

3-1

GENETISCHE EXPERIMENTE MIT 3 VERSCHIEDENEN STÄMMEN VON
BRACHIONUS PLICATILIS (ROTATORIA) II.

Agnes Ruttner-Kolisko

Die im Vorjahr begonnenen Kreuzungsversuche wurden fortgesetzt und ausgebaut. Die Herkunft der Stämme sowie die angewendete Methodik wurde bereits im Jber.Biol.Stat.Lunz 4 (1981) ausführlich beschrieben. Seitdem wurde an der Methodik im Prinzip nichts verändert, jedoch wurde versucht, durch Einbringung vieler Ausgangstiere in die Kreuzungsgefäße die Zahl der F_1 -Nachkommen auf etwa 100 zu erhöhen und die miktische Rate während des Versuches auf der ursprünglichen Höhe zu halten, was nicht immer gelungen ist. Außerdem wurden die täglich festgestellten F_1 -Jungtiere in getrennten Schalen aufgezogen, wodurch erst eine genaue Analyse des Kreuzungsverlaufes ermöglicht war. Dieses methodische Detail hat sich als äußerst aufschlußreich erwiesen (siehe Abb. 1).

Bereits aufgrund der Vorversuche und einiger elektronenmikroskopischer Bilder war es ziemlich wahrscheinlich, daß das Fehlen von Dauereiern (D) im Lunzer Stamm (L) nicht, wie ursprünglich angenommen, auf eine Sterilität der Männchen zurückzuführen ist. Lebendbeobachtung der L-Männchen unter starker Vergrößerung im Phasenkontrastmikroskop haben inzwischen gezeigt, daß diese, genau wie die Männchen der beiden fertilen Stämme E und S[†] voll bewegliche, etwa 40 μ lange, dünne Spermien ausbilden. Diese Spermien haben keinen abgesetzten Kopfteil, zwei Geißeln, die durch eine undulierende Membran über die ganze Länge mit dem Spermienkörper verbunden sind, und erinnern stark an die von Turbellarien und Gnathostomuliden bekannten Bilder.

[†] E Stamm aus Boulder, Colorado, S aus Oban, Schottland

Auch die sogenannten "rigid rods" sind vorhanden, kurze, anscheinend feste Stäbchen, die beim Durchdringen der Körperwand des Weibchens bei der Begattung möglicherweise eine Rolle spielen, Beobachtungen dieses Vorganges liegen jedoch nicht vor.

Entsprechend diesen morphologischen Ergebnissen, bzw. parallel mit ihnen, konzentrierten sich auch die weiteren Kreuzungsexperimente vor allem auf die Einkreuzung der L-Männchen in die beiden anderen Stämme. Die jeweiligen reziproken Kreuzungen von L-Weibchen mit E-Männchen bzw. S-Männchen stoßen insoferne auf Schwierigkeiten, als die miktische Rate im L-Stamm obligatorisch sehr niedrig ist; ein negatives Versuchsergebnis läßt daher keine eindeutigen Schlüsse zu (siehe Diskussion der Methodik im Vorjahrsbericht).

Das zahlenmäßige Ergebnis dieser Versuche ist in Tab. 1 nach demselben Schema wie im Vorjahrsbericht zusammengestellt. Was in dieser tabellarischen Darstellung sofort auffällt, ist die große Zahl von Dauereier tragenden und dementsprechend als miktisch registrierten Tieren in der F_1 -Generation bei all den Kreuzungen, an denen L-Männchen beteiligt sind. Die Anzahl dieser anscheinend sexuellen F_1 -Tiere geht beträchtlich über das hinaus, was nach der anfänglichen miktischen Rate zu erwarten gewesen wäre und widerspricht auch den Erfahrungen vom Ausmaß der Dauerei-Bildung in den Stammkulturen der E- und S-Stämme. Ebenso war bei diesen Kreuzungen auffallend, daß zwar die Dauerei-Weibchen durchaus dem üblichen Habitus entsprachen, ihr Dotterstock eine dunkle Farbe annahm und anschwellt, das Ei erst 2-3 Tage später gebildet wurde als das bei Subitaneiern der Fall ist, daß aber die überwiegende Mehrzahl dieser anscheinenden Dauereier keine äußere strukturierte Schale besaßen und einige Zeit nach der Ablage zerfielen, ohne sich zu entwickeln.

