

GENETISCHE EXPERIMENTE MIT 3 VERSCHIEDENEN STÄMMEN VON
BRACHIONUS PLICATILIS (ROTATORIA). III. BESAMUNGSVERSUCHE
UND INDIVIDUELLE AUFZUCHT.

Agnes Ruttner-Kolisko

Die Kreuzungen von 3, aus geographisch weit auseinander liegenden Biotopen stammenden Populationen von *Brachionus plicatilis* haben unerwartete, nicht ohne weiteres verständliche Ergebnisse gebracht, die im Jahresbericht 1982 dargestellt wurden (Jber.Biol.Stat.Lunz 5). Da die Kopulation bei den Rotatorien an einer beliebigen Stelle der Körperwand der jungen Weibchen stattfindet, ist ihr Erfolg in erster Linie von der Penetrationsfähigkeit der Spermien abhängig. Die Annahme einer verschieden dicken Körperwand der Jungtiere der 3 untersuchten Stämme, ebenso wie der amiktischen und miktischen Tiere eines Stammes, schien es möglich zu machen, sämtliche Kreuzungsergebnisse (graphisch dargestellt in Abb.2, S.137 d.Jber.5) zu erklären. Es wurde daher die Hypothese einer graduellen Begattungsfähigkeit aufgestellt; dabei sollte die Körperwandstärke der Weibchen von Stamm E zu Stamm S zu Stamm L zunehmen und außerdem eine Besamung amiktischer Weibchen innerhalb derselben Population ebenfalls durch eine dickere Körperwand verhindert werden.

Diese Hypothese war nun in ihren beiden Teilen zu überprüfen. Zunächst wurde die Frage in Angriff genommen, ob miktisch und amiktisch determinierte Jungweibchen gleichmäßig inseminiert werden oder ob nur bei den miktischen Tieren die Spermatozoen in das Pseudocoel eindringen. Da das Verhalten der Männchen keineswegs auf eine Unterscheidungsfähigkeit zwischen verschiedenen Jungtieren schließen läßt (Gilbert 1963), und da

miktische und amiktische Weibchen nur in adultem Zustand an der Größe ihrer Eier unterscheidbar sind, führt eine mikroskopische Direktbeobachtung von jungen Weibchen, die zur Begattung exponiert waren, allein nicht zum Ziel. Es wurde daher eine Versuchsanordnung gewählt, die einen Indizienschluß auf die cytologische Charakteristik (miktisch oder amiktisch) der besamten Weibchen zuläßt.

Aus der Stammkultur S wurden 2 Klone gezogen; der eine wurde durch andauerndes "crowding" und spärlichen Wechsel des Kulturmediums auf eine hohe miktische Rate, d.h. intensive σ - Produktion abgestimmt, der andere durch täglichen Wasserwechsel, gute Fütterung und geringe Populationsdichte (50 Tiere/30 cm³) dauernd in der parthenogenetischen Phase gehalten. Im Kreuzungsgefäß wurden nun 50 miktische ♀ des ersten Klones mit 50 amiktischen ♀ des zweiten vereinigt. Die Hälfte der täglich produzierten Jungen wurde im Mikroskop auf erfolgte Besamung untersucht, die andere Hälfte zur Bestimmung des Geschlechtes der Nachkommen aufgezogen. Das Resultat des Versuches ist in Abb. 1 dargestellt. Von 109 im Mikroskop untersuchten jungen Weibchen waren 35 (=32%) besamt und von 113 jungen Weibchen, die zur Bestimmung ihrer Fortpflanzungsart aufgezogen wurden, waren 106 (=94%) amiktisch; der Rest starb ohne Eibildung, miktische Tiere wurden nicht festgestellt. Aus diesem Ergebnis kann mit ausreichender Sicherheit geschlossen werden, daß auch die als besamt festgestellten Tiere amiktisch waren; unterstützt wird der Schluß durch den Umstand, daß ja der ganze, für den Versuch verwendete Klon bewußt auf parthenogenetische Fortpflanzung konditioniert war.

