

Zeitschrift: Bulletin de la Société Fribourgeoise des Sciences Naturelles = Bulletin der Naturforschenden Gesellschaft Freiburg

Herausgeber: Société Fribourgeoise des Sciences Naturelles

Band: 77 (1988)

Heft: 1-2

Artikel: Autökologische und enzymelektrophoretische Untersuchungen an zwei "Ecdyonurus venosus-" Populationen : Ephemeroptera, Heptageniidae

Autor: Imhof, Alexander / Tomka, Ivan / Lampel, Gerolf

Kapitel: 3: Enzymelektrophoretische Untersuchungen

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-308678>

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: 28.01.2026

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

benetzten Uferzone knapp über dem Boden bzw. Wasserspiegel in eher schattigen Bereichen. Daß es sich bei den hier beobachteten Individuen tatsächlich um *E. dispar* handelte, konnten wir sowohl morphologisch als auch enzymelektrophoretisch eindeutig nachweisen.

3. Enzymelektrophoretische Untersuchungen

3.1. Ziele

Im Kap. 2.2.1. «Taxonomische Abgrenzungen der *E. venosus*-Populationen» haben wir bereits erwähnt, daß in beiden Probestellen die drei nahe verwandten Arten *E. venosus* (FABRICIUS, 1775), *E. torrentis*, KIMMINS, 1942, und *E. dispar* (CURTIS, 1834) gefunden wurden. Die taxonomische Trennung dieser Arten ist morphologisch möglich und durch die enzymelektrophoretischen Untersuchungen von ZURWERRA et al. (1987) und HEFTI et al. (1988) bestätigt worden. Anhand von früheren faunistischen Arbeiten (ZURWERRA et al., 1984) ist in der Umgebung von Freiburg noch eine weitere *Ecdyonurus*-Art zu erwarten. Es handelt sich dabei um *E. forcipula* (PICTET, 1843). Im Gegensatz zu den drei obigen Arten sind sich *E. forcipula* und *E. venosus* sowohl morphologisch als auch in ihrem Lebenszyklus sehr ähnlich. Die enzymelektrophoretischen Untersuchungen von ZURWERRA et al. (1987) und HEFTI et al. (1988) haben jedoch gezeigt, daß eine eindeutige Trennung von Populationen dieser beiden Arten möglich ist. Um eine sichere Artenbestimmung vornehmen zu können, mußten wir folglich auf die enzymelektrophoretische Trennungsmethode zurückgreifen. Die Analysen der Elektrophoresen haben wir im Sinne der Arbeiten von ZURWERRA et al. (1986, 1987) ausgewertet. Es stand uns im weiteren Referenzmaterial von verschiedenen Populationen der Schweiz zur Verfügung.

Mit Hilfe der Enzymelektrophoresen ist es ferner möglich, die intraspezifischen genetischen Variabilitäten einer Population zu bestimmen und diese mit jenen anderer Populationen derselben Art zu vergleichen (FERGUSON, 1980). So können unsere Elektrophoresen Hinweise geben, ob die im Frühjahr 1987 und die im Herbst 1987 emergierten Individuen von *E. venosus* derselben Population oder zwei unabhängigen Populationen angehören.

3.2. Material und Methoden

3.2.1. Das Untersuchungsmaterial

In Tab. 5 sind die enzymelektrophoretisch untersuchten Arten, Populationen und Tiere nach ihren Fundorten aufgeführt. Alle Populationen stammen aus der Schweiz. Die Populationen von *E. venosus* werden bei dieser Auflistung in zwei Gruppen – Frühjahr (F) und Herbst (H) – aufgeteilt. Zur Gruppe «Frühjahr» gehören jene Individuen, welche im Mai/Juni 1987 emerrierten, zur Gruppe «Herbst» jene, welche im September/Okttober 1987 schlüpften. Diese Aufteilung ist notwendig, damit die genetischen Relationen zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden können.

Art	Pop. Gr.	Fundorte der unter- sucht. Populationen	Anzahl Tiere je Population
<i>E. venosus</i>	F	Galtera/Probestelle	33
"	H	Galtera/Probestelle	12
"	F	Saane/Probestelle	55
"	H	Saane/Probestelle	25
<i>E. forcipula</i>		Le Trient/Vernayaz	12

Tab. 5: Liste der enzymelektrophoretisch untersuchten Arten, Populationen bzw. Populationengruppen und Tiere nach Fundorten (Herkunftsland überall Schweiz). F = *E. venosus*-Individuen, welche im Frühjahr 1987 emerrierten, H = *E. venosus*-Individuen, welche im Herbst 1987 emerrierten.

