennung und ihre Konsequenzen

Christoph Held, Astrid Cornils

Wer bei einem Strandspaziergang Muscheln aufliest, im Wald Pilze sammelt oder wilde Früchte isst, macht intuitiv von einer uralten Fähigkeit des Menschen Gebrauch, nämlich hinter der verwirrenden Vielfalt von Farben und Formen eine Art inneren Systems zu erkennen. Denn obwohl sich bei genauerem Hinsehen keine zwei Exemplare in allen Einzelheiten genau gleichen, ist es unter Umständen nützlich zu wissen, welche Individuen trotz aller Unterschiede wie Alter und Geschlecht Mitglieder derselben **biologischen Art** sind. Eine Begegnung mit Ohrenquallen bei einem Bad im Meer ist eine harmlose Angelegenheit, ein Zusammentreffen mit nesselnden Feuerquallen kann jedoch eine schmerzhaft Erfahrung bedeuten.

Für die Wissenschaft ist die Frage, was noch zu einer biologischen Art gehört und welche Individuen bereits eine andere Art repräsentieren, von grundsätzlichem Interesse. Der Grund, weshalb alle Individuen einer Art sich in wesentlichen Eigenschaften gleichen, ist ja der, dass sie sich miteinander fortpflanzen und so Teil eines gemeinsamen **Genpools** sind. Wichtige Eigenschaften sind im Erbgut einer Art festgelegt und alle Varianten (Allele) eines solchen Gens können frei innerhalb einer Art ausgetauscht werden, aber nicht ohne weiteres über Artgrenzen hinweg, da definitionsgemäß zwischen Arten keine Fortpflanzung stattfindet.

Lange standen fast nur morphologische Merkmale für die Identifizierung von Arten zur Verfügung, also Merkmale des Aussehens und der inneren Struktur von Organismen. In den letzten zwei Jahrzehnten jedoch ist die Erbsubstanz **DNA** selbst als Datenquelle hinzugekommen (siehe Beitrag Kochzius in diesem Band). Inzwischen haben DNA-basierte Methoden der Artbestimmung zwar etwas vom Nimbus ihrer Unfehlbarkeit eingebüßt, dennoch bleiben unbestreitbare Vorteile:

- die Größe der molekularen Unterschiede zwischen zwei Individuen ist objektiv messbar
- die Fehlerquellen molekularer Datensätze sind unabhängig von denjenigen, die die morphologische Arterkennung beeinträchtigt haben
- molekulare Datensätze sind auf Grund ihrer geringen Komplexität (Gensequenzen sind aus den vier Basen A, C, G und T zusammengesetzt) besonders gut für eine Ablage in Datenbanken geeignet

Eine weit verbreitete Methode zur Erkennung von Arten ist das **molecular barcoding**. Dabei wird ein Stück des **Cytochrom Oxidase Gens (COI)**, das bei so gut wie allen Organismen nachgewiesen werden kann, entschlüsselt (sequenziert) und mit der COI Sequenz in anderen Individuen verglichen. Liegt die genetische Distanz unter einem definierten Schwellenwert, handelt es sich wahrscheinlich um ein Exemplar der in der Datenbank bereits hinterlegten Art. Überschreiten die Sequenzunterschiede jedoch diesen Schwellenwert, muss zumindest geprüft werden, ob es sich um eine andere Art handelt, die in der Datenbank noch nicht hinterlegt wurde oder sogar der Wissenschaft unbekannt ist. In diesem Sinne ist das molekulare *barcoding* kein Ersatz für die traditionelle Taxonomie, sondern sinnvollerweise als ein unabhängiges Werkzeug zur Klärung der gleichen Frage anzusehen. Diese Methode bietet den besonderen Vorteil, in kurzer Zeit viele Proben bearbeiten zu können und setzt dabei keine taxonomischen Kenntnisse voraus. Neue Sequenzieretechniken (**next generation sequencing**) erlauben heute bereits die gleichzeitige Analyse vieler Gene und verringern so die Abhängigkeit von einem einzelnen Gen (COI), das nicht für alle Fragestellungen gleichermaßen geeignet ist. Bis eine Einigung auf einen neuen einheitlichen Standard erfolgt ist, bleibt das COI-basierte barcoding das wichtigste Verfahren zur molekularen Arterkennung.