Dieser Versuch wurde unter analogen Bedingungen mit Stamm E und L wiederholt. Das Resultat ist in Tab.1 in Zahlen zusammengefaßt und zeigt für beide Stämme (ebenso wie für Stamm S) einen weit höheren %-Satz von besamten Jungtieren als der jeweiligen miktischen Rate der Nachzucht entsprechen würde.

Somit kann als geklärt gelten, daß eine mechanische Barriere gegen Insemination amiktischer Tiere in Form einer verstärkten Körperwand nicht besteht. In diesem Punkt ist also die seinerzeit aufgestellte Hypothese zu revidieren.

Tab. 1	$E\sigma^{\uparrow} \times E\sigma$	$S\sigma^{\uparrow} \times S\sigma$	$L\sigma^{\uparrow} \times L\sigma$
Datum des Versuchsbeginnes	3.3.1983	20.9.1982	27.2.1983
Zahl der auf Besamung geprüften jungen ♀	55	109	29
%-Satz der als besamt festgestellten jungen ♀	13	32	38
appr. Zahl der pro Tag zur Kopulation bereiten ♂	10-20	20-viele*	viele
Anzahl der auf ihre Fortpflanzung geprüften ♀	88	113	71
Miktische Rate dieser Nachzucht (%)	3	0	1
Zahl der produzierten Dauereier	0	0	0
Gesamtzahl der im Versuch produzierten Nachkommen	148	324	130

* als "viel" wird bezeichnet, was im Kreuzungsgefäß (Inhalt 3 cm³) nicht mehr mit Sicherheit gezählt werden kann (sicher mehr als 25).

Darüber hinaus sollte durch die Hypothese der abgestuften Besamungsbarrieren sowohl die unilaterale Sterilität zwischen Stamm **E** und **S** erklärt werden, als auch die - aller bisherigen Erfahrung widersprechende - Produktion von abortiven, dotterreichen Eiern ("falsche Dauereier", "D") durch amiktische Weibchen der Stämme **E** und **S**, die mit **L-σ** gekreuzt wurden (R-K, Hydrobiologia 1983 u. Jber. Biol. Stat. Lunz 5). Es wurde daher auch der Besamungserfolg durch stammfremde Männchen in allen Kreuzungskombinationen der 3 Stämme überprüft. Das Resultat ist wieder tabellarisch dargestellt.

Tabelle 2	$E\sigma \times S\sigma^+)$	$E\sigma \times L\sigma$	$S\sigma \times E\sigma$	$S\sigma \times L\sigma$	$L\sigma \times E\sigma^+)$	$L\sigma \times S\sigma^+)$
Versuchsbeginn	27.1.83 12.4.83	18.5.83	18.5.83	3.2.83	23.2.83 27.2.83 24.4.83	22.2.83 27.2.83 15.4.83
Gesamtzahl der Nachkommen (Σ)	206	75	126	63	284	282
Auf Besamung geprüfte Jungweibchen	94	35	39	46	105	89
Besamungsrate (%)	18	0	49	0	7	28
Zahl der σ pro Tag	10-20	5-10	10-15	10-viel	~ 10	viel
Zahl der auf Fortpflanzung geprüften Jungen	170	40	78	12	152	184
Miktische Rate der Nachkommen (%)	13	0	11	0	3	6
Rate der "D" produz. $\varnothing$ (%)	0	0	0	0	6	15
Rate der echten $\textcircled{D}$ - $\varnothing$ (%)	0	0	4	0	0	(1)?
Paarungsaktivität der σ	+	-	+	-	+	+

*) die angegebenen Zahlen sind aus den summierten Versuchen berechnet

Aus den in Tab. 2 aufgelisteten Versuchen läßt sich folgendes ablesen:

1. Trotz reichlich vorhandener Männchen, hoher Besamungsrate und ausreichend hoher miktischer Rate der Weibchen entstehen in der Kreuzung ($E\sigma \times S\varnothing$) keine Dauereier; die Spermien können zwar in das Pseudocoel eindringen, doch scheint keine Befruchtung zu erfolgen. In der reziproken Kreuzung ($S\sigma \times E\varnothing$) ergab sich eine auffallend hohe Besamungsrate (49%) und es wurden echte Dauereier (D) im Ausmaß von 4% der geprüften Weibchen erzeugt.