Eine Erklärung für diese ungewöhnlichen Zahlenverhältnisse brachte die Analyse der täglichen Versuchsprotokolle (Abb.1);

in Abb. 1B ist die Kreuzung $S\varphi \times L\sigma$ vom 7.11.81' aufgegliedert. Daraus ist ersichtlich, daß bis zum 7. Tag sämtliche Nachkommen anscheinend Dauereier produzierten; erst ab dem 8. Tag treten zunehmend und endlich ausschließlich normale amiktische Weibchen ($am\varphi$) auf. Da eine miktische Rate von 100% niemals vorkommt und der Wechsel im Fortpflanzungsmodus der F_1 mit dem Aussterben der $L\sigma$ im Kreuzungsgefäß zusammenfällt, läßt dieser Versuchsverlauf nur eine Deutung zu: nämlich, daß die Männchen des L -Stammes - obwohl unfähig, die eigenen Weibchen zu befruchten - in der Lage sind, auch *a m i k t i s c h d e t e r m i n i e r t e* junge Weibchen anderer Stämme zur Bildung von großen, dotterreichen, dauereiartigen Fortpflanzungskörpern ("D") zu veranlassen.

Abb. 1A gibt den entsprechenden Versuch mit dem E -Stamm wieder ($E\varphi \times L\sigma$ vom 19.11.81). Er zeigt im Prinzip dasselbe Phänomen, nur waren in diesem Fall offenbar nicht so viele $L\sigma$ vorhanden, um eine Begattung aller täglich geborenen Jungtiere zu gewährleisten. Daher produzierte ein gewisser mehr oder weniger großer Anteil der F_1 parthenogenetisch normale amiktische oder miktische Eier. Während im Versuch 1B offenbar alle F_1 -Tiere amiktisch determiniert waren, gab es im Versuch 1A elf miktische Nachkommen, von denen 4 begattet wurden und normale Dauereier lieferten. In beiden Fällen war nach dem Verschwinden der $L\sigma$ aus dem Kreuzungsgefäß die Nachkommenschaft ausschließlich amiktisch. Die übrigen Kreuzungen zwischen $L\sigma$ und $E\varphi$ bzw. $S\varphi$ bestätigten das in Abb. 1 dargestellte Verhalten oder widersprachen ihm mindestens nicht.

Diese völlig unerwarteten Ergebnisse der Kreuzungen von zwei Stämmen aus geographisch weit auseinanderliegenden Populationen von *Brachionus plicatilis* (sowohl miteinander als auch mit dem dauereilosen Lunzer Stamm) sind mit unseren bisherigen Vorstellungen von der Fortpflanzungsbiologie der Rotatorien nicht ohne weiteres vereinbar und zwingen daher zum Umdenken, sowohl was den Ansatz weiterer Experimente, als auch was die Interpretation betrifft. Um den Überblick über die bereits

vorliegenden Resultate zu erleichtern, sind in Abb. 2A alle möglichen Kreuzungskombinationen, die Zahl der betreffenden Versuche und ihr positiver oder negativer Verlauf schematisch dargestellt; Abb. 2B zeigt in demselben Schema die jeweils aufgetretenen echten (D) und 'falschen' ("D") Dauereier sowie ihr zahlenmäßiges Verhältnis.

Insgesamt werfen die Experimente weit mehr prinzipiell neue Fragen auf, als sie Lösungen gebracht haben. Als feststehend kann bisher angesehen werden:

