

## Elektrophoretische Untersuchungen an europäischen Arten der Gattungen *Lacerta* und *Podarcis*

### I. Die *Podarcis*-Formen der griechischen Inseln Milos und Skiros

Von W. MAYER und F. TIEDEMANN

Eingegangen am 6. November 1979

#### Einleitung

Die vielfachen Irrtümer und Unsicherheiten bei der systematischen Zuordnung der im Mittelmeerraum verbreiteten Formen der Gattungen *Lacerta* und *Podarcis* erklären sich dadurch, daß rein äußerliche Merkmale zur Klärung derartiger Fragen oft unzureichend sind. Dies gilt speziell für diese beiden Gattungen, bei denen viele Arten und Unterarten meist nur mehr in Zeichnungsmuster und Färbung subtile Unterschiedlichkeiten aufweisen, in Merkmalen also, deren systematischer Wert aufgrund der hohen Variabilität fraglich wird.

Die bisher bei europäischen Reptilien kaum angewandte Proteinelektrophorese wird von uns aus diesem Grund zur weiteren Klärung systematisch strittiger Fragen herangezogen. Wir verglichen Eidechsen der Inseln Milos und Skiros mit Festlandspopulationen von *Podarcis taurica*, *Podarcis erhardii* und *Podarcis muralis*.

#### Problematik

Die Milos-Eidechse wurde seit ihrer Erstbeschreibung durch BEDRIAGA (1882) als geographische Rasse entweder zu *Lacerta muralis* (BOULENGER 1920; WERNER 1935; WETTSTEIN 1953; BUCHHOLZ 1962) oder *Lacerta erhardii* (L. MÜLLER 1934; MERTENS und MÜLLER 1928, 1940) gestellt. Dieser zum Großteil nur sehr unkritischen Vorgangsweise enthielt sich KLEMMER (1957), der durch seine craniologischen Untersuchungen zu dem Ergebnis gelangte, daß die Milos-Eidechse eine eigene Art darstellt. Aber auch KLEMMER stellt *Lacerta milensis* in die nächste Verwandtschaft zu *Lacerta muralis*.

1930 beschrieb WERNER die Form von Skiros als *Lacerta taurica gaigeae*. 1940 stellten MERTENS und MÜLLER in ihrer Liste der europäischen Amphibien und Reptilien *gaigeae* als Unterart zu *Lacerta erhardii*, eine Vorgangsweise, für die ähnlich wie bei der Milos-Eidechse rein tiergeographische Gesichtspunkte maßgebend gewesen sein dürften. Aufgrund neuerlicher Untersuchungen kam WETTSTEIN (1953) zu der Feststellung, daß die systematische Zuordnung zu *Lacerta taurica* oder *Lacerta erhardii* einen Gewaltakt darstellte, und erhob die Skiros-Eidechse, ähnlich wie KLEMMER die Milos-Eidechse, in den Artrang. Nichtsdestoweniger führten MERTENS und WERMUTH (1960) diese Form wieder

als Unterart von *Lacerta erhardii*, ein Vorgehen, dem sich GRUBER und SCHULZE-WESTRUM (1971) bei ihrer Überarbeitung der Cycladen-Eidechsen der Nördlichen Sporaden angeschlossen.

## Material und Methode

14 Exemplare der Milos-Eidechsen von der Insel Milos, 24 Exemplare der Skiros-Eidechse, 20 Exemplare von *Podarcis taurica ionica* von der nördlichen Peloponnes (Archea Feneos), insgesamt 38 Exemplare von *Podarcis erhardii* von einigen Fundorten in Nordgriechenland und vom jugoslawischen Teil des Ochridsees und je 8 Exemplare von *Podarcis muralis albanica* vom Olymp und vom Chelmosgebirge auf der Peloponnes standen uns für diese Untersuchungen zur Verfügung. Da im Bereich der untersuchten Proteine zwischen den für diese Untersuchungen herangezogenen Teilpopulationen einer Art (auch zwischen den beiden in Frage kommenden *erhardii*-Unterarten *riveti* und *thessalica*) keine signifikanten Unterschiede gefunden wurden, konnten die Ergebnisse für die vergleichende Auswertung gepoolt werden.