2. L- $\varnothing$ werden weder von E- und S- σ noch von stammeseigenen Männchen (s.Tab.1) befruchtet.

3. L- σ regen sowohl E- wie S- $\varnothing$ in einem höheren %-Satz zur Bildung der abortiven "D"-Eier an als es der miktischen Rate jeweils entsprechen würde; diese Eier müssen also, mindestens zum überwiegenden Teil, amiktischen Ursprungs sein.

Durch diese Ergebnisse werden die Hauptresultate der früheren Kreuzungen (Rutt.-Kol.,1983) voll bestätigt.

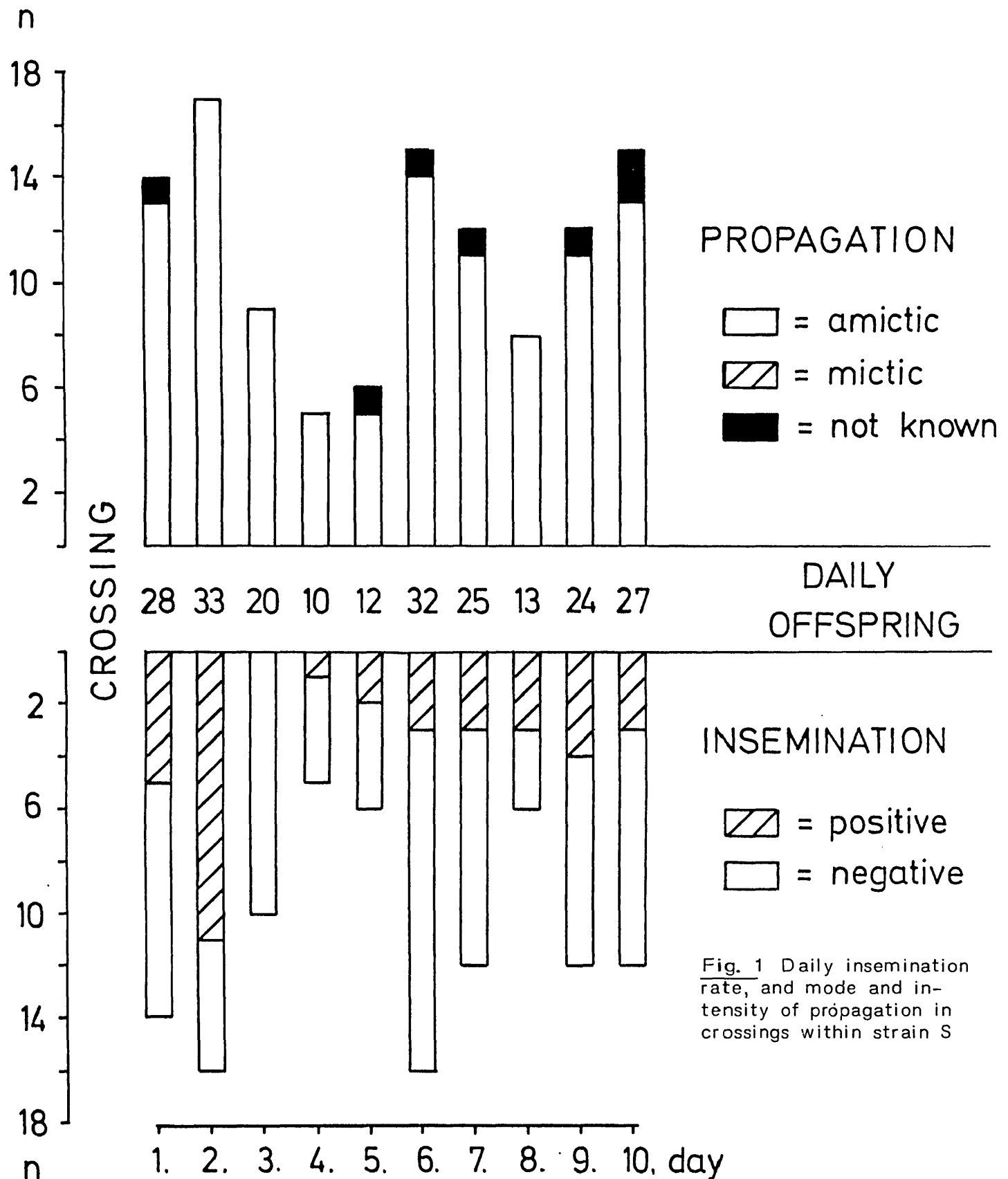
Die postulierte, mehr oder weniger intensive Penetrationsfähigkeit der Spermien kann jedoch nicht generell zur Erklärung aller dieser Kreuzungsergebnisse herangezogen werden. Im Pseudocoel junger E- und S- $\varnothing$ wurden in allen 4 möglichen Kombinationen Spermien gefunden. Junge L- $\varnothing$ waren jedoch stets frei von Spermien (mit Ausnahme eines Tieres, das ein E-Spermium enthielt). Hier scheint tatsächlich eine Barriere an der Körperwand zu bestehen, die möglicherweise auch biochemischer Art sein kann; es wurde nämlich auch keinerlei Paarungsaktivität der jeweiligen Männchen in diesen Versuchen beobachtet. Für die unilaterale Sterilität zwischen E und S und die exzessive Dotterproduktion amiktischer E- und S-Tiere müssen also cytologische bzw. physiologische Vorgänge im Inneren der besamten Jungtiere verantwortlich gemacht werden.