3.2.2. Durchführung und Auswertung der Elektrophoresen

Enzymelektrophoretisch untersucht wurden nur Imagines, die bis zur Durchführung der Elektrophoresen bei -70° C konserviert wurden. Vor der Durchführung der Elektrophoresen wurden den Imagines die zur morphologischen Bestimmung dienenden Körperteile (Penis, Flügel usw.) abgetrennt. Die einzelnen Individuen wurden größtenteils als reife Nymphen gesammelt und im Labor bis zur Imago gezüchtet. Einige Imagines wurden auch direkt im Feld mit dem Luftnetz aus den Schwärmen eingefangen. Die Durchführung der Elektrophorese erfolgte unter Verwendung adaptierter Standardmethoden (AYALA et al., 1972; SCHOLL et al., 1978, und ZURWERRA et al., 1986, 1987).

Die Auswahl der untersuchten Enzymsysteme geschah nach folgenden Gesichtspunkten:

1. Es soll eine eindeutige enzymatische Trennung der beiden untersuchten Arten – *E. venosus* und *E. forcipula* – möglich sein. Deshalb wurden Enzyme ausgewählt, welche nach ZURWERRA et al. (1987) zwischen diesen Arten eine 100%ige Alleldifferenz aufweisen.

2. Um Populationsanalysen durchführen zu können, braucht man polymorphe Enzyme. Innerhalb einer Population treten dabei Enzymloci mit zwei oder mehr Elektromorphen auf. Dadurch besteht die Möglichkeit, daß heterozygote Individuen vorkommen. Auch hier wurde die Wahl der Enzyme aufgrund der Ergebnisse von ZURWERRA et al. (1987) vorgenommen.

Es wurden folgende Enzyme untersucht:

1. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT-1 und GOT-2)
(E.C. 2.6.1.1),
2. Hexokinase (HK-1 und HK-2)
(E.C. 2.7.1.1),
3. Malat-Dehydrogenase (MDH-1)
(E.C. 1.1.1.37),
4. Phosphoglucomutase (PGM)
(E.C. 2.7.5.1).

Die hier untersuchten Enzymsysteme sowie das Vorgehen bei der Auswertung der Zymogramme, die Berechnung der relativen Mobilitäten der im Zymogramm sichtbaren Enzymvarianten und die Bestimmung der Ähnlichkeitskoeffizienten sind bei ZURWERRA et al. (1985) beschrieben.

3.2.3. Berechnung der Heterozygositäts-Häufigkeit

Die Häufigkeit der Heterozygosität ist ein geeignetes Maß zur Bestimmung der genetischen Variabilität innerhalb einer Population (FERGUSON, 1980). Aufgrund eines Modells, dem das Hardy-Weinberg-Gesetz zugrunde liegt (FERGUSON, 1980), läßt sich eine theoretische Heterozygositäts-Häufigkeit für einen bestimmten Enzymlocus ($H_L[t]$) voraussagen. Dieser theoretische Wert soll in unseren Populationsanalysen mit der tatsächlich beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeit dieses Locus ($H_L[b]$) verglichen werden. Falls sich die untersuchten Populationen in einem dynamischen Gleichgewicht befinden, sind die theoretischen und die beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeiten sehr ähnlich.

Berechnung der theoretischen Heterozygositäts-Häufigkeit:

$$H_L(t) = 1 - \sum x_i^2 \quad (\text{FERGUSON, 1980}),$$

wobei x_i die Frequenz des i -ten Allels eines bestimmten Enzymlocus darstellt.

Berechnung der beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeit:

$$H_L(b) = \frac{I_m}{I_{tot}},$$

wobei I_m der Anzahl heterozygoter Individuen eines bestimmten Enzymlocus entspricht und I_{tot} die totale Anzahl (homozygoter wie heterozygoter) Individuen dieses bestimmten Locus angibt.

Gewöhnlich wird die Häufigkeit der Heterozygosität als mittlere (theoretische oder beobachtete) Heterozygositäts-Häufigkeit aller Loci ($\bar{H}_L[t]$ oder $\bar{H}_L[b]$) ausgedrückt:

$$\bar{H}_L = \frac{\sum H_L}{n} \quad (\text{FERGUSON, 1980}),$$

wobei n die Anzahl der untersuchten Enzymloci darstellt.

