

**Zeitschrift:** Entomologica Basiliensia  
**Herausgeber:** Naturhistorisches Museum Basel, Entomologische Sammlungen  
**Band:** 23 (2001)

**Artikel:** Differenzen zwischen gene tree und organismal tree? : Mitochondriale Gene und die Verwandtschaftsbeziehungen der Chrysocarabus-Arten  
**Autor:** Düring, Andreas / Brückner, Martina / Mossakowski, Dietrich  
**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-980859>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 02.10.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

## Differenzen zwischen gene tree und organismal tree? Mitochondriale Gene und die Verwandtschaftsbeziehungen der *Chrysocarabus*-Arten

von Andreas Düring, Martina Brückner & Dietrich Mossakowski

**Abstract.** Differences between gene tree and organismal tree: mitochondrial genes and the phylogenetic relationships of *Chrysocarabus* species. – Although different workers have investigated the *Chrysocarabus* (Carabidae, Coleoptera) group using various character complexes, the evolutionary history of this subgenus is not sufficiently resolved. To investigate the phylogenetic relationships of this group we analysed the complete mitochondrial cytochrome oxidase subunit II gene (COII). The estimation of phylogenetic information content and the phylogenetic analysis was carried out using different analytical methods and yielding some remarkable results. The sister-group relationship of *Carabus olympiae* and *C. solieri* was supported very well, while the proposed close relationship between the two species *C. hispanus* and *C. rutilans* proved tenuous. Three haplotypes were found in *Carabus splendens*. Two of them clustered with *Carabus punctatoauratus* and the third one with *C. rutilans*. Because there is no report of a species boundary within the uniform species *Carabus splendens*, the mitochondrial gene tree cannot represent the species tree. The most likely interpretation is an introgression event transferring the mitochondrial genome of *Carabus punctatoauratus* into *C. splendens*.

**Key words:** *Chrysocarabus* – phylogeny - gene tree - organismal tree – haplotypes – hybridization - reticulate evolution - mitochondrial DNA - COII

### Einleitung

Im Taxon *Chrysocarabus* fassen wir als Untergattung von *Carabus* mehrere Artengruppen zusammen, die früher in eigene Untergattungen gestellt wurden: *Chrysotribax* (*C. rutilans*, *C. hispanus*), *Dysmictocarabus* (*C. solieri*), *Sellaecarabus* (*C. olympiae*) und *Chrysocarabus* s.str. mit den übrigen Formen. Die meisten dieser Arten gelten als sehr nahe verwandt, da sie sich – teilweise fruchtbar – kreuzen lassen und Hybriden im Freiland auftreten (PUISSÉGUR 1964, ALLEMAND & MALAUSA 1984, MOSSAKOWSKI et al. 1986, 1990).

Zur Rekonstruktion der Verwandtschaftsbeziehungen der Untergattung *Chrysocarabus* wurden von verschiedenen Autoren diverse Merkmalsebenen herangezogen. Morphologische Merkmale des Exoskeletts (DELAPOUGE 1929-32; MALAUSA et al. 1983; MOSSAKOWSKI 1979), des Präputialsacks (MARCINIAK 1995), Kreuzungsdaten (ALLEMAND & MALAUSA 1984), Allozymvariabilität (BRAUN 1988) und die mitochondrialen Genabschnitte NADH-Dehydrogenase Untereinheit 1 (ND1) und 12S rRNA (PRÜSER 1996) führten zu teilweise widersprüchlichen bzw. zu schlecht unterstützten Gruppierungen. Besonders die Ergebnisse der Analyse der DNA-Sequenzdaten wichen in einigen Aspekten stark von den bisherigen Vorstellungen ab. So wurden z.B. die beiden *Chrysotribax*-Arten auf verschiedene Linien verteilt. Bei *Carabus splendens* wurden zwei stark differierende Haplotypen (HT) gefunden, von denen der eine zu *C. rutilans*, der andere zu *C. punctatoauratus* gestellt wurde. Andere Gruppierungen waren allerdings durch die Daten nur schlecht unterstützt.

