

Morphologische, ökologische und
entwicklungsbiologische Untersuchungen
ausgewählter Plectidae mit einem Entwurf
eines Cladogramms

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des Doktors der
Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

René Seiml-Buchinger
aus Gelsenkirchen

Januar 2009

Betreuung durch: Prof. Dr. Walter Sudhaus
in der AG Evolutionstheorie
am Institut für Biologie / Zoologie
im Zeitraum vom April 2004 bis Januar 2009

1. Gutachter: Prof. Dr. Walter Sudhaus
2. Gutachter: Prof. Dr. Klaus Hausmann

Disputation am 13.02.2009

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	1
Danksagung.....	3
1 Allgemeine Morphologie von <i>Plectus</i> und <i>Anaplectus</i>	5
1.1 Einleitung.....	5
1.2 Material und Methode.....	6
1.3 Ergebnis.....	7
1.4 Diskussion.....	9
2 Oberflächenmorphologie der Eier.....	25
2.1 Einleitung.....	25
2.2 Material und Methode.....	26
2.3 Ergebnis.....	27
2.3.1 Ei-Oberfläche ohne Struktur.....	27
2.3.2 Ei-Oberfläche mit Stacheln.....	28
2.3.3 Ei-Oberfläche arkadenartig.....	30
2.3.4 Ei-Oberflächen außerhalb der Plectida.....	31
2.4 Diskussion.....	32
3 Juvenilstadienklassifizierung anhand der Mundhöhlenentwicklung.....	43
3.1 Einleitung.....	43
3.2 Material und Methode.....	44
3.3 Ergebnis.....	45
3.3.1 Entwicklung.....	45
3.3.2 Häufigkeitsverteilung.....	46
3.3.3 Häufigkeitsverteilung und Entwicklung.....	46
3.4 Diskussion.....	49
4 Gonadenentwicklung.....	51
4.1 Einführung.....	51
4.2 Material und Methode.....	52
4.3 Ergebnis.....	53
4.4 Diskussion.....	56
5 Induktion von Männchen durch Temperatur-Behandlung.....	67
5.1 Einführung.....	67
5.2 Material und Methode.....	67
5.3 Ergebnis.....	68
5.4 Diskussion.....	73
6 Fertilität von <i>Plectus</i> -Männchen und Intersex-Individuen.....	77
6.1 Einführung.....	77
6.2 Material und Methode.....	77
6.3 Ergebnisse.....	78
6.4 Diskussion.....	84
7 Reproduktionsstrategien.....	87
7.1 Einleitung.....	87
7.2 Material und Methode.....	87
7.3 Ergebnisse.....	88
7.4 Diskussion.....	97
8 Phylogenetische Analyse.....	101
Einleitung.....	101
Material und Methode.....	101
Ergebnis.....	102

	Diskussion	104
9	Zusammenfassung - Summary	109
9.1	Zusammenfassung	109
9.2	Summary	111
10	Literatur	113

Danksagung

Zu Beginn möchte ich mich bei allen bedanken, die es ermöglicht haben, diese Arbeit zu erstellen.

Als erstes ist Herr Prof. Dr. Walter Sudhaus zu nennen. Ich danke Ihm dafür, dass er mir dieses Projekt ermöglicht hat und für die Betreuung während dieser Zeit.

Des Weiteren der DFG, welche das Projekt und meinen Lebensunterhalt finanziert haben.

Den Mitgliedern der Arbeitsgruppe Evolutionsbiologie danke ich für eine schöne Zeit und die konstruktive Diskussionen: Alexander Fürst von Lieven, Peter Lederer, Charlotte Thomas, Waltraud Brackwehr, Chiharu Kato, Jessica Krüger, Stephan Wirth, Fred Jopp, Albrecht Manegold, Nadine Mohr.

Allen, welche mich mit Proben, Kulturen oder Präparaten unterstützt haben, wie Ilse Seiml-Buchinger, Franz Seiml-Buchinger, Hildegard Liedtke, Walter Sudhaus, Paul DeLey, Tom Bongers, allen anderen, welche mir Proben von ihren Reisen mitgebracht haben.

Zum Schluss möchten ich mich auch bei denen nochmals bedanken, welche diese Arbeit Korrektur gelesen haben: Peter Lederer, Alexander Fürst von Lieven und Jessica Krüger.

Vielen Dank

1 Allgemeine Morphologie von *Plectus* und *Anaplectus*

1.1 Einleitung

Die Plectidae Örley, 1880 sind eine weltweit auf allen Kontinenten verbreitete Gruppe von Nematoden. Sie finden sich sowohl in terrestrischen als auch limnischen Lebensräumen, Hinweise auf rein marine Habitate gibt es bis jetzt nicht.

An folgenden Merkmalen sind sie leicht zu erkennen: Pharynx nur mit Endbulbus und Klappenapparat, lange Cardia, ein in zwei Windungen den Pharynx umgebenden Exkretionsgang, paarige antidrom umgeschlagenen Gonaden und Schwanzdrüsen mit Spinneret.

Im Laufe der Zeit sind 22 Gattungen innerhalb der Plectidae beschrieben worden, von denen nur noch zehn Gattungen valide sind (ANDRÁSSY 2005).

Bei der Unterscheidung der 10 Gattungen innerhalb der Plectidae sind die Wilsonematinae Chitwood, 1951, bestehend aus *Tylocephalus* Crossman, 1933, *Ereptonema*, 1966, *Wilsotylus* Chawla, Khan & Prasad, 1969 und *Wilsonema*, 1913, welche durch Cervicalflügel am Kopf am auffälligsten sind. *Anaplectus* De Coninck & Schuurmans Stekhoven, 1933 besitzt als einziger ein schlitzförmiges Seitenorgan und uhrglasförmige Chilorhabdions, *Perioplectus* (Sanwal, 1968) eine eher eckige Mundhöhle, *Ceratoplectus* Andrassy, 1984 Kopfsetae, welche nach vorne über die Lippen hinausragen. *Chiloplectus* Andrassy, 1984 wird durch abgesetzte Lippen, welche auf jeder Lippe eine kleine Spitze haben, gekennzeichnet. Die neuste Gattung ist *Arctipectus* Andrassy 2003, welche eine verlängerte vordere „Anal-Lippe“ besitzt. Die größte und älteste Gattung *Plectus* Bastian, 1865 zeichnet sich dadurch aus, dass sie nicht die Merkmale oder Merkmalskombinationen der anderen Gattungen besitzt.

