

TRAGE SLAKKEN, SNELLE EVOLUTIE: DNA-VERWANTSCHAPSPATRONEN TUSSEN *ALBINARIA*, *CARINIGERA*, *CRISTATARIA*, *ISABELLARIA* EN *SERICATA* SOORTEN

D.R. Uit de Weerd

Slow snails, fast evolution: patterns in DNA-interrelationships between *Albinaria*, *Carinigera*, *Cristataria*, *Isabellaria* en *Sericata* species

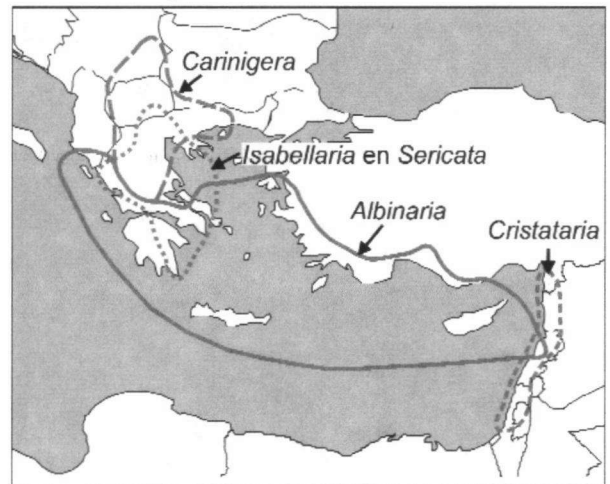
The enormous diversity of eastern-Mediterranean Alopiinae, placed in the genera *Albinaria*, *Carinigera*, *Cristataria*, *Isabellaria* en *Sericata*, has both inspired and hampered taxonomic studies for over a century and a half. With the advent of DNA-sequencing it has become possible to re-investigate and re-evaluate previous morphology-based hypotheses about the interrelationships and evolution within this group. DNA-sequences retrieved geographical clusters of species of common descent. In these clusters morphological characters, hitherto considered diagnostic for genera, evolved independently. These results demonstrate that their low vagility has constrained the spread of the snails studied far more and far deeper in time than previously thought.

De uitzonderlijke vormenrijkdom van landslakken uit de subfamilie Alopiinae (familie Clausiliidae), met name in de kuststreken ten noordoosten van de Middellandse Zee, fascineert onderzoekers al ruim anderhalve eeuw. Binnen een relatief klein gebied, dat zich uitstrekt van de zuidelijke Balkan tot in Israël, komen maar liefst 170 soorten van deze subfamilie voor. Deze Oost-Mediterrane Alopiinae worden opgedeeld over vijf genera: *Albinaria*, *Carinigera*, *Cristataria*, *Isabellaria* en *Sericata*. Met meer dan 100 beschreven soorten, is het genus *Albinaria* verreweg het omvangrijkst. Het is dan ook niet verwonderlijk dat dit laatste genus aanvankelijk centraal stond in het onderzoek van Edi Gittenberger en vier opeenvolgende promovendi (Kemperman, 1992; Schilthuizen, 1994; Van Moorsel, 2001; Uit de Weerd, 2004) aan de Universiteit Leiden. Mijn promotie-onderzoek (Uit de Weerd, 2004), dat hieronder besproken wordt, vormt het (voorlopig) laatste in de reeks.

Hoe is deze diversiteit aan Oost-Mediterrane Alopiinae ontstaan? Al sinds de negentiende eeuw wordt gespeculeerd dat geografische isolatie hierbij een rol heeft gespeeld (Boettger, 1883). De slakken komen vrijwel uitsluitend voor op kalksteenafzettingen, een biotoop dat nogal gefragmenteerd is in het Oost-Mediterrane gebied. Migratie tussen 'kalkeilanden' wordt bemoeilijkt door de geringe voortbewegingssnelheid van de slakken. Hierdoor zouden genetische en morfologische verschillen tussen slakken op verschillende kalkeilandjes kunnen accumuleren.