Die geringe Unterstützung von Ästen in einem Stammbaum kann durch wenige oder stark widersprüchliche Merkmale bedingt sein. Um die Auflösung der

mitochondrialen Merkmalsebene zu verbessern, ist es deshalb sinnvoll, einen längeren und variableren Abschnitt des mitochondrialen Genoms zu analysieren.

### Material und Methoden

Zur Analyse der mtDNA wurde das gesamte für die Cytochrom-Oxidase Untereinheit II (COII) codierende Gen von allen Arten der Untergattung *Chrysocarabus* via PCR amplifiziert und direkt sequenziert. Hierzu gehören *Carabus splendens* OLIVIER, 1790, *C. lineatus* CHEVROLAT, 1837, *C. lateralis* CHEVROLAT, 1840, *C. auronitens* FABRICIUS, 1792, *C. punctatoauratus* GERMAR, 1824, *C. hispanus* FABRICIUS, 1787, *C. rutilans* DEJEAN, 1826, *C. olympiae* SELLA, 1855 und *C. solieri* DEJEAN, 1826. Als Außengruppenvertreter wurden *Carabus (Macrothorax) morbillosus* DELAPOUGE, 1899 und *Abax parallelepipedus* PILLER & MITTENPACHER, 1783 in die Analyse einbezogen.

Die DNA-Extraktion erfolgte aus der Thoraxmuskulatur mit dem QIAamp Tissue Kit (Qiagen). Für die PCR wurde das Qiagen PCR Master Mix Kit verwendet. Die erhaltenen PCR-Produkte wurden auf einem 1,5% Agarose Gel elektrophoretisch aufgetrennt und mit dem QIAEX II Gel Extraction Kit (Qiagen) aufgereinigt. Die PCR und die Sequenzierung erfolgte mit den Primern AtLeu (5'-ATGGCAGATTAGTGCAA TGG-3') und BtLys (5'-GTTTAAGAGACCAGTACTTG-3') (LIU & BECKENBACH 1992). Die PCR- und Cycle-Sequencing-Bedingungen sind in Tab. 1 aufgeführt. Die Direkt-Sequenzierung beider Stränge erfolgte auf einem ABI 373A Sequenzierer mit Hilfe des Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems).

Das Alignment der DNA-Sequenzen erfolgte mit Hilfe des Programms ClustalW (THOMPSON et al. 1994). Zur Abschätzung des Homoplasiegehalts wurde das Transitions-Transversions-Verhältnis mit dem Programm MEGA (KUMAR et al. 1993) bestimmt und die Baumängenverteilung sowie die Schiefe dieser Verteilungskurve (Skewness) mit Hilfe des Programms PAUP 3.1.1 (SWOFFORD 1993) berechnet, wobei 100.000 Zufallsbäume ausgewertet wurden. Zur phylogenetischen Analyse des Datensatzes wurden die Neighbor Joining-Methode (NJ) unter Annahme des Kimura-2-Parameter-Modells mit dem Programm MEGA und die Maximum Parsimony-Methode (MP) mit dem Programm PAUP 3.1.1 angewendet. Die Unterstützung der Äste wurde mit dem Bootstrap-Verfahren (1000 Replikationen) und dem Decay-Index überprüft.