Um der Klärung dieser Fragen näher zu kommen, war es daher wünschenswert, die individuelle Lebensgeschichte und das Fortpflanzungsverhalten von solchen Tieren zu untersuchen, deren Besamung eindeutig festgestellt worden war. Dazu mußte versucht werden, die Jungtiere nach der mikroskopischen Untersuchung lebend in die Schälchen für Individualzucht zurückzu bringen. Da die Spermien, die ca. $\frac{1}{3}$ der Länge des Weibchens haben, sich im Pseudocoel sehr lebhaft bewegen, können sie schon mit schwacher Vergrößerung meist auf den ersten Blick gesehen werden, so daß, bei einiger Übung, die Feststellung der Besamung und die Wiedergewinnung des Objektes ein kurzer Prozeß ist. Trotzdem war der Verlust an Tieren, die durch Deckglasdruck geschädigt waren, groß (ca. 50%). Tiere, die bei der Spermienuntersuchung als "negativ" determiniert waren, wurden z.T. auch aufgezogen, das gefundene Fortpflanzungsverhalten jedoch nicht als gesichertes Ergebnis registriert, da ein Übersehen von eingedrungenen Spermien nie ganz ausgeschlossen werden kann.

54 besamte Jungtiere wurden in Einzelkultur genommen, von denen 28 das fertile Stadium erreichten; 16 Tiere produzierten normale, amiktische Eier, unabhängig davon, ob sie von Männchen ihres eigenen oder eines fremden Stammes besamt waren. Parthenogenetisch determinierte Weibchen werden also in der Regel durch die Besamung in ihrer Fortpflanzung nicht beeinflußt; eine Verschmelzung von Ei- und Samenkern erfolgt anscheinend nicht, die Spermien gehen vermutlich funktionslos im Pseudocoel zugrunde.