1. L-♂ sind physiologisch fertil und können mit stammfremden Weibchen erfolgreich kopulieren. Die Unfruchtbarkeit innerhalb des eigenen Stammes kann an einem physiologischen oder cytologischen Defekt der L-Weibchen liegen oder an einer in diesem Stamm aufgetretenen Kopulationshemmung trotz beiderseitiger Fertilität. Die Entscheidung dieser Frage kann erst erfolgen, wenn es gelingt, im Stamm L (oder einem daraus gezogenen Klon) eine hohe miktische Rate zu induzieren, die erlaubt, auch negativ verlaufende Kreuzungen mit L-♀ statistisch auszuwerten.
2. In allen untersuchten Kreuzungskombinationen sind Kopulationen der Männchen mit ganz jungen Weibchen häufig zu beobachten. (Ob diese Festheftung an der weiblichen Körperwand immer zu einer Insemination führt oder in welchen Fällen dies nicht der Fall ist, bleibt noch festzustellen. Die bisher vorliegenden Einzelbeobachtungen im Mikroskop reichen noch nicht aus, um Schlüsse zu ziehen.)
3. L-Männchen kopulieren auch mit a m i k t i s c h determinierten Weibchen der Stämme E und S erfolgreich; die resultierenden dotterreichen Eier werden abgelegt, sind aber nicht entwicklungsfähig. (Ob es sich hier um unbefruchtete, diploide Eikerne handelt, die sich wegen des Dotterreichtums nicht entwickeln können, oder um befruchtete, triploide und daher entwicklungsunfähige Kerne, bleibt noch festzustellen.)

Abb. 1 Zahl und sexuelle Charakteristik der täglichen Nachkommen aus den Kreuzungen von E- und S-♀ mit L-♂. am amiktische Tiere, "D" Tiere mit abortiven Schein-Dauereiern (s.Text), m miktische Tiere, D Tiere mit echten Dauereiern.- Jungtiere, die ohne Eier starben, sind nicht eingetragen.

Nachkommen / Tag (Offspring / day)