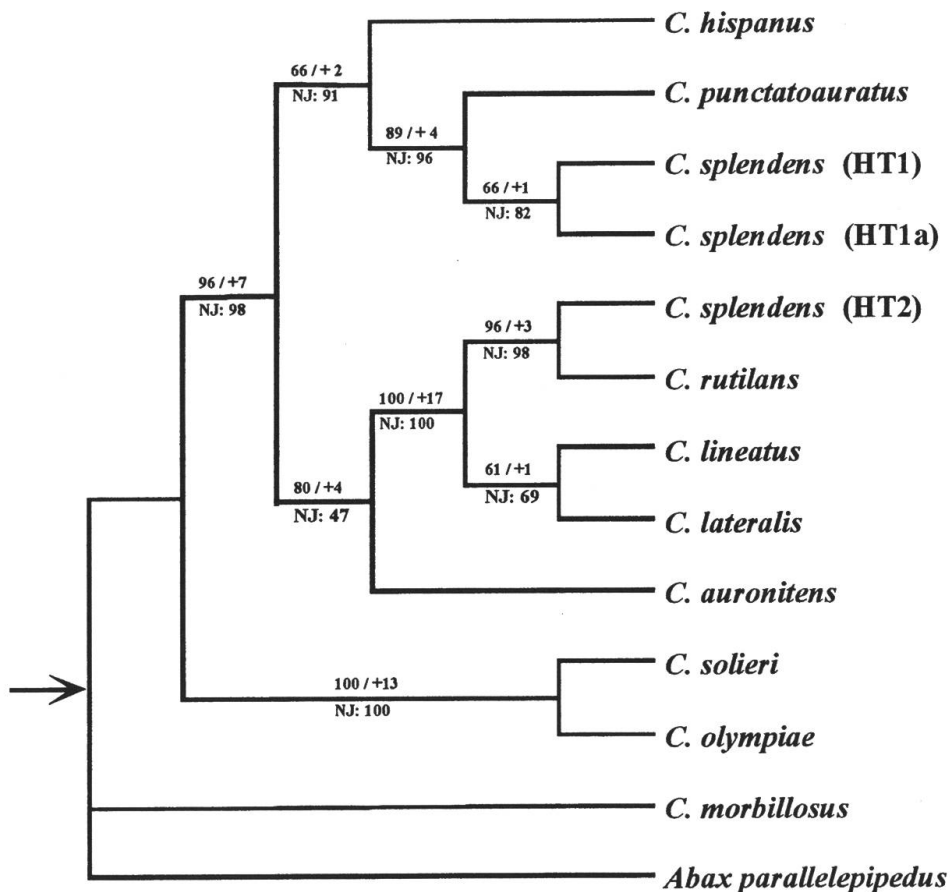
PCR-Bedingungen	Sequenzierungs-Bedingungen
5' 96°C 90'' 96°C, 90'' 46°C, 90'' 68°C (5x) 90'' 94°C, 90'' 50°C, 90'' 68°C (28x) 3' 68°C	2' 96°C 30'' 96°C, 15'' 50°C, 4' 60°C (25x)

Tab. 1: PCR- und Sequenzierungs-Bedingungen.

## Ergebnisse und Diskussion

Der 687 bp lange Datensatz enthält 188 variable und 106 phylogenetisch informative Positionen, von denen 120 variable und 85 informative Positionen auf die Innengruppe entfallen. Die Analyse der Topologielängenverteilung und der Skewness ( $g1 = -0,86$ ) sowie des Transitions-Transversions-Verhältnisses (Mittelwert = 3,07) deuten auf einen geringen Homoplasiegehalt des Datensatzes hin.

Die phylogenetische Auswertung ergab sowohl mit dem NJ-Verfahren als auch mit dem MP-Verfahren mit zwei unterschiedlichen Wichtungen (a: ungewichtet / b: Transitions-Transversions-Wichtung der Codon-Positionen: 2:2 / 2:2 / 1:2) den gleichen Baum (Abb. 1). Lediglich *Carabus auronitens* wurde im NJ-Verfahren neben die



**ungewichteter MPT der Untergattung *Chrysocarabus* (303 steps)**  
 Zahlen über den Ästen: Bootstrap-Werte / Decay Indices (MP ungewichtet)  
 Zahlen unter den Ästen: Bootstrap-Werte (Neighbor-Joining)

**Abb. 1:** Gene tree oder organismal tree? – Die Analyse einzelner Gene liefert sog. gene trees. Diese werden häufig als organismal trees interpretiert. Im vorliegenden Fall werden jedoch unterschiedliche mitochondriale Sequenzen einer Art (Haplotypen) an unterschiedlichen Stellen im Stammbaum positioniert. Da es keine Hinweise auf eine Artgrenze innerhalb von *C. splendens* gibt, kann für diese Haplotypen der erhaltene gene tree nicht den organismal tree repräsentieren. Die Differenzen zwischen gene tree und organismal tree lassen sich in diesem Fall durch Introgressionsereignisse erklären.

übrigen *Chrysocarabus* und *Chrysotribax* gestellt. Diese Gruppierung wies im Pheno-gramm jedoch einen sehr geringen Bootstrap-Wert (45%) auf.