Vier der aufgezeichneten Lebensgeschichten verliefen jedoch anders; es handelte sich um je zwei S- und E-♀, die mit L-♂ gekreuzt worden waren (Abb. 2A). Diese Tiere produzierten nach einer sehr langen Reifungsperiode von 5-6 Tagen (gegenüber 2 Tagen für normale amiktische ♀, bei 15°C) ein oder mehrere der großen, dotterreichen sogenannten "falschen" Dauereier ("D"), die abgelegt wurden und zerfielen. Im Verlaufe der Geburtenfolge wurden die Eier kleiner (dotter-

STRAIN S



ärmer), die Tiere gingen zur Bildung normaler, amiktischer Eier über, aus denen schließlich auch Junge schlüpften. Somit ist eindeutig bewiesen, daß die "falschen Dauereier" von amiktischen Tieren stammen. Was aus den früheren Massenkulturen aber nicht abgelesen werden konnte, ist die Tatsache, daß die Wirkung der L- σ auf die Dotterproduktion der Weibchen nur vorübergehend ist und, vermutlich nach dem Absterben der eingedrungenen Spermien, wieder abklingt.

Drei andere, besamte Weibchen der Stämme E und S aus Kreuzungen mit L- σ entwickelten sich zu miktischen Tieren, die im Verlauf ihres Lebens nur Männchen produzierten, wobei auffallend war, daß viele der miktischen Eier sich nicht entwickelten (Abb. 2B); ihrer cytologischen Disposition zufolge hätten diese Tiere nach einer erfolgreichen Befruchtung Dauereier bilden sollen. L- σ beeinflussen zwar offensichtlich den Stoffwechsel der amiktischen Weibchen, sind aber, trotz des Besitzes aktiver, penetrationsfähiger Spermien, nicht in der Lage, miktische ♀ zu befruchten. Dasselbe gilt auch für die Kreuzung (E σ x S♀); trotz nachweislich stattgefundener Besamung entwickelten sich in der Individualzucht zwei Jungtiere zu miktischen statt zu Dauerei-Tieren, was durchaus in Übereinstimmung mit der in den Massenzuchten festgestellten unilateralen Sterilität zwischen den Stämmen E und S steht.

Weit weniger klar war das Resultat von 25 Lebensgeschichten anscheinend unbesamter Tiere. Die überwiegende Mehrzahl entwickelte sich normal amiktisch oder miktisch, aber 7 unbesamte Tiere aus den Kreuzungen von L- σ mit E- bzw. S-♀ produzierten die dotterreichen "D"-Eier, d.h. sie zeigten genau dasselbe Verhalten, das oben für besamte Tiere beschrieben wurde. Eine andere Interpretation als ein mögliches Übersehen tatsächlich vorhandener Spermien soll vorläufig nicht gegeben werden. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob eine Konditionierung des Kulturmediums durch die Anhäufung von Männchen im Kreu-

Literatur

- GILBERT, J.J. 1963, Journ.exper.Biol. 40, 625-641
 " " 1966, Science 151, 1234-1237
 " " 1980, Am.Scientist 68, 636-646
 RUTTNER-KOLISKO, A. 1981, Jber.Biol.Stat.Lunz 4, 195-204,
 " " 1982, Jber.Biol. Stat. Lunz 5, 129-139
 " " 1983, Hydrobiologia, in press

Abbildungen

Abb. 1: Tägliche Besamungsrate, Fortpflanzungsmodus und -intensität in einer Kreuzung innerhalb des Stammes S.