Bei der Gattung *Plectus* Bastian, 1865 sind mindestens 123 Arten beschrieben worden, von denen sicherlich nicht mehr als 70 Arten valide sind, Andrassy (2005) beziffert die Anzahl der validen Arten auf 78. Dieser große Anteil an synonymisierten Beschreibungen liegt auf der einen Seite daran, dass die Tiere nur in fixiertem Zustand bearbeitet worden sind und dadurch Artefakte aufweisen können. Zell (1993) konnte für die „Arten“ *P. turricaudatus* Truskova, 1976 und *P. decens*, Andrassy, 1985 zeigen, dass ihre Identifizierung von der Fixiermethode abhängig ist. Auf der anderen Seite existieren auch noch viele Arten, welche, in Ermangelung von morphologischen Merkmalen, auf Grund von Größenunterschieden beschrieben worden sind, wie z.B. der Lippenbreite. Diese beträgt bei *P. fragilis* Zell, 1993 6,5-7µm, 7,5-8,5 bei *P. longicaudatus* Bütschli, 1873 und 9-10µm bei *P. pulcher* Zell, 1993, alle anderen Maße überschneiden sich und morphologische Unterschiede gibt es nicht.

Da viele Arten sich morphologisch sehr ähnlich sind, ist es notwendig, auch die Lebensweise und Entwicklung für die Artcharakterisierung heranzuziehen. Es gibt allerdings nur vereinzelt Hinweise auf die Lebensweise oder Entwicklung einer Art: MAGGENTI (1961) stellt die zeitliche Entwicklung von *Plectus parietinus* vor, TAHSEEN et al. (1992) die von *Plectus zelli*. Diese sind aber auch die einzigen Daten, die auf eine definierte Art bezogen sind.

In dieser Gruppe ist es deshalb notwendig, mit lebendem Material zu arbeiten, um bei morphometrischen Daten die natürliche Variabilität bestimmen zu können. Auch für die Entwicklung, die Reproduktion oder den Lebenszyklus ist es notwendig, mit Kulturen zu arbeiten, zumal kaum etwas darüber bekannt ist.

1.2 Material und Methode

Zur Isolierung der Nematoden aus den Boden-/ Moosproben erfolgte zuerst eine Extraktion über mehrere Tage mit dem Bärmann-Trichter. Das sedimentierte Material wurde jeden Tag überprüft und anschließend wieder in die Probe zurückgeführt. Zuletzt wurde die gesamte Probe auf einer Agarplatte kultiviert und im täglichen Rhythmus auf ausgewanderte Nematoden kontrolliert.

Die durch beide Methoden isolierten Plectiden wurden einzeln auf 1,8% Wasseragar mit einem Stückchen Kartoffel zur Anregung des Bakterienwachstums bei Raumtemperatur kultiviert. Sobald genügend Nachkommen vorhanden waren, wurde die Art an Hand von lebenden und fixierten Präparaten mikroskopisch bestimmt. Zur taxonomischen Bestimmung wurden verschiedene Bestimmungsschlüssel (MAGGENTI 1961, ANDRÁSSY 1984, ANDRÁSSY 1985, ZELL 1993, BONGERS 1994) verwendet, Vergleiche mit Originalbeschreibungen¹ durchgeführt und es wurde eine eigene zusammenfassende Matrix erstellt.