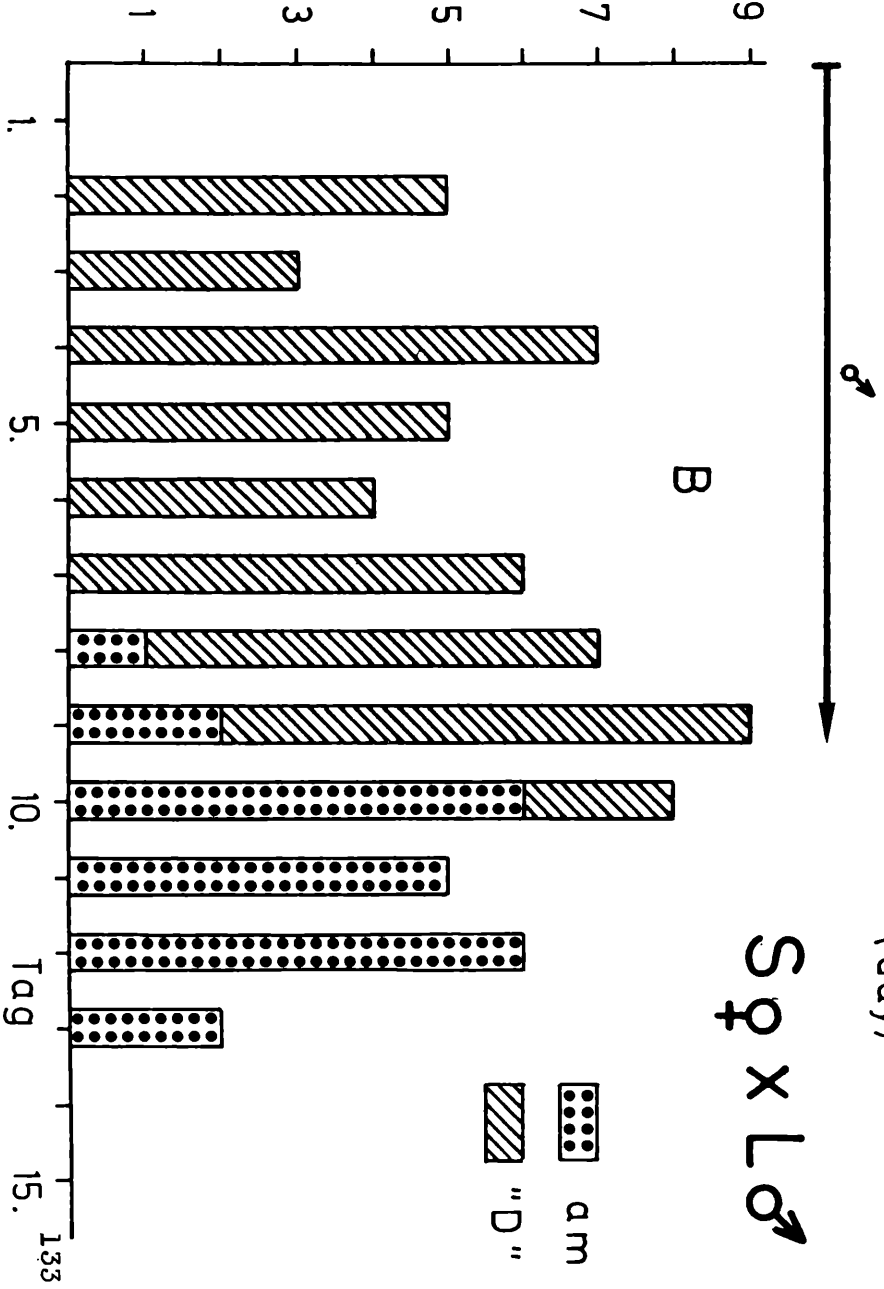
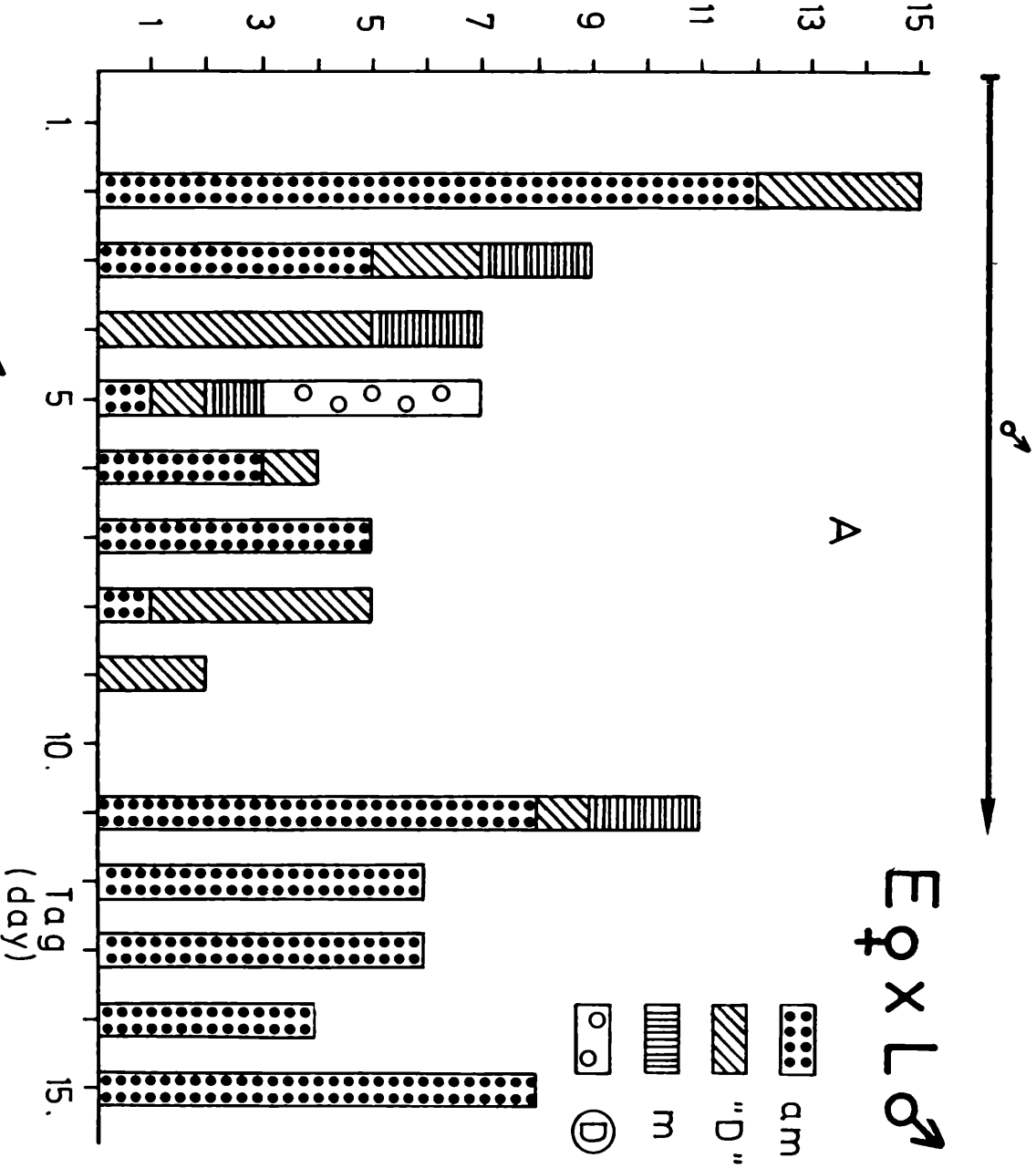