Abb. 2: Lebensgeschichte eines amiktischen und eines miktischen S-♀, beide von L-♂ besamt. Die Balken bedeuten die Tragzeit der Eier, ihre Dicke soll Größe und Dotterreichtum der Eier symbolisieren.

zungsgefäß in Erwägung gezogen werden kann, die dann auf den Stoffwechsel besamter und unbesamter Tiere in gleicher Weise einwirken könnte. Einen ähnlichen Effekt von in das Medium abgegebenen Wirkstoffen konnte Gilbert (1966, 1980) für Gestaltungs-Veränderungen bei *Brachionus calyciflorus* und *Asplanchna Sieboldi* nachweisen.

$$L\sigma \times S\phi$$

INSEMINATED FEMALE

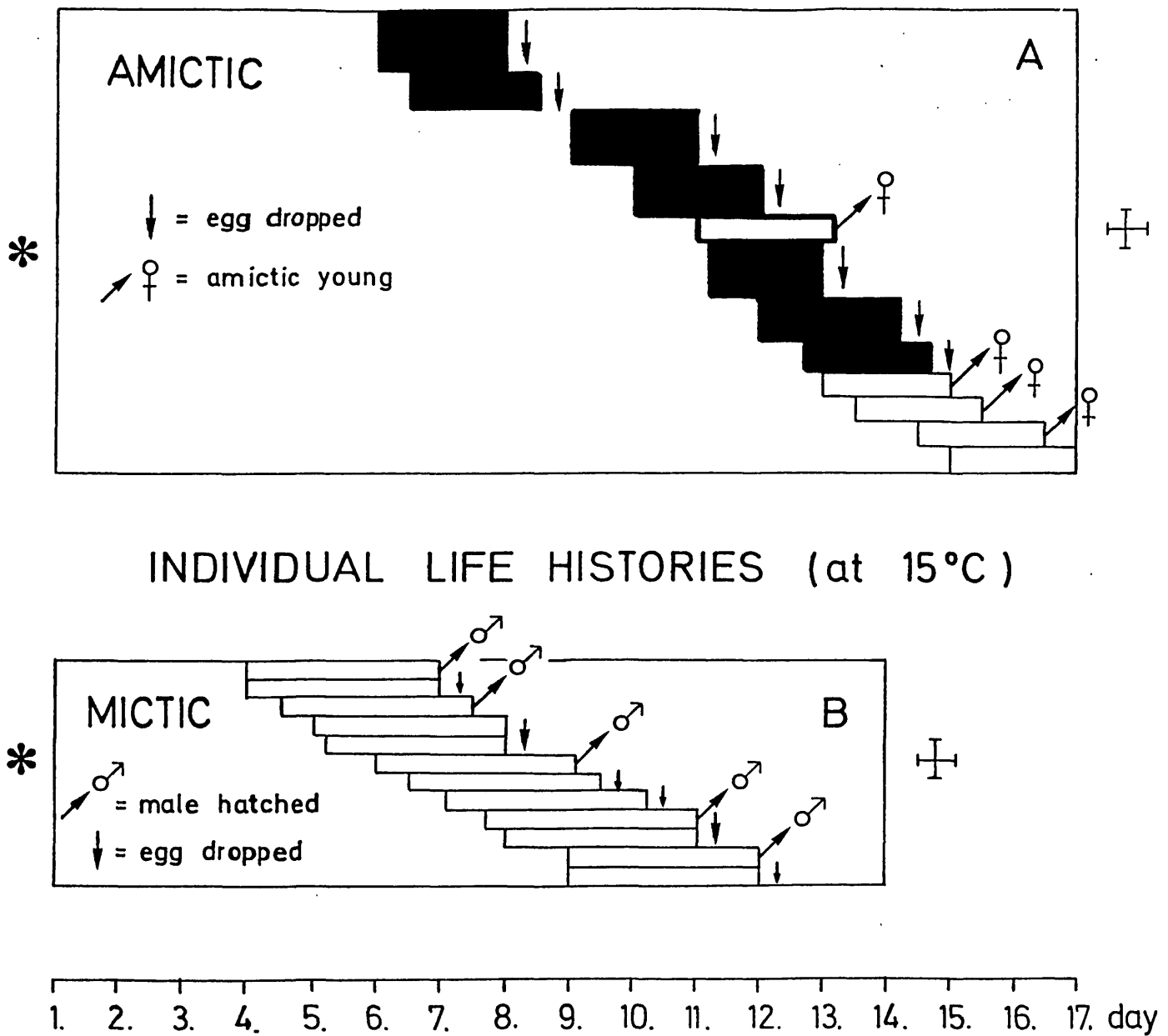


Fig. 2 Life histories of an amictic and a mictic female of strain S, both inseminated by L-males. The bars represent the duration of gestation, their breadth allude to the size and yolk content of the eggs.