Die Analyse des mitochondrialen Gens COII führte zu einer Bestätigung der bei PRÜSER (1996) gut unterstützten Gruppen. Sehr gut unterstützt werden die Äste von *Carabus solieri* + *C. olympiae* und das zugehörige Adelphotaxon der übrigen *Chrysocarabus*-Formen. Gleiches gilt für die *C. lineatus*-Gruppe mit *C. rutilans* +

	<i>C. splendens</i>			<i>C. punctato-auratus</i>	<i>C. rutilans</i>
	HT 1	HT 1a	HT 2		
<i>C. splendens</i> HT 1		4	38	8	38
<i>C. splendens</i> HT 1a	0,6 %		37	8	37
<i>C. splendens</i> HT 2	5,5 %	5,4 %		40	1
<i>C. punctatoauratus</i>	1,2 %	1,2 %	5,8 %		40
<i>C. rutilans</i>	5,5 %	5,4 %	0,2 %	5,8 %	

**Tab. 2:** Anzahl der Substitutionen im COII-Gen ausgewählter Arten. – Oben rechts: Gesamtzahl der Austausche; unten links: Austausche in Prozent (Fettdruck – auffallend geringe Sequenzunterschiede der mtDNA Haplotypen von *Carabus splendens* zu *C. rutilans* bzw. *C. punctatoauratus*.)

*C. splendens* (HT2). Die aufgrund der Morphologie als nächstverwandt geltenden Arten *C. auronitens* und *C. punctatoauratus*, die von einem Teil der Autoren sogar als conspezifisch angesehen werden, sowie *C. rutilans* und *C. hispanus* stehen mit mäßiger bzw. brauchbarer Unterstützung in unterschiedlichen Gruppierungen. Diese Ergebnisse legen nahe, insbesondere die morphologischen Merkmale weitergehend zu analysieren. Es besteht der Verdacht, daß zumindest Teilgruppen wie *Chrysotribax* bisher aufgrund symplesiomorpher oder konvergenter Merkmalsübereinstimmungen zusammengestellt wurden.

Neben den beiden bereits von PRÜSER (1996) für *C. splendens* bei ND1 beschriebenen Haplotypen wurde ein dritter Haplotyp gefunden (HT1a) (DÜRING et al. 1999). Dieser wird zusammen mit einem der bekannten Haplotypen (HT1) *C. punctatoauratus* zugeordnet, während der andere Haplotyp (HT2) starke Ähnlichkeit mit der Sequenz von *C. rutilans* aufweist. Während die Haplotypen HT1 und HT1a sich nur geringfügig unterscheiden, weisen sie zu HT2 erhebliche Unterschiede auf (Tab. 2).

Für die Erklärung dieser Haplotypenverteilung von *Carabus splendens* lassen sich verschiedene Hypothesen über die zugrundeliegenden evolutiven Vorgänge bilden. Am wahrscheinlichsten scheint in diesem Fall das Auftreten mindestens eines Introgressionsereignisses zu sein (DÜRING et al. 1999). So könnte infolge der maternalen Vererbung des mitochondrialen Genoms eine erfolgreiche Bastardierung zwischen einem *C. splendens*-Männchen und einem *C. punctatoauratus*-Weibchen zu Hybriden mit einem mitochondrialen *C. punctatoauratus*-Genom geführt haben. Vielfache Rückkreuzungen dieser Hybriden mit *C. splendens* könnten dann zu Individuen führen, die das mitochondriale Genom eines *C. punctatoauratus* tragen, jedoch morphologisch nicht aus dem Gesamterscheinungsbild der sehr gleichförmigen Art *C. splendens* herausfallen.

Solche retikulären evolutiven Ereignisse können zu Fehlern bei der Interpretation von gene trees führen, die sich auf die Analyse nur eines Merkmalskomplexes wie z.B. der mtDNA stützen. Durch die Analyse unabhängiger genetischer Marker sollten sich potentielle Introgressionsereignisse durch Widersprüche in den Stammbäumen bemerkbar machen. Die genaue Analyse dieser Prozesse würde zu einem vertieften Verständnis der evolutiven Geschichte der Untergattung *Chrysocarabus* führen.

### GenBank Accession-Numbers

Die für diese Arbeit erhobenen DNA-Sequenzen wurden in der GenBank Datenbank deponiert (Accession-Numbers AF175726 - AF175738).