Bei vielen Organismengruppen hat sich die Anwendung molekularen *barcodings* zum wichtigsten Nachweis wissenschaftlich bisher unbekannter Arten gemausert. Das Interessante dabei ist, dass diese Arten bislang schlicht übersehen wurden (**kryptische Arten**), weil sie sich untereinander morphologisch stark ähneln. Sie wurden daher nicht als unterschiedliche Arten erkannt, genetisch können sie jedoch klar voneinander unterschieden werden.

((Abb. 1: Auffallende morphologische Unterschiede zwischen Individuen sind nicht immer ein sicheres Indiz dafür, dass sie unterschiedlichen Arten angehören. Umgekehrt hilft eine Vorsortierung an Hand der genetischen barcodes dabei, morphologische Merkmale zu identifizieren, die eine Artbestimmung auch ohne Sequenzierung ermöglichen. Zwei Beispiele mariner Asseln aus der **Antarktis** zeigen nach einem Abgleich der molekularen barcodes eine unterschiedliche Bedeutung des Merkmals Färbung.

Obere Reihe: Alle Individuen gehören zur gleichen Art *Serolella bouvieri* (Richardson, 1906).

Untere Reihe: *Ceratoserolis trilobitoides* (Eights, 1833) wurde lange als eine Art mit variabler Morphologie angesehen, molekulare Daten zeigen jedoch, dass sich darin mehrere Arten mit stabilen Unterschieden in der Färbung verbergen.))

Umgekehrt können durch den Nachweis (fast) identischer *barcodes* Larven und Adulte einander zugeordnet oder merkmalsarme bzw. extrem abgewandelte parasitäre Formen überhaupt erstmals systematisch eingeordnet werden. Da ein lebender Organismus immer wieder alte Zellen mitsamt ihrer DNA ins umgebende Wasser abstößt, können sehr heimlich lebende Arten oft bereits durch den *barcode* ihrer **extrazellulären DNA** (eDNA) nachgewiesen werden, bevor sie überhaupt gesichtet oder gefangen wurden.

Wen kümmert's?

Weltweit gibt es nur sehr wenige Spezialisten (**Taxonomen**), die sich wirklich mit einer bestimmten Tier- oder Pflanzengruppe auskennen, die Öffentlichkeit nimmt diese Expertise aber gar nicht zur Kenntnis. Warum ist es dann überhaupt wichtig, den Artstatus bzw. das Verwandtschaftsverhältnis von Arten zu bestimmen, von deren bloßer Existenz man bislang keinen blassen Schimmer hatte? Die breite Anwendung molekularer Methoden in den letzten Jahrzehnten hat unser Verständnis für die Arten und ihre Verbreitung so grundlegend verändert, dass die Auswirkungen dieser Erkenntnis weit über das Gebiet der Taxonomie hinausreichen und grundlegende Fragen berühren:

- Wo treten eingeschleppte Arten auf (*Neozoen*)?
- Sind die Polarmeere wirklich von wenigen Spezialisten besiedelt, die innerhalb der kalten Gewässer weit verbreitet sind (**zirkumpolare Arten**)?
- Nimmt der Artenreichtum von tropischen Breiten bis in die Polargebiete generell ab?
- Lassen sich geografisch übereinstimmende Grenzen zwischen mehreren Artenpaaren finden, die auf eine historische Barriere mit einer Funktion für die Artaufspaltung hindeuten?

Diese und diverse andere Fragen berühren viel weiter gehende Ziele, ihre Beantwortung setzt jedoch die Klärung der korrekten Grenzziehung zwischen den Arten voraus.

Übersieht man einen Komplex kryptischer Arten und hält diese fälschlicherweise für eine einzige Spezies, so vereint diese notwendigerweise alle Nuancen der Anpassungen der beteiligten kryptischen Arten. Diese Art erscheint uns dann zu Unrecht als weit verbreitet und an eine Vielzahl von Bedingungen angepasst. Diese gröbere Sicht auf die Arten wiegt uns in trügerischer Sicherheit in Bezug auf die Toleranz der Tier- und Pflanzenwelt gegenüber **Umweltveränderungen** wie **Erderwärmung** und **Ozeanversauerung**. In Wahrheit sind möglicherweise jedoch bereits einige der viel spezifischer angepassten kryptischen Arten im

Rückgang begriffen oder ausgestorben. Auch in Bezug auf diese Frühwarnsignale tragen molekulare Arterkennungsmethoden wesentlich zu einem besseren Verständnis der marinen **Biodiversität** und möglicher Gefährdungen bei.