3.3. Resultate

In Tab. 6 sind die untersuchten Populationen mit ihren für die einzelnen Enzyme festgestellten Allelfrequenzen angegeben. Die Populationsgruppierungen wurden nach Tab. 5 vorgenommen.

Die durch paarweisen Vergleich der relativen Mobilitäten und ihrer Frequenzen für alle Elektromorphen bestimmten Identitätskoeffizienten sind in der Korrelationsmatrix dargestellt (Tab. 7).

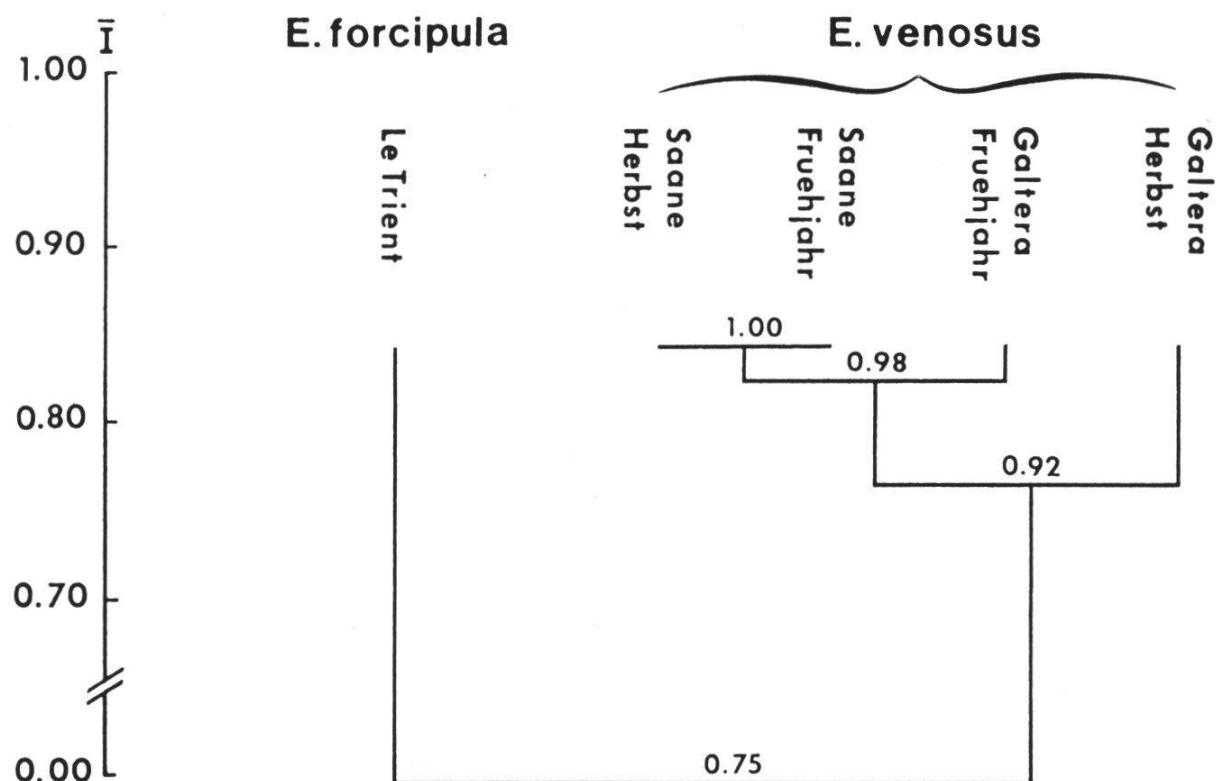
Um die verwandtschaftlichen Verhältnisse zwischen *E. venosus* und *E. forcipula* sowie zwischen den vier Populationsgruppen von *E. venosus* anschaulich wiedergeben zu können, wurde als Darstellungsform das Dendrogramm gewählt (Abb. 26). Die Konstruktion dieses Dendrogramms beruht auf der «unweighted pairgroup arithmetic average clustering method (UPGMA)» (FERGUSON, 1980).