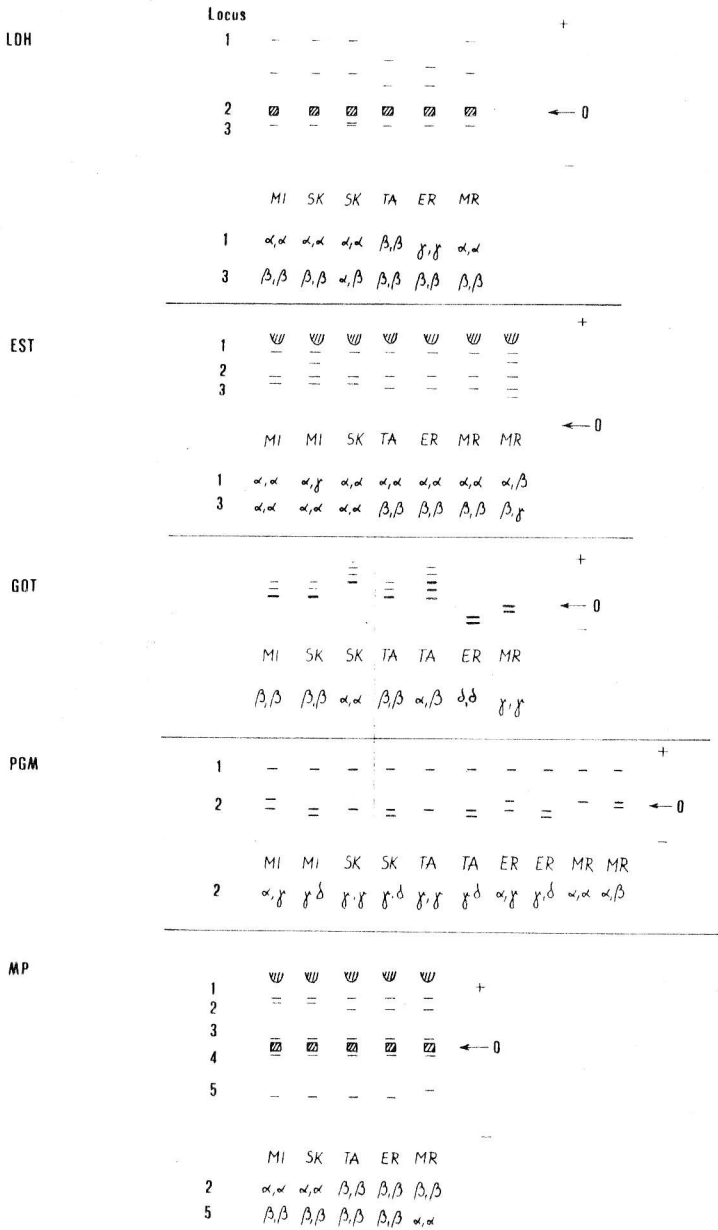
Die Tiere wurden bis zur Untersuchung im Laboratorium gehalten. Nach Betäubung mit Äther wurden Muskulatur aus den Schenkeln, Leber, Herz und Blut entnommen. Die Eidechsen wurden nach der Probenentnahme für spätere morphologische Untersuchungen entsprechend präpariert. Das mit Citratlösung versetzte Blut wurde zentrifugiert, die erhaltenen Erythrozyten wurden mit destilliertem Wasser hämolytisiert und die Probe bis zur Verwendung tiefgefroren. Ebenso wurden die Leberproben tiefgefroren, während Herz und Muskeln noch am selben Tag untersucht worden sind. Die nicht sofort ausgewerteten Proben wurden innerhalb weniger Tage nach der Tötung dieser Tiere weiterverarbeitet. Die Gewebsproben wurden mit dem ein- bis zweifachen Volumen Wasser homogenisiert und der nach dem Zentrifugieren erhaltene Überstand auf Filterpapierstreifen aufgenommen. Die so erhaltenen Proben wurden an einer Schnittstelle des Gels aufgebracht.