((Abb. 2: Die Zooplankton-Art *Oithona similis* (s. Foto) wird als weltweit (kosmopolitisch) verbreitet angesehen. Neue Untersuchungen zeigen jedoch, dass diese nominelle Art ein Komplex von kryptischen Arten ist.

Oben links: Molekularer Stammbaum von *Oithona similis*. Die Farben zeigen sieben kryptische Arten und zwei einzelne Sequenzen (T) aus der Tschuktschensee (Arktis), und deren Fundorte. Oben rechts: Ergebnisse einer Artabgrenzungsanalyse. Gruppen mit einer *a-posteriori* Wahrscheinlichkeit von mehr als 0,9 (hellgrau oder weiß) werden als eigene Art angesehen. Unten: Geografische Verbreitung der kryptischen Arten innerhalb *Oithona similis*.

))

Weiterführende Literatur:

Barcoding Datenbank BOLD: <http://www.barcodeoflife.org/>

BUCKLIN A., STEINKE D. & BLANCO-BERCIAL L. 2011. DNA barcoding of marine metazoa. *Annual review of marine science* 3: 471-508.

CORNILS A. & HELD C. 2014. Evidence of cryptic and pseudocryptic speciation in the *Paracalanus parvus* species complex (Crustacea, Copepoda, Calanoida). *Frontiers in Zoology* 11: 19.

CORNILS A. & WEND-HECKMANN B. 2015. First report of the planktonic copepod *Oithona davisae* in the northern Wadden Sea (North Sea): Evidence for recent invasion? *Helgol Mar Res* DOI: 10.1007/s10152-015-0426-7

LEESE F. & C. HELD. 2011. Analyzing intraspecific genetic variation: A practical guide using mitochondrial DNA and microsatellites, in C. Held, Koenemann S. & Schubart C.D. (ed.) *Phylogeography and population genetics in Crustacea*: 3-30. CRC Press.

Abbildung 1:

((Abb. 1: Auffallende morphologische Unterschiede zwischen Individuen sind nicht immer ein sicheres Indiz dafür, dass sie unterschiedlichen Arten angehören. Umgekehrt hilft eine Vorsortierung an Hand der genetischen barcodes dabei, morphologische Merkmale zu identifizieren, die eine Artbestimmung auch ohne Sequenzierung ermöglichen. Zwei Beispiele mariner Asseln aus der Antarktis zeigen nach einem Abgleich der molekularen barcodes eine unterschiedliche Bedeutung des Merkmals Färbung.

Obere Reihe: Alle Individuen gehören zur gleichen Art *Serolella bouvieri* (Richardson, 1906).

Untere Reihe: *Ceratoserolis trilobitoides* (Eights, 1833) wurde lange als eine Art mit variabler Morphologie angesehen, molekulare Daten zeigen jedoch, dass sich darin mehrere Arten mit stabilen Unterschieden in der Färbung verbergen.))

Abbildung 2: Die Zooplankton-Art *Oithona similis* (s. Foto) wird als weltweit (kosmopolitisch) verbreitet angesehen. Neue Untersuchungen zeigen jedoch, dass diese nominelle Art ein Komplex von kryptischen Arten ist.

Oben links: Molekularer Stammbaum von *Oithona similis*. Die Farben zeigen sieben kryptische Arten und zwei einzelne Sequenzen (T) aus der Tschuktschensee (Arktis), und deren Fundorte. Oben rechts: Ergebnisse einer Artabgrenzungsanalyse. Gruppen mit einer a-posteriori Wahrscheinlichkeit von mehr als 0,9 (hellgrau oder weiß) werden als eigene Art angesehen. Unten: Geografische Verbreitung der kryptischen Arten innerhalb *Oithona similis*.