Art	E. VENOSUS				E. FORCIPULA
	Galtera		Saane		
ort	Frühjahr	Herbst	Frühjahr	Herbst	
<hr/>					
GOT-1	31	58	7	14	36
101	69	42	93	86	64
GOT-2	86	92	74	77	40
97	14	8	26	23	0
99	0	0	0	0	60
101					
HK-1	0	0	0	0	8
101	100	100	100	100	92
102					
HK-2	100	100	100	100	100
108					
MDH-1	16	42	4	2	42
96	84	58	96	98	58
98					
PGM	0	0	0	0	100
101	89	100	96	94	0
102	11	0	4	6	0
103					

Tab. 6: Allelfrequenzen. Frühjahr = *E. venosus*-Individuen, die im Mai/Juni 1987 emerierten; Herbst = *E. venosus*-Individuen, die im September/Okttober 1987 emerierten.

	E. venosus				E. forcipula
	Saane		Galtera		
	F	H	F	H	
E. venosus/Saane F		100	98	92	75
E. venosus/Saane H			98	93	75
E. venosus/Galtera F				96	74
E. venosus/Galtera H					77
E. forcipula					

Tab. 7: Korrelationsmatrix mit Angabe der Identitätskoeffizienten. Populationsgruppierung siehe Tab. 5.



In Tab. 8 sind die theoretischen und beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeiten sowie die Differenz zwischen den beiden ($|H_L(b) - H_L(t)|$) dargestellt. Weiter werden die mittleren theoretischen und beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeiten für die vier Enzymloci und die Standardfehler von $H_L(b)$ angegeben.

3.4. Diskussion

3.4.1. Bestimmung der Arten

Im Dendrogramm (Abb. 26) heben sich die beiden Arten *E. venosus* und *E. dispar* deutlich voneinander ab, wenn sie auch durch einen relativ hohen \bar{I} -Wert ($\bar{I} = 0,75$) verbunden sind. Wie bereits ZURWERRA et al. (1987) zeigen konnten, besitzt *E. venosus* für die PGM die Elektromorphen 102 (Hauptallelfrequenz) und 103, *E. forcipula* hingegen die Elektromorphe 101 (Tab. 6). Durch diese 100%ige Alleldifferenzierung beim PGM-Locus lassen sich die beiden Arten, im Gegensatz zu morphologen Methoden, enzym-elektrophoretisch eindeutig trennen. Damit ist auch gesagt, daß während der Untersuchungszeit an beiden Probestellen – Galtera und Saane – *E. forcipula* nicht gefunden wurde. An den zwei Probestellen konnten nur *E. venosus*, *E. torrentis* und *E. dispar* nachgewiesen werden.

3.4.2. Populationsanalyse

Bei *E. venosus* wurden vier polymorphe Enzyme erfaßt: GOT-1, GOT-2, MDH-1 und PGM (Tab. 6). Für diese Enzyme wurden erwartungsgemäß heterozygote Individuen gefunden.

Von den insgesamt 16 beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeiten ($H_L(b)$) zeigen 13 eine große Ähnlichkeit mit den aus dem Hardy-Weinberg-Gesetz abgeleiteten theoretischen Häufigkeiten ($H_L(t)$). Große Differenzen zwischen der beobachteten und der theoretischen Heterozygositäts-Häufigkeit treten nur bei der GOT-1 in den Populationsgruppen Saane/Herbst, Galtera/Frühjahr und Galtera/Herbst auf. Dies könnte ein Hinweis dafür sein, daß in diesen drei Gruppen eine Artbildung stattfindet. Jedoch muß nicht jede Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gesetz zur Bildung einer neuen Art führen. Zeitliche Schwankungen im Heterozygositäts-Gleichgewicht einer Population sind durchaus möglich. Die für die drei Populationsgruppen festgestellten Abweichungen bei der GOT-1 sind zudem statistisch nicht eindeutig abgesichert, da pro Gruppe zu wenig Individuen enzymelektrophoretisch analysiert wurden (Tab. 8).

Hinsichtlich aller anderen Enzymsysteme, einschließlich der GOT-1 der Saane/Frühjahrs-Gruppe, befinden sich jedoch alle vier Populationsgruppen