¹ *Anaplectus brzeskii* Holovachov, Boström, Winiszewska & Hanel, 2004; *A. subgranulosus* Truskova, 1978; *A. tortus* Andrassy, 1986; *Ceratoplectus amoenus* Andrassy, 1989; *Ceratoplectus lenis* Andrassy, 1985; *Chiloplectus coloradensis* Zell, 1993; *Chiloplectus indicus* Tahseen, Baniyammuddin, Hussain & Ahmad, 2004; *Chiloplectus loricatus* Andrassy, 1985; *Ereptonema fimbriatum* Anderson, 1966; *Plectus aberrans* Kreis, 1930; *P. acuminatus* Bastian, 1865; *P. acuticaudatus* Truskova, 1976; *P. africanus* Daday, 1908; *P. agilior* Cobb, 1898; *P. americanus* Zell, 1993; *P. amorphotelus* Ebsary, 1985; *P. amphidiscatus* Filipjev, 1930; *P. annulatus* Maggenti, 1961; *P. aquatilis* Andrassy, 1985; *P. arctus* Truskova, 1976; *P. armatus* Bütschli, 1873; *P. assimilis* Bütschli, 1873; *P. auriculatus* Bütschli, 1873; *P. australis* Cobb, 1898; *P. cephalatus* Cobb, 1893; *P. chengmohliangi* Hoeppli & Chu, 1932; *P. cirratus* Bastian, 1865; *P. cirratus f. parietinus sf latilaimus* Allgén, 1953; *P. communis* Bütschli, 1873; *P. cornus* Maggenti, 1961; *P. costatus* Zell, 1993; *P. cryptoptychus* DeLey & Coomans, 1994; *P. decens* Andrassy, 1985; *P. effilatus* Schuurmans Stekhoven & Mawson, 1954; *P. elegans* Zell, 1993; *P. elongatus* Maggenti, 1961; *P. elymi* Allgén, 1949; *P. eurycerus* Massey, 1964; *P. exinocaudatus* Truskova, 1976; *P. falklandiae* Allgén, 1959; *P. fausti* Kreis, 1930; *P. fragilis* Zell, 1993; *P. frigophilus* Kirjanova, 1958; *P. fusiformis* Bastian, 1865; *P. galapagensis* De Ley & Coomans, 1994; *P. geophilus* de Man, 1880; *P. glandulatus* Tahseen, Baniyammuddin, Hussain & Ahmad, 2004; *P. globilabiatatus* (Andrassy, 1963); *P. globilabiatatus* Kirjanova, 1958; *P. globocephalus* Mulk & Coomans, 1978; *P. gracilis* Truskova, 1976; *P. granulatus* Bastian, 1865; *P. hawaiiensis* Cobb, 1906; *P. hyperboreus* Zell, 1993; *P. indicus* Khera, 1972; *P. infundibulifer* Andrassy, 1985; *P. inquirendus* Andrassy, 1958; *P. insignis* Cobb, 1893; *P. insolens* Andrassy, 1998; *P. intermedius* Cobb, 1893; *P. intorticaudatus* Truskova, 1976; *P. kenyanus* Allgén, 1952; *P. lamproptychus* DeLey & Coomans, 1994; *P. longicaudatus* Bütschli, 1873; *P. magadani* Kuzmin, 1979; *P. makrodemas* Massey, 1964; *P. meridianus* Andrassy, 1998; *P. meridionalis* Steiner, 1916; *P. minimus* Cobb, 1893; *P. minor* Novikova & Gagarin, 1971; *P. montanus* Zell, 1993; *P. opisthocirculus* Andrassy, 1952; *P. obtusicaudatus* Daday, 1899; *P. ornatus* Bütschli, 1873; *P. otophorus* de Man, 1880; *P. palustris* de Man, 1880; *P. paracuminatus* Zell, 1993; *P. parainquirendus* Gargarin, 1971; *P. paratenius* Zell, 1993; *P. parietinus* Bastian, 1865; *P. parvus* Bastian, 1865; *P. patagonicus* de Man, 1904; *P. pedunculatus* Hofmänner, 1913; *P. potamogeti* Schneider, 1938; *P. pseudelongatus* Zell, 1993; *P. pulcher* Zell, 1993; *P. pusillus* Cobb, 1893; *P. pusteri* Fuchs, 1930; *P. raabei* Brzeski, 1961; *P. refusius* Tahseen, Ahmad, Jairapuri, 1995; *P. rhizophilus* de Man, 1880; *P. rotundilabiatatus* Zell, 1993; *P. sabiniae* Hernandez, Imaz & Armendariz, 1998; *P. sambesii* Micoletzky, 1916; *P. schneideri* de Man, 1880; *P. silvaticus* Andrassy, 1985; *P. similes* Zell, 1993; *P. spicacaudatus* Ebsary, 1985; *P. subtilis* Truskova, 1976; *P. telekii* Mulk & Coomans, 1978; *P. tentaculatus* Fuchs, 1930; *P. tenuis* Bastian, 1865; *P. thornei* Rühm, 1956; *P.*

Neben den von mir isolierten Arten wurde auch auf Arten aus existierende Kulturen (Tab. 1-3) zurückgegriffen.

1.3 Ergebnis

Auf die oben erwähnte Art und Weise konnten sehr viele Individuen isoliert und kultiviert werden. Es werden hier nur die Plectidae aufgelistet (Tab. 1-1), mit denen im weiteren Verlauf gearbeitet wurde.

Tab. 1-1 Verwendete Plectidae, welche von mir isoliert und kultiviert wurden. Die Spalte Nr. gibt die Identifikationsnummer der verwendeten Kulturen an.

Nr.	Art		Fundort	Funddatum	Sammler
RSB 003	<i>Plectus</i> spec.	Abb. 1-1	Kompost, Saga-City, Präfektur Saga, Japan	14.09.2005	Chiharu Kato
RSB 004	<i>Anaplectus</i> spec.	Abb. 1-2	Moos, Sand, Lagune, Monte Bello, Mexiko	27.07.2005	Ilse Seiml-Buchinger
RSB 005	<i>Plectus cirratus</i> Bastian, 1865	Abb. 1-3	Moos, Garten, Baumheide, 33609 Bielefeld, Deutschland	22.05.2004	selbst gesammelt
RSB 006	<i>Plectus australis</i> Cobb, 1893	Abb. 1-4	Moos, Dach, Domäne Dahlem, 14195 Berlin, Deutschland	26.04.2004	selbst gesammelt
RSB 007	<i>Plectus acuminatus</i> Bastian, 1865	Abb. 1-5	Moos, DRK-Landesschule Münster, Deutschland	10.12.2005	selbst gesammelt
RSB 008	<i>Plectus aquatilis</i> Andrássy, 1985	Abb. 1-6	Sand, Sediment Stausee, Bielefeld, Deutschland	15.04.2004	selbst gesammelt
RSB 009	<i>Plectus longicaudatus</i> Bütschli, 1873	Abb. 1-7	Moos, Meteora-Klöster, Griechenland	18.05.2005	Hildegard Liedtke
RSB 010	<i>Plectus velox</i> Bastian, 1865	Abb. 1-8	Moos, Garten, Baumheide, 33609 Bielefeld, Deutschland	04.07.2004	selbst gesammelt
RSB 012	<i>Plectus parvus</i> Bastian, 1865	Abb. 1-9	Moos, Garten, Baumheide, 33609 Bielefeld, Deutschland	22.05.2004	selbst gesammelt
RSB 014	<i>Plectus patagonicus</i> de Man, 1904	Abb. 1-10	Moos, Sand, Lagune, Monte Bello, Mexiko	27.07.2005	Ilse Seiml-Buchinger
RSB 017	<i>Plectus</i> spec.	Abb. 1-11	Moos, Post, Lijiang, China	24.07.2004	Ilse Seiml-Buchinger

tolerans Andrásy, 1998; *P. tritici* Bastian, 1865; *P. tropicus* Zell, 1993; *P. turricaudatus* Truskova, 1976; *P. varians* Maggenti, 1961; *P. velox* Bastian, 1865; *P. vindobonensis* von Gunhold, 1953; *P. zelli* Tahseen, Ahmad & Jairajpuri, 1992; *Tylocephalus auriculatus* (Bütschli, 1873); *T. palmatus* Tahseen, Ahmad, Jairajpuri, 1995; *T. tentaculus* (Fuchs, 1930); *Wilsonema auriculatum* (Bütschli, 1873); *W. cephalatum* Cobb, 1913; *W. cheliferum* Andrásy, 1986; *W. fausti* (Kreis, 1930); *W. otophorum* (de Man, 1880); *W. tentaculus* (Fuchs, 1930);