Het bovenstaande scenario voorspelt dat verspreidings- en verwantschapspatronen vaak samenvallen: verwante soorten zijn te vinden in naburige gebieden. De indeling van soorten in de genera *Albinaria*, *Carinigera*, *Cristataria*, *Isabellaria*, en *Sericata*, gebaseerd op conchologische en genitaal-anatomische kenmerken, laat echter een heel ander patroon zien. De verspreidingsgebieden van de genera overlappen (fig. 1), en de genera *Carinigera*, *Isabellaria* en *Sericata* wisselen elkaar zelfs op een mozaïek-achtige wijze af over vrijwel het gehele vasteland van Griekenland (fig. 2). Hier komt bij dat sommige genera onderling ook morfologisch slecht afgegrensd zijn, waardoor de indeling van soorten vaak een nogal arbitrair karakter krijgt. Alleen de genera

Carinigera en *Isabellaria* zijn in de traditionele definitie (Nordsieck, 1969, 1971, 1972, 1974, 1977) duidelijk als zodanig te herkennen op basis van hun morfologie. Alle *Isabellaria*-soorten beschikken over een sluitmechanisme (clausiliair apparaat, CA) dat de gehele schelpopening kan afsluiten, terwijl er bij de overige vier geslachten een soort gootje, gevormd uit twee lamellen, openblijft. Lange tijd werd gedacht dat hun CA duidde op een gemeenschappelijke afstamming van alle oorspronkelijke *Isabellaria* soorten. Op vergelijkbare wijze kan *Carinigera* van de andere genera worden onderscheiden door genitaal-anatomische kenmerken.



Figuur 1. Schematische weergave van de verspreiding (van NW naar ZO) van de genera *Carinigera*, *Isabellaria* & *Sericata*, *Albinaria*, en *Cristataria*.

DNA-sequenties bieden een unieke mogelijkheid om de verwantschappen tussen soorten van de Oost-Mediterrane Alopiinae te ontrafelen en daarmee licht te werpen op de diversificatie binnen deze groep. DNA-sequenties van verschillende soorten kunnen letter voor letter met elkaar vergeleken worden, waarbij iedere 'letter' in feite een kenmerk is, dat informatie over verwantschappen kan bevatten. Op deze manier leveren DNA-sequenties vele discrete kenmerken, die kunnen worden geanalyseerd door middel van modellen en statistische toetsen. Uit een representatieve bemonstering van DNA van 51 soorten Oost-Mediterrane Alopiinae, blijkt dat zij allen afstammen van één gemeenschappelijke voorouder. Verder onderzoek heeft geleid tot nieuwe inzichten in

de verwantschappen tussen deze Oost-Mediterrane Alopiinae en de evolutie van de groep.

DNA-onderzoek toont aan dat de tot nu toe gebruikte morfologische kenmerken vaak een foutief beeld geven van verwantschappen. Dit geldt zelfs voor de relatief duidelijke diagnostische kenmerken van *Carinigera* en *Isabellaria*. Eerder DNA-onderzoek (Van Moorsel, Dijkstra en Gittenberger, 2000) plaatste al een aantal van de zgn. *Isabellaria* soorten binnen *Albinaria*. De nieuwe resultaten tonen aan dat ook de overige *Isabellaria* soorten niet een eigen gemeenschappelijke voorouder hebben, maar vaak nauwer verwant zijn aan naburige *Carinigera* of *Sericata* soorten. Het gevonden verwantschapspatroon suggereert dat het compleet afsluitende CA-type van de *Isabellaria* soorten meerdere keren onafhankelijk is geëvolueerd, en dus waarschijnlijk een bepaald voordeel biedt. Mogelijke voordelen van dit CA-type zijn bescherming tegen predatie en uitdroging. De genitaal-anatomische kenmerken, die worden gebruikt bij het herkennen en plaatsen van het genus *Carinigera*, blijken minimaal twee keer te zijn ontstaan.

De verwantschapspatronen die gevonden worden op basis van DNA-onderzoek vallen daarentegen bijzonder goed samen met verspreidingsgegevens. Afstammelingen van één voorouder vormen vrijwel altijd geografische clusters. Alleen de soort *Carinigera pharsalica* vormt in dit opzicht een uitzondering. Deze soort komt voor in Midden-Griekenland, bijna 200 kilometer verwijderd van haar - naar nu blijkt - naaste verwanten, die gevonden worden in NO Griekenland en aangrenzende Bulgarije. Het nauwst verwant is *Carinigera pharsalica* aan slakken uit de directe omgeving van marmergroeven uit de oudheid. Waarschijnlijk zijn de voorouders van *Carinigera pharsalica* tijdens het transport van marmer uit een van deze groeven meegelift naar Midden-Griekenland. Deze theorie wordt ondersteund door vergelijkingen van DNA-sequenties van verschillende individuen van *C. pharsalica*. Er hebben zich nog nauwelijks verschillen in het DNA ophoopt binnen deze 'soort', wat een aanwijzing is voor een korte evolutionaire geschiedenis.