Die folgenden Proteine wurden ausgewertet: Lactatdehydrogenase 1<sup>1</sup> (LDH1), Lactatdehydrogenase 2 (LDH2), Glukosephosphatisomerase (GPI), Malatdehydrogenase (MDH),  $\alpha$ -Glycerophosphatdehydrogenase ( $\alpha$ GPDH), Kreatinphosphokinase (CPK), Glutamat-Oxalacetattransaminase (GOT) aus Muskeln bzw. Herz; Phosphoglucomutase 1 (PGM1), Phosphoglucomutase 2 (PGM2) und ein zusätzliches Protein mit LDH-Aktivität (LDH3) aus der Leber, sowie 3 Esterasen aus dem Hämolyt. Zusätzlich wurden 5 Nicht-Enzym-Proteine (MP) aus dem Muskel dargestellt. Die Trennung der Proteine erfolgte auf 12-prozentigem Stärkegel (Fa. Electrostar) bei pH 7 (Brückenpuffer 0,135 Mol/l Tris, 0,045 Mol/l Citronensäure) oder für die aus Leber dargestellten Enzyme bei pH 8 (0,135 Mol/l Tris, 0,026 Mol/l Citronensäure). Als Gelpuffer wurde 3-prozentiger Brückenpuffer verwendet. Die Darstellung der Enzymbanden erfolgte nach der Methode von SHAW und PRASAD (1970), die nicht enzymatisch aktiven Muskelproteine wurden durch Anfärben mit Amidoschwarz sichtbar gemacht.

## Ergebnisse und Diskussion

9 der 18 untersuchten Genloci (LDH1, MDH, CPK,  $\alpha$ GPDH, PGM1, EST2, MP1, MP3, MP5) erwiesen sich bei allen untersuchten Individuen als identisch besetzt. Die Frequenzen der Allele der übrigen Loci sind in Tabelle 1 aufgeführt, die schematische Darstellung der Elektropherogramme zeigt die Abbildung. Die Genfrequenzen der polymorphen Loci stehen in guter Übereinstimmung mit der Hardy-Weinberg-Gleichung. Die nach der Methode von NEI (1971, 1972) ermittelten genetischen Distanzen der von uns untersuchten Taxa liegen zwischen 0,02 und 0,4 (Tab. 2), sind also niedrig im Vergleich zu anderen ähnlich verwandten systematischen Einheiten. Die Distanz der Formen von Milos und Skiros wäre mit 0,02 nach NEI (1975) nur im Bereich von Lokalrassen; auch ihre Distanzen zur anscheinend nächstverwandten *Podarcis taurica* lägen mit 0,2 nur im Rahmen einer Subspecies.

<sup>1</sup> Die Bezeichnungen LDH1 und LDH2 sind analog den Bezeichnungen LDHB bzw. LDHI und LDHA bzw. LDHM, beziehen sich also auf Homotetramere der vom Gen exprimierten Unter-einheiten. Sie sind nicht zu verwechseln mit den Bezeichnungen LDH1-LDH5 für die 5 möglichen Tetrameren, die aus den Unter-einheiten gebildet werden können.



Schematische Darstellung der Elektropherogramme. (0 = Auftragsstelle; Abkürzungen s. Tab. 1)

Tabelle 1

## Genfrequenzen der nicht bei allen untersuchten Individuen identisch besetzten Loci

(ML = Milos-Eidechse, SK = Skiros-Eidechse, TA = *Podarcis taurica*, ER = *Podarcis erhardii*, MR = *Podarcis muralis*; in Klammern ist die Anzahl der jeweils untersuchten Exemplare angegeben)