RSB 020	<i>Plectus minimus</i> Cobb, 1893	Abb. 1-12	Moos, Region Bohoulla, Högsby Smaland, Schweden	30.08.2004	Peter Lederer
RSB 025	<i>Plectus geophilus</i> de Man, 1880	Abb. 1-13	Moos, Wat Doi Suthep, Chiang Mai, Thailand	01.10.2005	Franz Seiml- Buchinger
RSB 031	<i>Anaplectus granulatus</i> (Bastian, 1865)	Abb. 1-14	Moos, Vogelaussichtsturm Körzin, Brandenburg, Deutschland	30.04.2005	selbst gesammelt
RSB 026	<i>Prionchulus</i> spec.		Moos, Königin-Luise-Str. 1- 3, 14195 Berlin, Deutschland	14.05.2006	selbst gesammelt

Für die taxonomische Bearbeitung wurden die Kulturen mit den Originalbeschreibungen verglichen, bekannte Synonyme wurden natürlich ebenfalls berücksichtigt. Dabei konnten ebenfalls Arten neu synonymisiert werden (Tab. 1-2).

Bei der Identifizierung einer kultivierten Art kamen nach den Originalbeschreibungen die Arten *Plectus longicaudatus* Bütschli, 1873, *Plectus fragilis* Zell, 1993 und *Plectus pulcher* Zell, 1993 als mögliche Arten in Frage. Der Unterschied zwischen diesen Arten liegt nur in der Mundhöhlenbreite: *P. fragilis* 6,5-7,5µm, *P. longicaudatus* 7,5-8,5 und *P. pulcher* 9-10. Die Nachkommen eines Weibchens in der Kultur wiesen eine Variabilität von 6-10µm auf. Auf Grund dessen, werden die jüngeren Arten *P. fragilis* und *P. pulcher* mit *P. longicaudatus* synonymisiert (Tab. 1-2).

Eine weitere Kultur wies ebenfalls Merkmale zweier Arten auf, einmal von *Plectus acuminatus* Bastian, 1865, zum anderen von *Plectus paracuminatus* Zell, 1993. Die Artunterschiede liegen hierbei in der Länge des Rektums und sporadisch auftretender Subepidermaldrüsen, *P. acuminatus* Rektum kürzer als 26µm, ohne Subepidermaldrüsen, *P. paracuminatus* Rektum länger als 27µm, sporadisch auftretende Subepidermaldrüsen. In der Kultur, Nachkommen eines Weibchens, wies das Rektum eine Länge von 19-31µm auf, ebenso wurden Individuen mit vereinzelt Subepidermaldrüsen gefunden, das Ursprungweibchen besaß keine sichtbaren Subepidermaldrüsen. Eine Artentrennung ist nicht möglich, deshalb wird *P. paracuminatus* als Synonym für *P. acuminatus* gesehen (Tab. 1-2).

Tab. 1-2 Neue Synonyme der verwendeten Plectidae

Valide Artnamen	Neu synonymisierte Artname
<i>Plectus acuminatus</i> Bastian, 1865	<i>Plectus paracuminatus</i> Zell, 1993
<i>Plectus longicaudatus</i> Bütschli, 1873	<i>Plectus fragilis</i> 1993 <i>Plectus pulcher</i> Zell, 1993

Neben den selbst isolierten Arten wurde auch auf Kulturen zurückgegriffen, welche anderorts kultiviert wurden (Tab. 1-3).

Tab. 1-3 Verwendete Arten, welche nicht selbst kultiviert wurden. Die Spalte Nr. gibt die Identifikationsnummer der verwendeten Kulturen an. Für *Plectus acuminatus* wurde eine neue Nummer vergeben.

Nr.	Art	Kultur von
PDL 0011	<i>Teratocephalus lirellus</i> Anderson, 1969	Paul De Ley
PDL 0030	<i>Tylocephalus auriculatus</i> (Bütschli, 1873)	Paul De Ley
PDL 1008	<i>Ereptonema</i> spec.	Paul De Ley
SB 374	<i>Cephalobus</i> spec.	Walter Sudhaus
SB 336	<i>Oscheius</i> spec.	Walter Sudhaus
CB 4088	<i>Caenorhabditis elegans</i> (Maupas, 1899)	Walter Sudhaus
SB 363	<i>Cephaloboides</i> spec.	Walter Sudhaus
RSB 015	<i>Plectus acuminatus</i> Bastian, 1865	Walter Traunspurger

1.4 Diskussion

Bei den kultivierten Arten ist es möglich, die Größenvariabilität der Arten zu bestimmen. Dieses ist auch unbedingt nötig, da es sich an den untersuchten Arten zeigen lässt, dass die natürliche Variabilität größer ist, als manchmal angenommen. Distinkte Maße flexibler Strukturen lassen sich als Artkriterium nicht heranziehen, wenn die Unterschiede nur marginal sind.

Bei einer Revision der Gattung *Plectus* ist es auf jeden Fall notwendig, die natürliche Variabilität der Arten zu kennen, welche sich sicher nur über Kulturen bestimmen lässt. Es ist dafür allerdings notwendig, deutlich mehr als nur die 12 kultivierten Arten (Tab. 1-1) zur Hand zu haben.