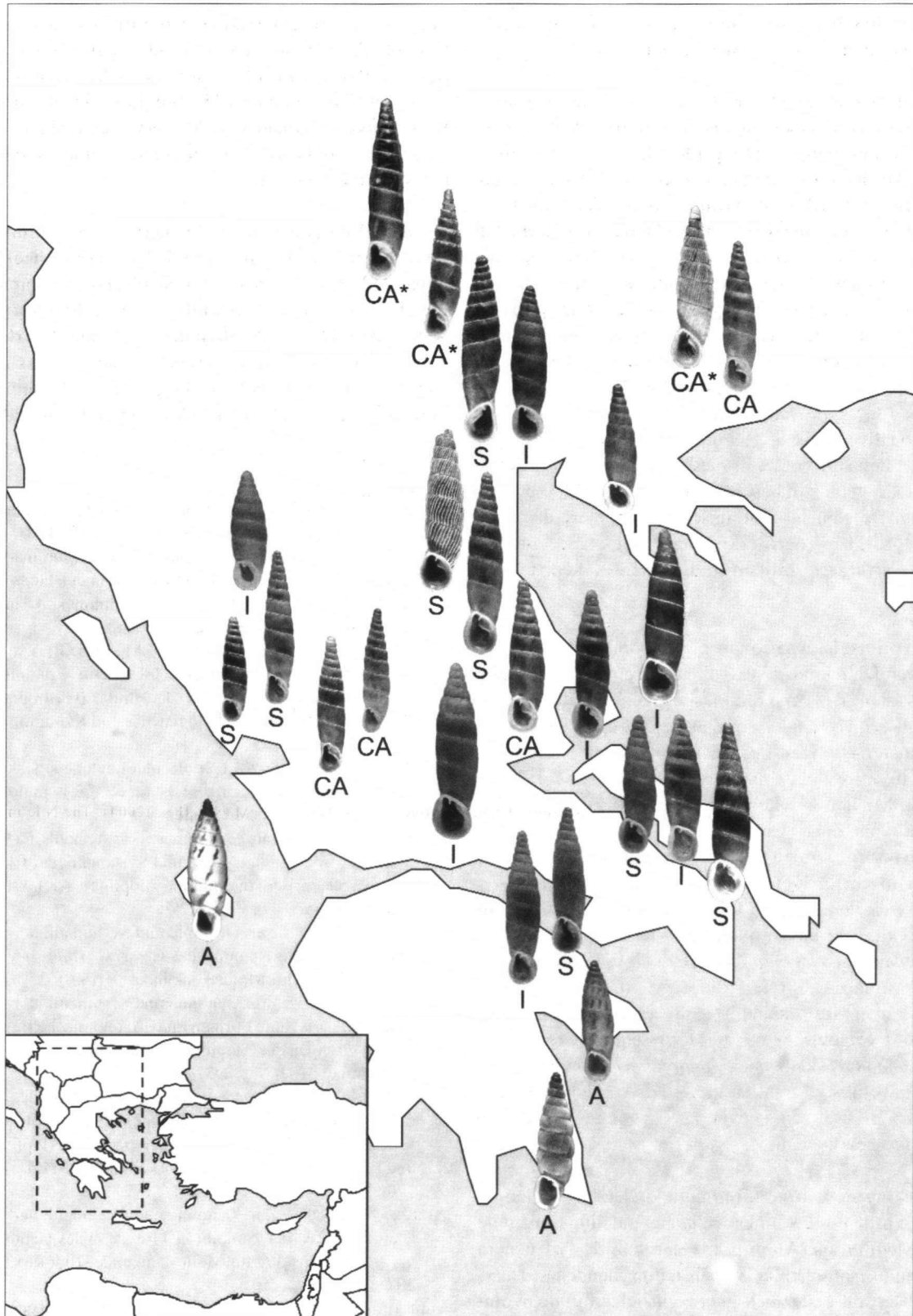
De uitkomsten van mijn promotie-onderzoek zullen de aanzet vormen tot een nieuwe genus-indeling binnen de Oost-Mediterrane Alopiinae. Geen van de vijf genera blijkt in oorspronkelijke samenstelling houdbaar. Daarnaast heeft dit onderzoek nieuwe inzichten in de evolutie van deze groep opgeleverd. Tot nu toe is meestal (impliciet) aangenomen dat de meeste morfologische kenmerken binnen de bestudeerde groepen slechts eenmaal, of hoogstens enkele malen, onafhankelijk zijn ontstaan. De fragmentarische verspreiding van deze kenmerken moet in dat geval worden verklaard door migratie van de soorten die dit kenmerk overerfden. De resultaten van het DNA-onderzoek laten het tegen-