	SAANE		F (55 Ind.)	SAANE		H (25 Ind.)	GALTERA		F (33 Ind.)	GALTERA		H (12 Ind.)
	$H_L(t)$	$H_L(b)$	$ H_L(t) - H_L(b) $	$H_L(t)$	$H_L(b)$	$ H_L(t) - H_L(b) $	$H_L(t)$	$H_L(b)$	$ H_L(t) - H_L(b) $	$H_L(t)$	$H_L(b)$	$ H_L(t) - H_L(b) $
GOT-1	0,130	0,111	0,019	0,241	0,040	0,201	0,428	0,063	0,365	0,487	0	0,487
GOT-2	0,385	0,355	0,030	0,354	0,208	0,146	0,241	0,219	0,022	0,147	0,152	0,005
MDH-1	0,077	0	0,077	0,039	0,042	0,003	0,269	0,147	0,122	0,487	0,333	0,154
PGM	0,077	0,078	0,001	0,113	0,120	0,007	0,195	0,156	0,039	0	0	0
$\bar{H}_L(b)$	$0,136 \left\{ \begin{array}{l} \\ 0,031 \end{array} \right\}$		$0,103 \left\{ \begin{array}{l} \\ 0,084 \end{array} \right\}$		$0,146 \left\{ \begin{array}{l} \\ 0,137 \end{array} \right\}$		$0,121 \left\{ \begin{array}{l} \\ 0,159 \end{array} \right\}$		$0,121 \left\{ \begin{array}{l} \\ 0,159 \end{array} \right\}$		$0,121 \left\{ \begin{array}{l} \\ 0,159 \end{array} \right\}$	
$\bar{H}_L(t)$	$0,167 \left\{ \begin{array}{l} \\ \pm 0,08 \end{array} \right\}$		$0,187 \left\{ \begin{array}{l} \\ \pm 0,04 \end{array} \right\}$		$0,283 \left\{ \begin{array}{l} \\ \pm 0,03 \end{array} \right\}$		$0,280 \left\{ \begin{array}{l} \\ \pm 0,08 \end{array} \right\}$		$0,280 \left\{ \begin{array}{l} \\ \pm 0,08 \end{array} \right\}$		$0,280 \left\{ \begin{array}{l} \\ \pm 0,08 \end{array} \right\}$	
SF												

Tab. 8: Heterozygositäts-Häufigkeiten der *E. venosus*-Populationsgruppen. F: *E. venosus*-Individuen, die im Frühjahr 1987 emigrierten; H: *E. venosus*-Individuen, die im Herbst 1987 emigrierten. $H_L(t)$ bzw. (b) : theoretische bzw. beobachtete Heterozygositäts-Häufigkeit. $\bar{H}_L(t)$ bzw. (b) : mittlere theoretische bzw. beobachtete Heterozygositäts-Häufigkeit pro Locus. SF: Standardfehler. Ind.: Anzahl aufgetrennter Individuen.

in einem dynamischen Gleichgewicht. Dies spiegelt sich auch in den geringen Unterschieden zwischen der mittleren beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeit ($\bar{H}_L[b]$) und der mittleren theoretischen Heterozygositäts-Häufigkeit ($\bar{H}_L[t]$) wider (Tab. 8).

Innerhalb einer Population tritt immer dann ein dynamisches Gleichgewicht auf, wenn:

- a) die Paarung zufällig erfolgt, d. h. jedes Individuum des einen Geschlechts dieselbe Chance besitzt, sich mit jedem Individuum des anderen Geschlechs zu paaren und umgekehrt (Panmixie),
- b) die Mutationsrate vernachlässigbar gering ist,
- c) keine Migration von Individuen zwischen Populationen stattfindet, d. h. die Population für sich abgeschlossen ist,
- d) keine Gendrift existiert, d. h. keine Allele zufällig und unabhängig von ihrem Selektionswert erhalten bleiben oder verloren gehen,
- e) keine natürliche Selektion herrscht, d. h. kein Allel gegenüber einem anderen Allel desselben Locus überlegen ist und dadurch mit zunehmender Frequenz in der Population vorkommt (FERGUSON, 1980).