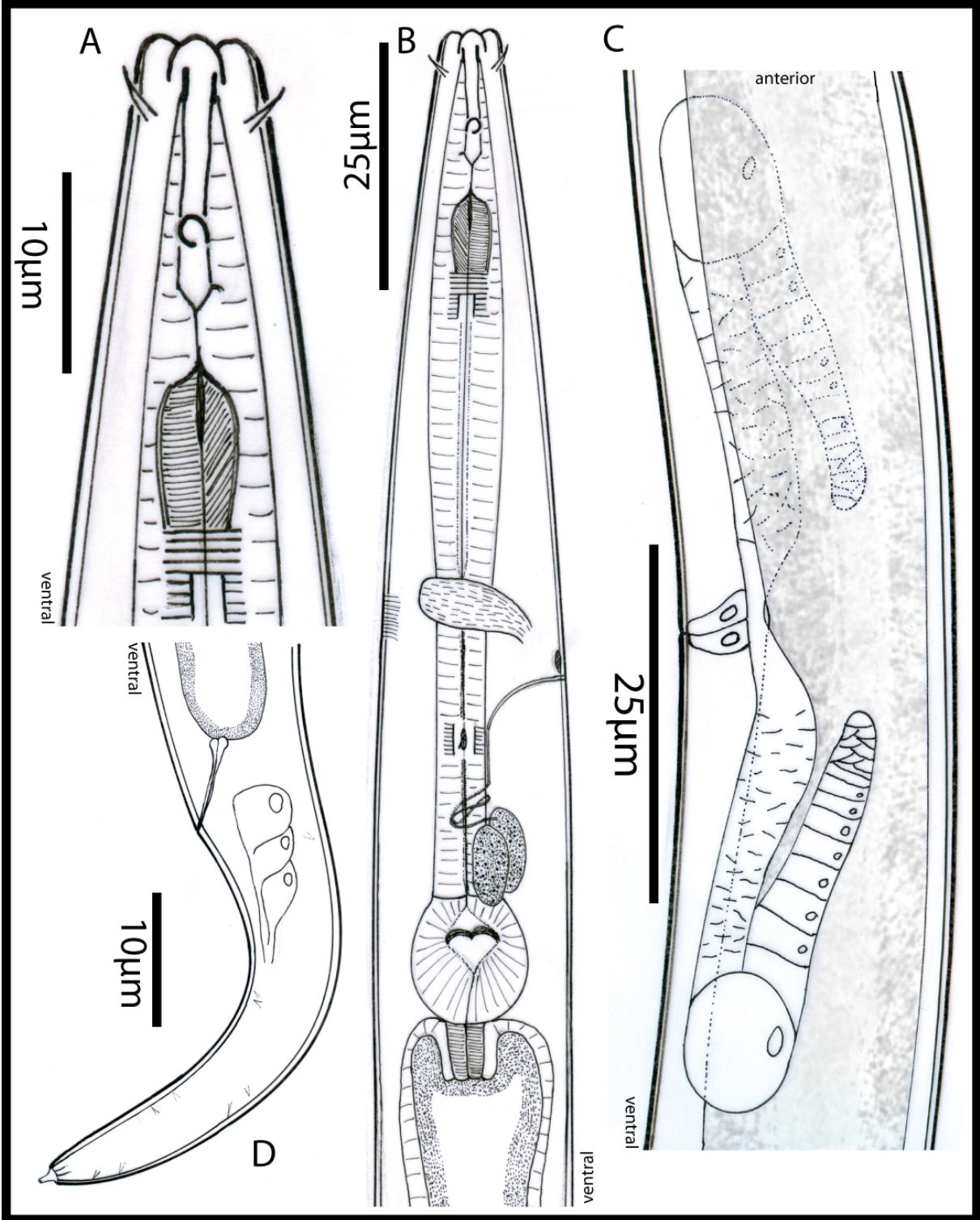


Abb. 1-1 *Plectus spec. RSB003* A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