overgestelde zien, namelijk geografische clusters van afstammelingen van één voorouder. Binnen afzonderlijke clusters konden soortgelijke kenmerken onafhankelijk ontstaan. Dit betekent dat de spreekwoordelijke traagheid van de onderzochte slakken een veel grotere rol heeft gespeeld in hun evolutie dan tot nu toe werd aangenomen.

Iets dergelijks zou zich ook kunnen voordoen binnen de familie Clausiliidae als geheel. De familie heeft een bijna wereldwijde, maar gefragmenteerde, verspreiding, waarbij groepen uit verschillende werelddelen grote overeenkomst in schelpkenmerken kunnen vertonen. Kortom, een zeer interessante familie, waar ik, in samenwerking met Edi Gittenberger en Rei Ueshima, de komende tijd uitgebreid DNA-onderzoek aan zal verrichten.

Literatuur

- BRANDT, R.A., 1962. Über neue und wenig bekannte Clausiliiden. *Archiv für Molluskenkunde* 91(4/6): 127-150.
- KEMPERMAN, T.C.M., 1992. Systematics and evolutionary history of the *Albinaria* species from the Ionian islands of Kephallinia and Ithaka (Gastropoda Pulmonata: Clausiliidae). Proefschrift, Universiteit Leiden.
- VAN MOORSEL, C.H.M., DIJKSTRA, E.G.M., AND GITTEBERGER, E. 2000. Molecular evidence for repetitive parallel evolution of shell structure in Clausiliidae (Gastropoda, Pulmonata). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17(2): 200-208.
- VAN MOORSEL, C.H.M., 2001. Molecular phylogenetics of a speciose group: *Albinaria* and the search for homology. Proefschrift, Universiteit Leiden.
- NORDSIECK, H. 1969. Zur Anatomie und Systematik der Clausilien, VI. Genitalsystem und Systematik der Clausiliidae, besonders der Unterfamilie Alopiinae. *Archiv für Molluskenkunde*, 99(5/6): 247-265.
- NORDSIECK, H. 1971. Zur Anatomie und Systematik der Clausilien, X. Zur Kenntnis des Genus *Cristataria* VEST 1867, I. *Archiv für Molluskenkunde*, 101(5/6): 237-261.
- NORDSIECK, H. 1972. Zur Anatomie und Systematik der Clausilien, XI. Neue Formen und Taxonomische Revision einiger Gruppen der Alopiinae. *Archiv für Molluskenkunde*, 102(1/3): 1-51.
- NORDSIECK, H. 1974. Zur Anatomie und Systematik der Clausilien, XV. Neue Clausilien der Balkan-Halbinsel (mit taxonomischer Revision einiger Gruppen der Alopiinae und Baleinae). *Archiv für Molluskenkunde*, 104(4/6): 123-170.
- NORDSIECK, H. 1977. Zur Anatomie und Systematik der Clausilien, XVII. Taxonomische Revision des Genus *Albinaria* VEST. *Archiv für Molluskenkunde*, 107(4/6): 285-307.
- SCHILTHUIZEN, M., 1994. Differentiation and hybridisation in a polytypic snail. Proefschrift, Universiteit Leiden.
- UIT DE WEERD, D.R., 2004. Molecular phylogenetic history of eastern Mediterranean Alopiinae, a group of morphologically indeterminate land snails. Proefschrift, Universiteit Leiden.



Figuur 2. Schelpen en verspreiding van enkele soorten *Albinaria* (A), *Isabellaria* (I), *Sericata* (S) and *Carinigera* (CA) species
* Naar Brandt (1962).

Adres van de auteur:
 Institute of Biology, Leiden University
 P.O. Box 9516
 2300 RA Leiden
 The Netherlands
 uitdeweerd@rulsfb.leidenuniv.nl