Abb./Fig. 1

4. Kreuzungen zwischen den Stämmen E und S sind nur in Richtung $E_{\varnothing} \times S_{\sigma}$ möglich; die reziproke Kreuzung blieb in 9 Versuchen trotz hoher miktischer Rate und großer Individuenzahl stets erfolglos. (Die aus $E_{\varnothing} \times S_{\sigma}$ entstandenen Dauereier sind entwicklungsfähig, die F_1 -Generation ist fertil. Die F_2 -Generation scheint eine verminderte Vitalität aufzuweisen. Eine Mendelsche Aufspaltungs- und Rückkreuzungsanalyse dieses Bastardstammes steht noch aus.)

Die entscheidenden Fragen, die sich durch die beschriebenen Experimente für die Fortpflanzungsbiologie der Rädertiere ganz allgemein stellen und bisher nur durch rein hypothetische Überlegungen beantwortet werden können, sind folgende:

- a) Worin besteht die Sperre, die im Falle des normalen Fortpflanzungszyklus einer Art verhindert, daß während der miktischen Phase auch amiktische Jungtiere inseminiert werden und wodurch kann diese Sperre eventuell aufgehoben werden, wenn Männchen einer fremden Population eindringen?
- b) Welcher Mechanismus (oder Defekt) verhindert im Stamm L eine erfolgreiche Besamung durch die eigenen Männchen, die sich anscheinend gegenüber anderen Stämmen als besonders aktiv erweisen?

Da über das Verhalten der Rädertiere bei der Begattung nicht allzu viele und nicht ganz übereinstimmende Beobachtungen vorliegen (GILBERT 1963, ALOIA u. MORETTI 1973) und wir über den Mechanismus der Insemination überhaupt fast nur auf Vermutungen angewiesen sind (ALOIA u. MORETTI 1973, KOEHLER 1965), scheint es mir naheliegend, eher in diesen Vorgängen die Erklärung meiner unerwarteten Versuchsergebnisse zu suchen, als in der Mendel-Analyse des Genbestandes der verwendeten Stämme.

Die simple Hypothese, daß die Dicke der Körperwand der jungen Weibchen, bzw. die mechanische Penetrationsfähigkeit der Männchen in den untersuchten Stämmen verschieden sei und weiters, daß die Körperwand junger amiktischer Weibchen dicker sei als die der entsprechenden jungen miktischen Weibchen, ermöglicht eine befriedigende Interpretation praktisch aller Kreuzungsversuche.

Tab. 1

Experiment No.	22	23	24	25	26	27
Start (date)	5.8.81	27.10.81	7.11.81	14.11.81	19.11.81	10.5.82
Crossing	S♂ x L♀	L♂ x S♀	S♂ x L♀	E♂ x L♀	E♂ x L♀	L♂ x S♀
Initial mictic rate (%)	37	10	45	33	30	40
Total offspring (n)	122	94	84	14	103	137
Amictic offspring (am)	39	76	22	6	59	103
Mictic offspring (m)	14	1	45	6	30	6
Sex of offsp.unknown	69	17	17	2	14	28
Resting eggs	13	0	48	12	23	0
Offspring ratio (m/am)	0,36	0,01	2,04	1,00	0,51	0,06
Result	+	-	+	+	+	-

C o m m e n t s

Only 1 true resting egg (D), the rest "false" resting eggs ("D")

Initial mictic rate too low
"false" resting eggs ("D")

Only 1 true resting egg (D), the rest from first day. Experiment interrupted

4 true resting eggs (D) offspring rest "false" resting eggs ("D")

Initial mictic rate high
- clear negative result

Tab. 1 Zahlenmäßige Zusammenfassung der durchgeführten Kreuzungen (Fortsetzung der Tabellen im Jber. 4).