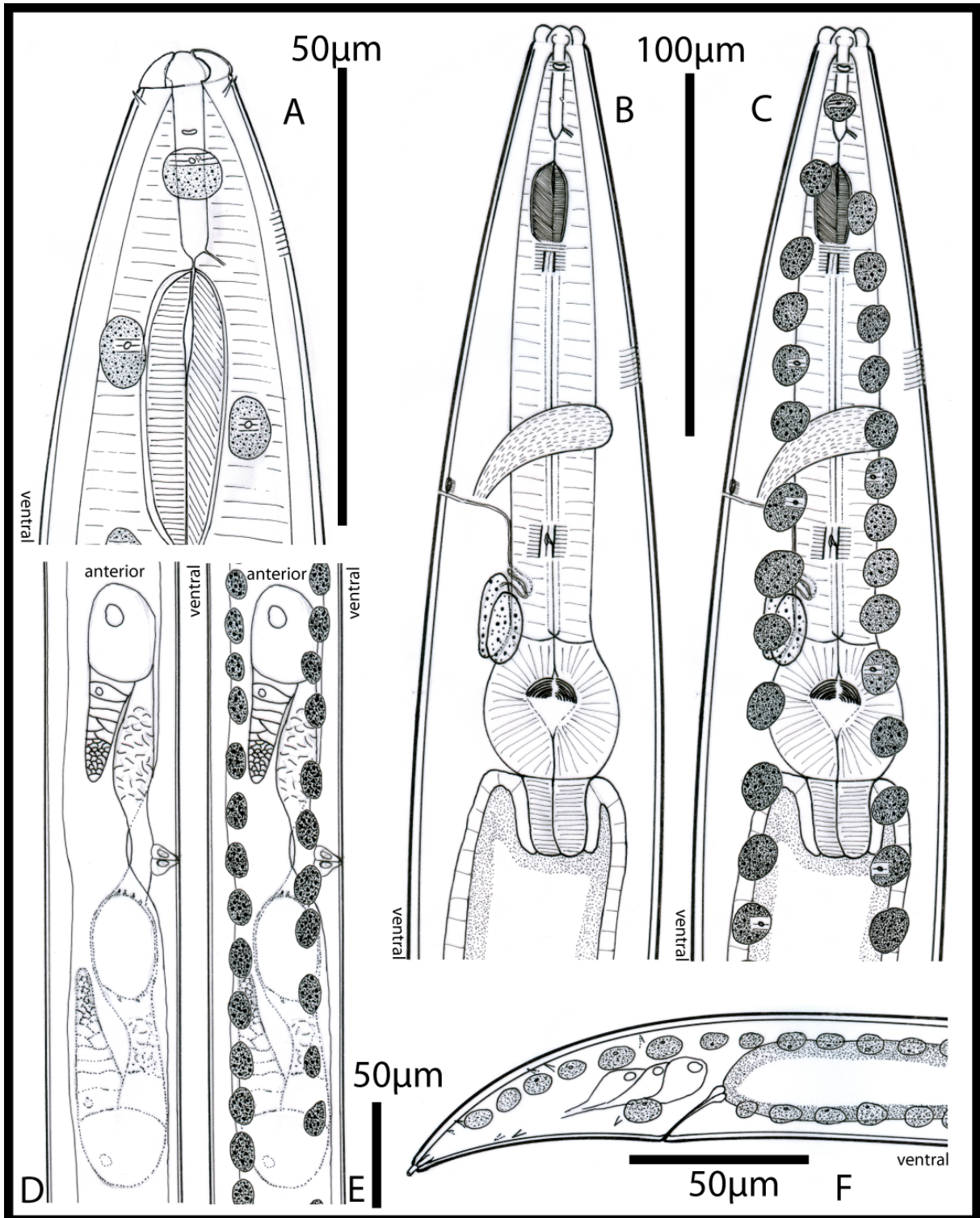


Abb. 1-2 *Anaplectus spec. RSB004* A: Kopfbereich; B, C: Pharynx; D, E: Gonaden; F: Schwanz; Bei B & D wurden die Subepidermaldrüsen nicht dargestellt.

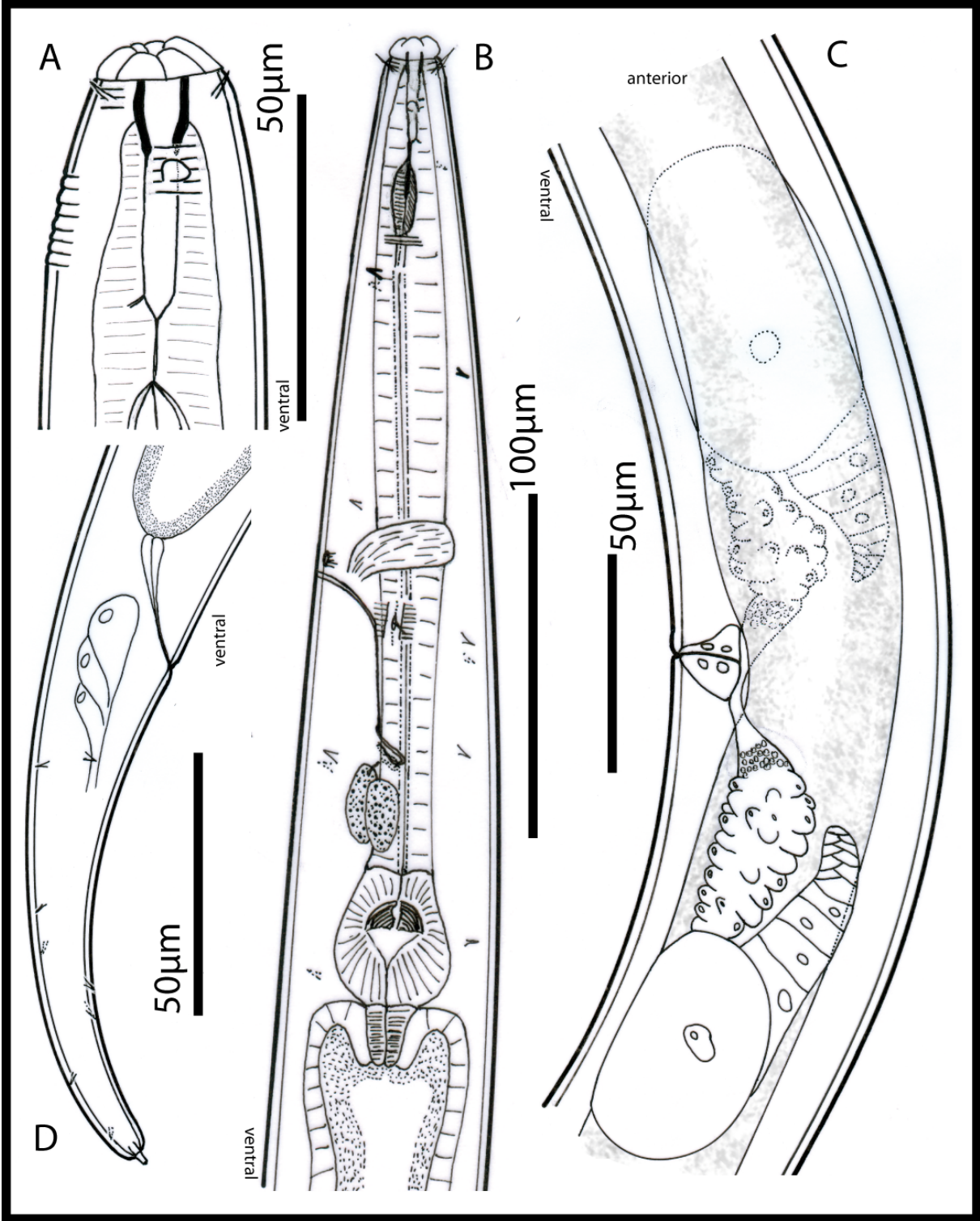


Abb. 1-3 *Plectus cirratus* RSB005 A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