Locus	Allel	ML (14)	SK (24)	TA (20)	ER (38)	MR (16)
LDH 1	$\alpha$	1	1	-	-	1
	$\beta$	-	-	1	-	-
	$\gamma$	-	-	-	1	-
LDH 3	$\alpha$	-	0.15	-	-	-
	$\beta$	1	0.85	1	1	1
PGM 2	$\alpha$	0.11	-	-	0.33	0.97
	$\beta$	-	-	-	-	0.03
	$\gamma$	0.71	0.95	0.95	0.63	-
	$\delta$	0.18	0.05	0.05	0.04	-
GOT	$\alpha$	-	0.17	0.08	-	-
	$\beta$	1	0.83	0.92	-	-
	$\gamma$	-	-	-	-	1
	$\delta$	-	-	-	1	-
GPI	$\alpha$	0.10	-	-	-	1
	$\beta$	0.90	1	1	1	-
EST 1	$\alpha$	0.50	1	1	1	0.91
	$\beta$	-	-	-	-	0.09
	$\gamma$	0.50	-	-	-	-
EST 3	$\alpha$	1	1	-	-	-
	$\beta$	-	-	1	1	0.97
	$\gamma$	-	-	-	-	0.03
MP 2	$\alpha$	1	1	-	-	-
	$\beta$	-	-	1	1	1
MP 5	$\alpha$	-	-	-	-	1
	$\beta$	1	1	1	1	-

Tabelle 2

Nei's genetische Distanzen (D) (Abkürzungen siehe Tab. 1)

	MR	ER	TA	SK
ML	.394	.288	.212	.021
SK	.400	.260	.190	
TA	.320	.188		
ER	.289			

Allerdings liegt auch der Wert für die beiden gut isolierten und teilweise sympatrischen Arten *P. taurica* und *P. erhardii* in derselben Größenordnung (Tab. 2). Außerdem weisen bereits GORMAN et al. (1975) auf die Tatsache hin, daß auch die genetische Distanz zwischen *P. melisellensis* und *P. sicula* (zwei nach unserer Ansicht nicht sehr nahe verwandte Arten) kleiner ist als zwischen „sogenannten Subspecies“ einiger Säugetiere und Reptilien.

Da also die genetischen Distanzen zwischen den Arten der Gattung *Podarcis* allgemein vergleichsweise niedrig sind, scheint uns der Artrang der Milos-Eidechse (*P. milensis*) bestätigt. Doch gehört diese Art nicht in die unmittelbare Verwandtschaft von *P. muralis*, sondern von *P. taurica*. Der systematische Status der Form von Skiros ist jedoch auf Grund unserer Befunde revisionsbedürftig (TIEDEMANN und MAYER in Vorbereitung).

Nach NEI (1971, 1972) ist die genetische Distanz proportional der Zeit der genetischen Isolation:  $D = 2\alpha t$ , jedoch liegen in der Literatur angegebene Schätzwerte für den Proportionalitätsfaktor  $2\alpha$  mit  $1,35 \times 10^{-6}$  pro Jahr (NEI 1971) bis  $5,5 \times 10^{-8}$  pro Jahr (GORMAN et al. 1974) so weit gestreut, daß wir es derzeit nicht wagen können, eine Schätzung der Dauer der Isolation der untersuchten Taxa durchzuführen.

### Zusammenfassung

Anhand proteinelektrophoretischer Daten über 18 Genloci wurden Kleinlacerten der griechischen Inseln Milos und Skiros mit Festlandpopulationen von *Podarcis taurica ionica*, *Podarcis muralis albanica* und *Podarcis erhardii* verglichen. Die Genfrequenzen der polymorphen Loci werden angegeben und die genetischen Distanzen nach NEI errechnet. Die Größen der genetischen Distanzen werden diskutiert und *Podarcis milensis* als Art bestätigt. Die Populationen von Milos und Skiros erwiesen sich als nächstverwandt, beide sind in die nahe Verwandtschaft von *Podarcis taurica* und nicht von *Podarcis muralis* zu stellen.

### Summary

*Electrophoretic investigations on European species of the genus Lacerta and Podarcis. I. The Podarcis forms from the Greek islands Milos and Skiros*

Small lizards from the Greek islands Milos and Skiros are compared with populations from the continent of *Podarcis taurica ionica*, *Podarcis muralis albanica* and *Podarcis erhardii* by employing protein-electrophoretic data for 18 genloci. The gen frequencies of the polymorph loci are given and the genetic distances are calculated according to NEI. Extension of genetic distances is discussed. *Podarcis milensis* can be confirmed as a species. Populations of Milos and Skiros have shown to be closest related, both have to be considered as closely related to *Podarcis taurica* and not to *Podarcis muralis*.