### Danksagung

Wir danken Dr. S. Braun und Dr. F. Prüser für die freundliche Überlassung von Proben bzw. DNA-Templates, M. Zimmermann, I. Bobenhausen und N. Eicke für die Mitarbeit bei der Datenerhebung sowie zwei unbekanntem Gutachtern für ihre hilfreichen Anmerkungen.

### Literatur

- ALLEMAND R. & MALAUSA J.-C. (1984): *Compatibilité génétique et distances phylétique entre les espèces du genre Chrysocarabus Thomson (Col., Carabidae)*. Ann. Soc. Ent. France (N.S.) **20**: 347-363.
- BRAUN S. (1988): *Verwandtschaftsanalyse bei naheverwandten Chrysocarabus-Arten (Coleoptera, Carabidae) mittels elektrophoretischer Untersuchungen*. Mitt. Dtsch. Ges. allg. angew. Ent. **6**: 548-559.
- DELAPOUGE G. V. (1929-32): *Genera Insectorum. Coleoptera Adephaga, Fam. Carabidae. 192.* - Quatre bras Edit., Tervuren.
- DÜRING A., BRÜCKNER M., ZIMMERMANN M., BOBENHAUSEN I., EICKE N. & MOSSAKOWSKI D. (in press): *Geographic distribution of two considerable different mtDNA-haplotypes in Carabus (Chrysocarabus) splendens OLIVIER, 1790*. pp. 5-9. In: BRANDMAYR, P. et al. (Eds.): *Natural History and Applied Ecology of Carabid Beetles*. Pensoft Publishers, Sofia, Moscow.
- KUMAR S, TAMURA K. & NEI M. (1993): MEGA: *Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Vers. 1.01*. The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802.
- LIU H. & BECKENBACH A. T. (1992): *Evolution of the mitochondrial Cytochrome Oxidase II gene among 10 orders of insects*. Mol. Phylogenet. Evol. **1(1)**: 41-52.
- MALAUSA J.-C., RAVIGLIONE M. C. & BOGGIO F. (1983): *Il Carabus olympiae SELLA dell'alta Valle Sessera*. Pro Natura Biellese, Biella.
- MARCINIAK M. (1995): *Strukturen des Genitalapparates als Charaktere zur Rekonstruktion der Phylogenese bei Carabus-Arten*. Diplomarbeit, Universität Bremen, 123 pp.
- MOSSAKOWSKI D. (1979): *Evolution of habitat preference illustrated by the phylogeny of Chrysocarabus species (Coleoptera, Carabidae)*. In: DEN BOER et al. (Eds.): *On the evolution of behaviour in carabid beetles*. Misc. papers Landb. Hogesch. (Wageningen) **18**: 103-122.
- MOSSAKOWSKI D., ROSCHEN A. & VAJE S. (1986): *Hybridization in Chrysocarabus*. pp. 281-295. In: DEN BOER et al. (Eds.): *Carabid beetles: Their adaptations and dynamics*. Fischer Verlag, Stuttgart.
- MOSSAKOWSKI D., BRAUN S. & ROSCHEN A. (1990): *Hybridization in natural populations of ground beetles (Coleoptera, Carabidae)*. Can. J. Zool. **68**: 1783-1789.
- PUISSÉGUR C. (1964): *Recherches sur la génétique des Carabes*. Vie et Milieu, Suppl. **18**: 288 pp.
- PRÜSER F. (1996) *Variabilität mitochondrialer DNA-Sequenzen und die Phylogenie der Gattung Carabus Linné 1758 (Coleoptera, Carabidae)*. Dissertation, Universität Bremen, 173 pp.

- SWOFFORD D. L. (1993): *PAUP: Phylogentic analysis using parsimony: Computer program and manual, Version 3.1.1.* Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois, 257 pp.
- THOMPSON J. D., HIGGINS D.G. & GIBSON T. J. (1994): *ClustalW: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choise.* Nucl. Acids Res. **22(22)**: 4673-4680.

**Adresse der Autoren:**

Andreas Düring, Martina Brückner, Dietrich Mossakowski  
Institut für Ökologie und Evolutionsbiologie  
Universität Bremen  
Postfach 330 440  
D-28334 Bremen  
DEUTSCHLAND