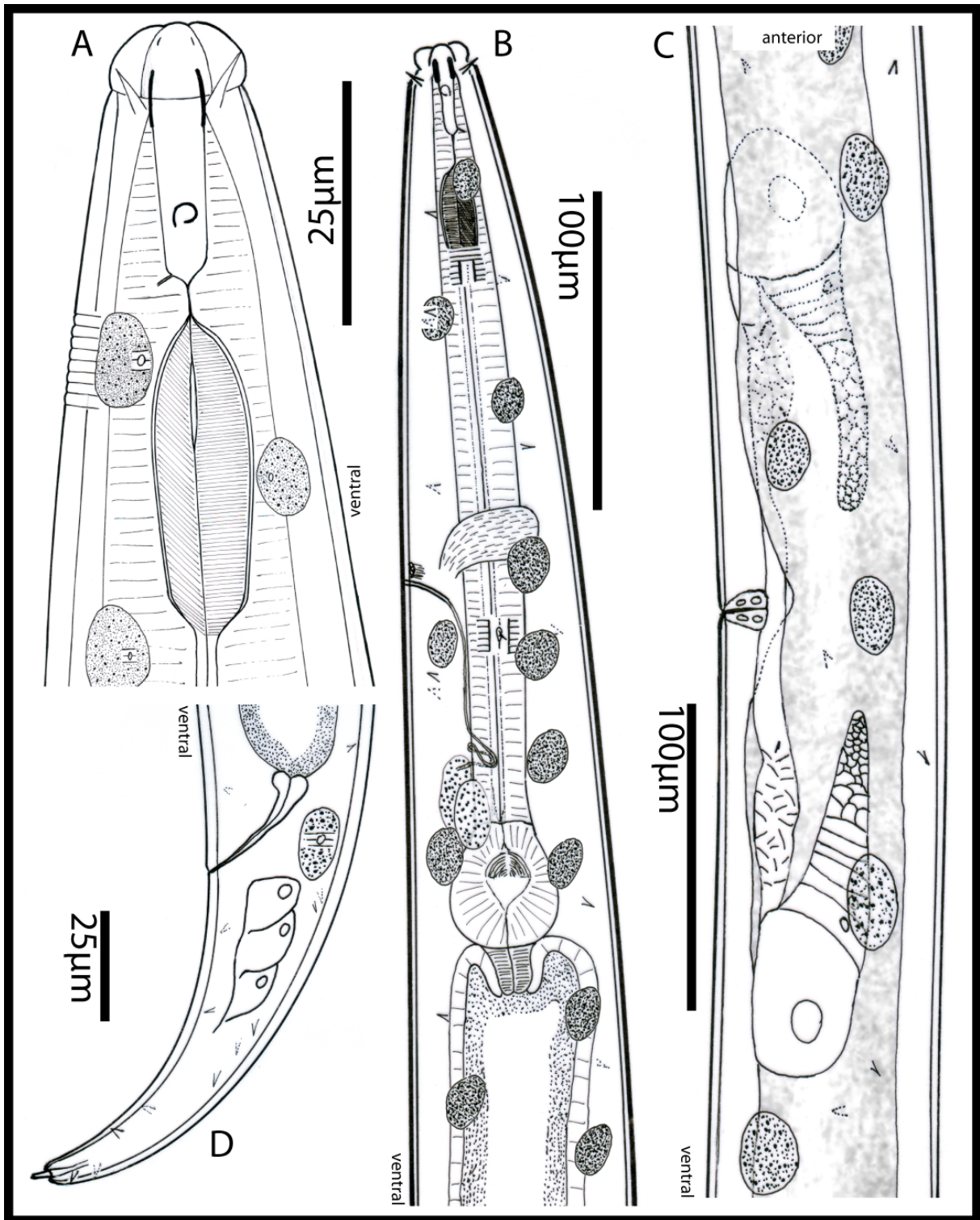


Abb. 1-4 *Plectus australis* RSB006 A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