### Résumé

*Recherches électrophorétiques concernant les espèces européennes du genre Lacerta et Podarcis. I. Les formes de Podarcis des îles grecques Milos et Skiros*

On a comparé les dates protéino-électrophorétiques de 18 locus génétiques des petites lacertes des îles grecques Milos et Skiros et des populations continentales des *Podarcis taurica ionica*, *Podarcis muralis albanica* et *Podarcis erhardii*. Après avoir évalué les fréquences des locus polymorphes, les distances génétiques ont été calculées avec la formule de NEI. Elles ont été l'objet de discussion et on peut affirmer que *Podarcis milensis* est une espèce autonome. Il se montra que les populations des îles Milos et Skiros sont très apparentées et que toutes les deux sont proches parentes de *Podarcis taurica* mais point de *Podarcis muralis*.

### Literatur

- BEDRIAGA, J., 1882: Die Amphibien und Reptilien Griechenlands. Bull. Soc. Natural., Moscou, 56, 43–103.  
 BOULENGER, G. A., 1920: Monograph of the Lacertidae. London, Vol. 1, 1–352.  
 BUCHHOLZ, K. F., 1962: Die Mauereidechsen von Ananes, Milos Archipel. Bonn. Zool. Beiträge 13, 216–218.  
 GORMAN, G.; SOULE, M.; YANG, Y., 1975: Evolutionary genetics of insular adriatic lizards. Evolution 29, 52–71.

- GRUBER, U., SCHULTZE-WESTRUM, TH., 1971: Zur Taxonomie und Ökologie der Cycladen-Eidechse (*Lacerta erhardii*) von den Nördlichen Sporaden. Bonn. Zool. Beiträge 22, 101–130.
- MERTENS, R.; MÜLLER, L., 1928: Liste der Amphibien und Reptilien Europas. Abh. Senckenb. naturf. Ges. 41, 1–62.
- — 1940: Liste der Amphibien und Reptilien Europas (2. Liste). Abh. Senckenb. naturf. Ges. 451, 1–56.
- MERTENS, R.; WERMUTH, H., 1960: Die Amphibien und Reptilien Europas (3. Liste nach dem Stand vom 1. Januar 1960). Frankfurt: Verlag Waldemar Kramer.
- MÜLLER, L., 1934: Neigung zum Melanismus bei Reptilien von der Insel Milos. Bl. Aquar.-Terrar. Kd. 45, 271–273.
- NEI, M., 1971: Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on protein identity. Amer. Natur. 105, 385–398.
- 1972: Genetic distance between populations. Amer. Natur. 106, 283–292.
- 1975: Molecular population genetics and evolution. In: Frontiers of Biology. Ed. by NEUBERGER, A.; TATUM, E. L. Vol. 40. North Holland, Amsterdam.
- SHAW, CH.; PRASAD, R., 1970: Starch gel electrophoresis of enzymes – A compilation of recipes. Biochem. Genet. 4, 297–320.
- WERNER, F., 1930: Contribution to the knowledge of the reptiles and amphibians of Greece especially the aegean islands. Occ. Pap. Mus. Zool., Univ. Michigan, 211, 1–47.
- 1935: Reptilien der ägäischen Inseln. Sitzb. Akad. Wiss., Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I, 144, 92–93.
- WETTSTEIN, O., 1953: Herpetologica aegaea. Sitzb. Akad. Wiss., Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I, 162, 651–833.

*Anschrift der Verfasser:* Dr. WERNER MAYER, Medizinisch-chemisches Institut der Universität Wien, Währingerstr. 10, A-1090 Wien; Dr. FRANZ TIEDEMANN, Naturhistorisches Museum Wien, Burgring 7, A-1014 Wien