Der für jede Populationsgruppe berechnete Standardfehler der beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeiten liegt zwischen $\pm 0,03$ und $\pm 0,08$ (Tab. 8). Damit unterscheiden sich die mittleren beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeiten ($\bar{H}_L[b]$) der einzelnen Populationsgruppen nicht signifikant. Zudem ist der Standardfehler der beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeiten innerhalb einer Populationsgruppe jeweils größer als der Standardfehler der mittleren Heterozygositäts-Häufigkeiten der 4 Populationsgruppen; letzterer weist nämlich nur einen Wert von $\pm 0,0094$ auf! Mit den hier untersuchten vier Enzymen und den relativ wenigen Individuen, die elektrophoretisch getrennt wurden, läßt sich also kein Unterschied in der Heterozygosität zwischen den vier Populationsgruppen feststellen. Dies weist darauf hin, daß an der jeweiligen Probestelle eine Vermischung der beiden Populationsgruppen stattfindet. Eine Trennung in zwei rein univoltine, unabhängige Populationen – eine im Frühjahr emergierende Population (Gruppe A/C, Kap. 2.2.3.) und eine im Herbst emergierende Population (Gruppe B, Kap. 2.2.3.) – ist folglich nicht möglich. Dennoch ist es bemerkenswert, daß die mittleren beobachteten Heterozygositäts-Häufigkeiten ($\bar{H}_L[b]$) der Galtera/Herbst- und Saane/Herbst-Populationsgruppe (= Gruppe B) tiefer liegen als jene der Galtera/Frühjahrs- bzw. Saane/Frühjahrs-Populationsgruppe (= Gruppe A/C). Diese Feststellung ist insofern interessant, da Organismen, deren Umgebungsfaktoren stabil sind, eine geringere Heterozygosität aufweisen sollten als Organismen derselben Art, deren Umgebungsfaktoren instabil sind (FERGUSON, 1980). Es ist anzunehmen, daß in unserem Fall die im Herbst emergierenden Individuen (Gruppe B), deren Larvalentwicklung in einer kürzeren Zeitperiode (Sommer)

erfolgt als jene der im Frühjahr emergierenden (Gruppe A/C), stabilere Umweltbedingungen vorfinden. Als Beispiel könnte man die Wassertemperatur, einen sehr wichtigen ökologischen Faktor, welcher viele weitere Faktoren beeinflußt, nennen. Die Wassertemperatur bleibt in den Sommermonaten relativ stabil. Zwischen Herbst und Frühjahr, d. h. während der larvalen Entwicklungszeit der im Frühjahr emergierenden Individuen, weist die Wassertemperatur der Fließgewässer jedoch große saisonale Schwankungen auf.

4. Dank

An dieser Stelle möchten wir Herrn Dipl.-Biol. D. Hefti für die fachliche Beratung bei den ökologischen Untersuchungen danken. Frau D. Janke und Frau L. Sygnarski danken wir für die Mithilfe bei der Durchführung der Elektrophoresen, dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für seine finanzielle Unterstützung (Forschungsprojekt Nr. 3.506-0.86).

5. Zusammenfassung – Résumé – Summary

Zusammenfassung

Während einer achtmonatigen Untersuchungszeit wurden die *Ecdyonurus venosus*-Populationen (Ephemeroptera, Heptageniidae) von zwei Fließgewässern des Kantons Freiburg (Schweiz), die sich geomorphologisch, topographisch und ökologisch stark unterscheiden, mit autökologischen und enzymelektrophoretischen Methoden untersucht. Die Galtera, die in einem engen V-Tal fließt, wenig flache, strömungsarme Zonen besitzt und stark beschattet ist, wies eine bedeutend niedrigere Populationsdichte auf als die Saane, welche durch weite lenitische Zonen gekennzeichnet ist.

In beiden Fließgewässern konnte eine Emergenzperiode im Frühjahr und eine im Herbst festgestellt werden. Erstaunlicherweise traten aber bereits vor der Herbst-Emergenzzeit junge Larven auf, welche das Nymphenstadium bis Ende des Untersuchungsjahres nicht mehr erreichten und somit erst im folgenden Frühjahr emergieren konnten. Dies bedeutet, daß an beiden Probestellen (Galtera und Saane) je zwei in ihrer Entwicklung zeitlich verschobene *E. venosus*-Populationen vorkommen. Da jedoch die enzymelektrophoretischen Untersuchungen für alle diese Populationen sehr ähnliche genetische Strukturen ergaben, ist es wahrscheinlich, daß sich die beiden Populationen der gleichen Probestelle zum Teil vermischen und somit partiell bivoltin sind. Das Vorkommen jeweils nur einer rein bivoltinen Population, wie sie RAWLINSON (1939) und RIEDERER (1981) beschrieben, muß aufgrund unserer Untersuchungen ausgeschlossen werden.

Hinsichtlich des Verteilungsmusters der Larven konnte wenigstens für die im Frühjahr schlüpfenden Individuen stets eine gruppierte Verteilung im Benthal nachgewiesen werden. Unter Anwendung des Verteilungsindex 1/k (ELLIOTT, 1977) konnte