Zusammenfassung

Amiktisch determinierte (parthenogenetische) Jungtiere werden von Männchen des eigenen Stammes ebenso begattet wie miktische (sexuelle) Tiere. Der %-Satz der Besamung hängt von der Zahl der zur Verfügung stehenden Männchen, aber nicht vom Charakter der Weibchen ab. Bei Kreuzungen zwischen den 3 verschiedenen Stämmen können die jungen Weibchen von E und S, nicht aber die L-♀ fremdbesamt werden. Die früher aufgestellte Hypothese einer graduellen Befruchtungssperre durch zunehmende Dicke der Körperwand bei den verschiedenen Weibchen-Typen muß daher zurückgezogen werden.

Trotz erfolgter Besamung in beiden Richtungen werden nach Kreuzung der Stämme E und S nur von den E-♀ Dauereier erzeugt; die Gegenkreuzung bleibt steril, L-♂ regen bei E- und S-♀ die Bildung abortiver Dauereier an. Beide Befunde stimmen mit früheren Resultaten überein.

Die individuelle Aufzucht besamter Jungtiere zeigt, daß die amiktische Fortpflanzung in der Regel durch Besamung nicht gestört wird. Ebenso wird bewiesen, daß die abortiven Dauereier, wie bereits auf Grund der Zahlenverhältnisse vermutet, von amiktischen Tieren stammen (Abb.2); miktische Weibchen werden von L-♂ zwar besamt, aber nicht befruchtet, sie bilden keine Dauereier. Die Individualzucht anscheinend unbesamter Weibchen aus Kreuzungen mit L-♂ zeigt denselben "falschen" "D"-Effekt wie bei besamten Tieren und legt damit den noch unbewiesenen Verdacht nahe, daß hier eine Wirkung auf den Metabolismus über ein "♂-konditioniertes" Milieu vorliegt.

Summary

Amictic (parthenogenetic) young females can be inseminated by males of their own strain equally with mictic (sexual) females. The rate of insemination depends on the number of males available rather than on the type of the females. In crosses between the three distinct strains E, S and L young females of strain E und S mate readily with all other males but L-♀ do not. On the grounds of these results the hypothesis of a gradual mating barrier caused by a sequence of increasing body wall thickness from E to S to L has to be rejected.

Although insemination occurs in both directions between strain E and S, only E-♀ produce resting eggs; S-♀ remain unfertilized. When crossed with L-♂ the progeny of E-and S-♀ includes big eggs full of yolk, so-called "false resting eggs" ("D"). These findings are consistent with results of earlier crossing experiments.

The life history of individually cultured females show that parthenogenetic propagation is in general not impaired by insemination. Individual life histories also prove that the yolk-rich abortive eggs are derived from amictic females (Fig.2), a fact that was already indicated by the calculation of mictic rates. Individually reared mictic females, inseminated by L-♂ fail to produce resting eggs. E-and S-♀ out of crosses with L-♂, but seemingly not inseminated, show the same effect of false resting egg production as inseminated individuals, thus suggesting that a "♂-conditioned" medium causes the metabolic increase of yolk production rather than the actual insemination.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1982

Band/Volume: [1982_006](#)

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

Artikel/Article: [Genetische Experimente mit 3 verschiedenen Stämmen von Brachionus plicatilis \(Rotatoria\). III. Besamungsversuche und individuelle Aufzucht. 195-206](#)