Nimmt man folgende Reihung^s der Körperwandstärke der Weibchen an:

$$E-m\varphi < S-m\varphi < E-am\varphi < S-am\varphi < L-m\varphi < L-am\varphi ,$$

sowie eine Penetrationsfähigkeit der Männchen: $E < S < L$, so lassen sich die Versuchsergebnisse in Abb. 2 fast ausnahmslos erklären. Maßgebend für die Reihenfolge sind die in Abb. 2B dargestellten Befunde, wobei von der Voraussetzung ausgegangen wird, daß entwicklungs^{my}fähige Dauereier ohne äussere Hülle ("D") immer von amiktisch determinierten Tieren stammen. $E-\delta$ können nur mit ihren eigenen mikt. φ kopulieren, sie werden daher als das schwächste Glied der Reihe angesehen. $S-\delta$ durchdringen die Wand der mikt. φ des E- und S-Stammes, aber nicht die resistenteren Körperwand der jeweiligen amikt. Tiere; damit ist auch die Einseitigkeit der E x S-Kreuzungen erklärt. Für die L- φ muß eine abnorme Verstärkung der Hypodermis angenommen werden, um die Unfruchtbarkeit mit dem eigenen L- δ verständlich zu machen, die ja ihrerseits die E- und S- δ offenbar an Penetrationsfähigkeit übertreffen. (Das eine "D" in der Kreuzung $L\delta \times E\varphi$ stellt eine Ausnahme dar, die derzeit überprüft wird.)

Obwohl noch weitere Untersuchungen und Zusatzannahmen notwendig sein werden, scheint mir die Hypothese der g r a d u e l l e n Begattungsfähigkeit doch einen brauchbaren Weg zur Erklärung der vorliegenden Resultate darzustellen.

Literatur

- Aloia R.C. and Moretti, R.L., 1973: Trans.Amer.Micr.Soc.92, 371-380.
Aloia, R.C. and Moretti, R.L., 1973: Journ.of.Morphol.140, 285-306.
Gilbert, J.J., 1963: Journ.Exper.Biol. 40, 625-641.
Koehler, J.K., 1965: Zschr.f.Zellforsch.67, 57-76.
Ruttner-Kolisko, A., 1981: Jber.Biol.Stat.Lunz 4. 195-204

Abb. 2 A Schema aller möglichen bzw. Zahl und Erfolg (+ positiv, - negativ) der durchgeführten Kreuzungen.

B Zahl und Charakteristik der in den verschiedenen Kreuzungen produzierten Dauereier (D echte Dauereier, "D" abortive Schein-dauereier)

Further crossing experiments with *Brachionus plicatilis* have been carried out in continuation of the investigation outlined in the previous report (Jber.Biol.Stat.Lunz 4). The fertility of the L-♂ has been confirmed by microscopical investigation as well as by crosses with the two other strains E and S.

Analysis of the daily offspring of these crosses revealed a fact, entirely new for the life cycle of monogonont rotifers: amictic females can be fertilized by males belonging to an alien population; they produce then a kind of abortive resting eggs (Fig. 1).

Fig. 2 shows a scheme of all crosses, whether successful or failed and the amount as well as the kind of resting eggs produced. According to this diagram a hypothesis has been worked out to explain the experimental results, it suggests a sequence of gradual mating ability within the 3 strains based on the thickness of the female body wall and on the insemination power of the males.

A				B			
	L ♂	E ♂	S ♂		L ♂	E ♂	S ♂
L ♀	—	1+ 3-	0+ 2-	L ♀	—	1 "D" 0 ⊕	—
E ♀	3+ 1-	+	4+ 2-	E ♀	30 "D" 7 ⊕	⊕	0 "D" 17 ⊕
S ♀	2+ 0-	0+ 9-	+	S ♀	59 "D" 2 ⊕	—	⊕

Kreuzungen
(Crosses)

Dauereier
(Resting eggs)

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jahresbericht der Biologischen Station Lunz](#)

Jahr/Year: 1981

Band/Volume: [1981_005](#)

Autor(en)/Author(s): Ruttner-Kollisko Agnes

Artikel/Article: [3-1 GENETISCHE EXPERIMENTE MIT 3 VERSCHIEDENEN STÄMMEN VON BRACHIONUS PLICATILIS \(ROTATORIA\) II. 129-137](#)