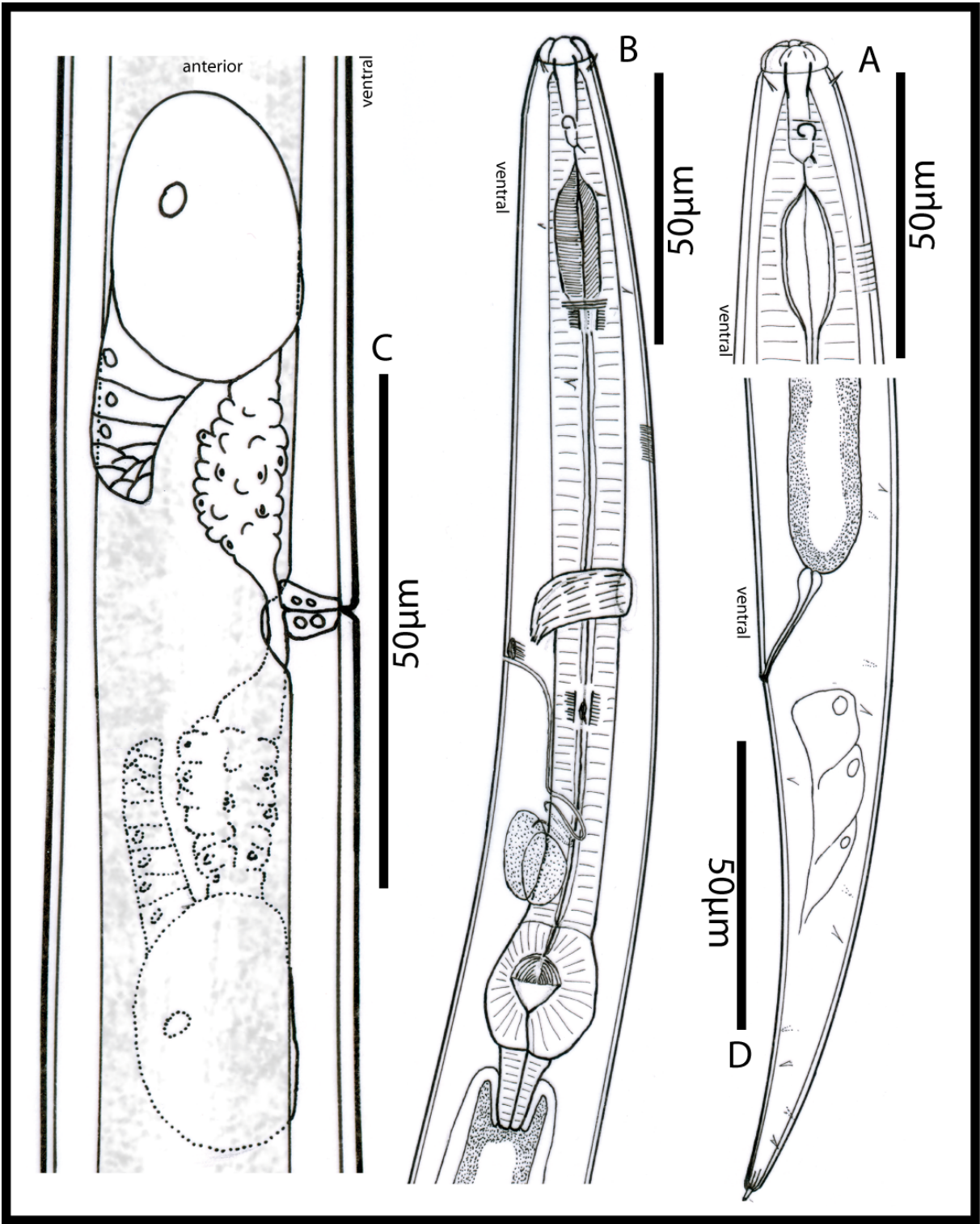


Abb. 1-5 *Plectus acuminatus* RSB007 A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

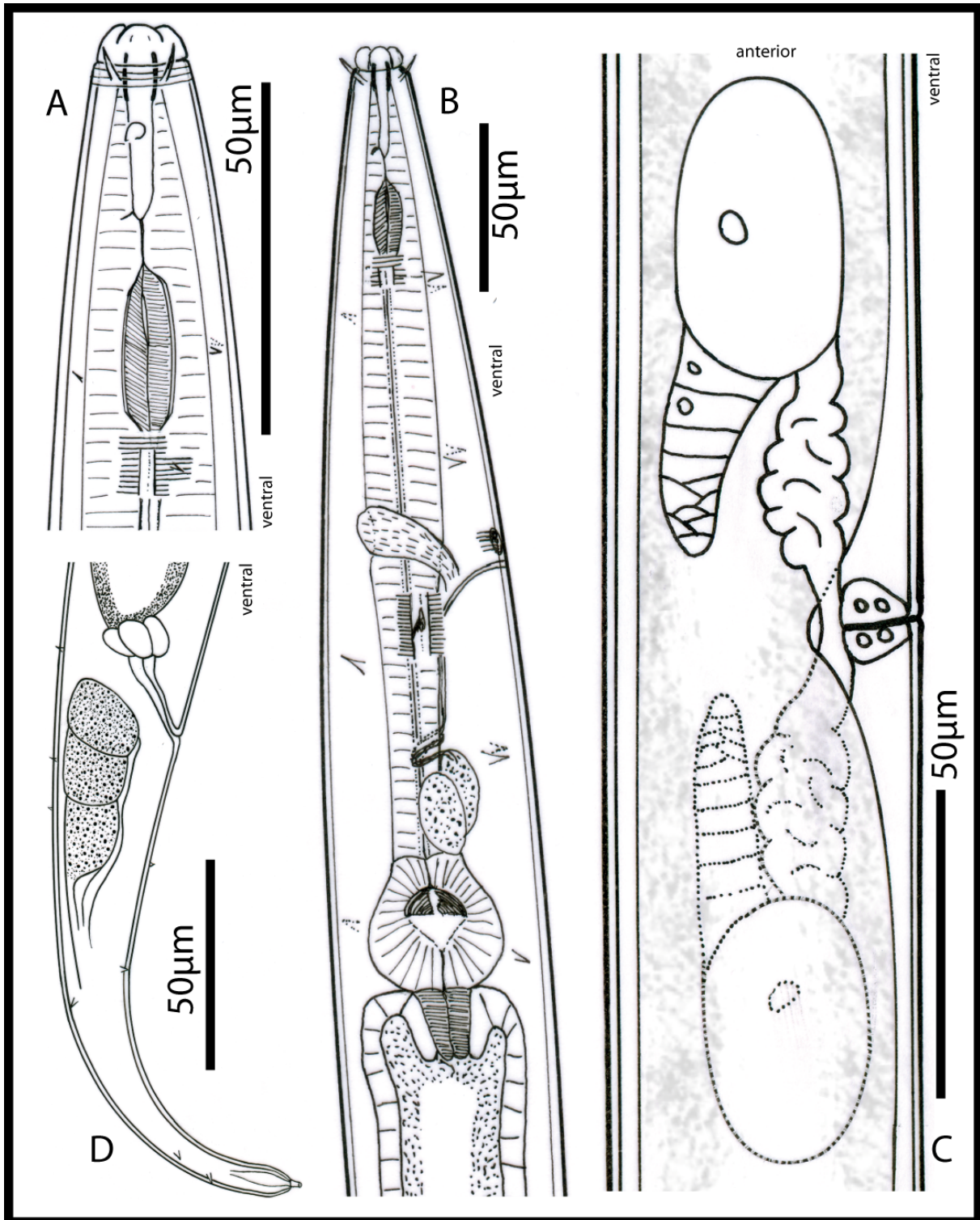


Abb. 1-6 *Plectus aquatilis* RSB008 A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

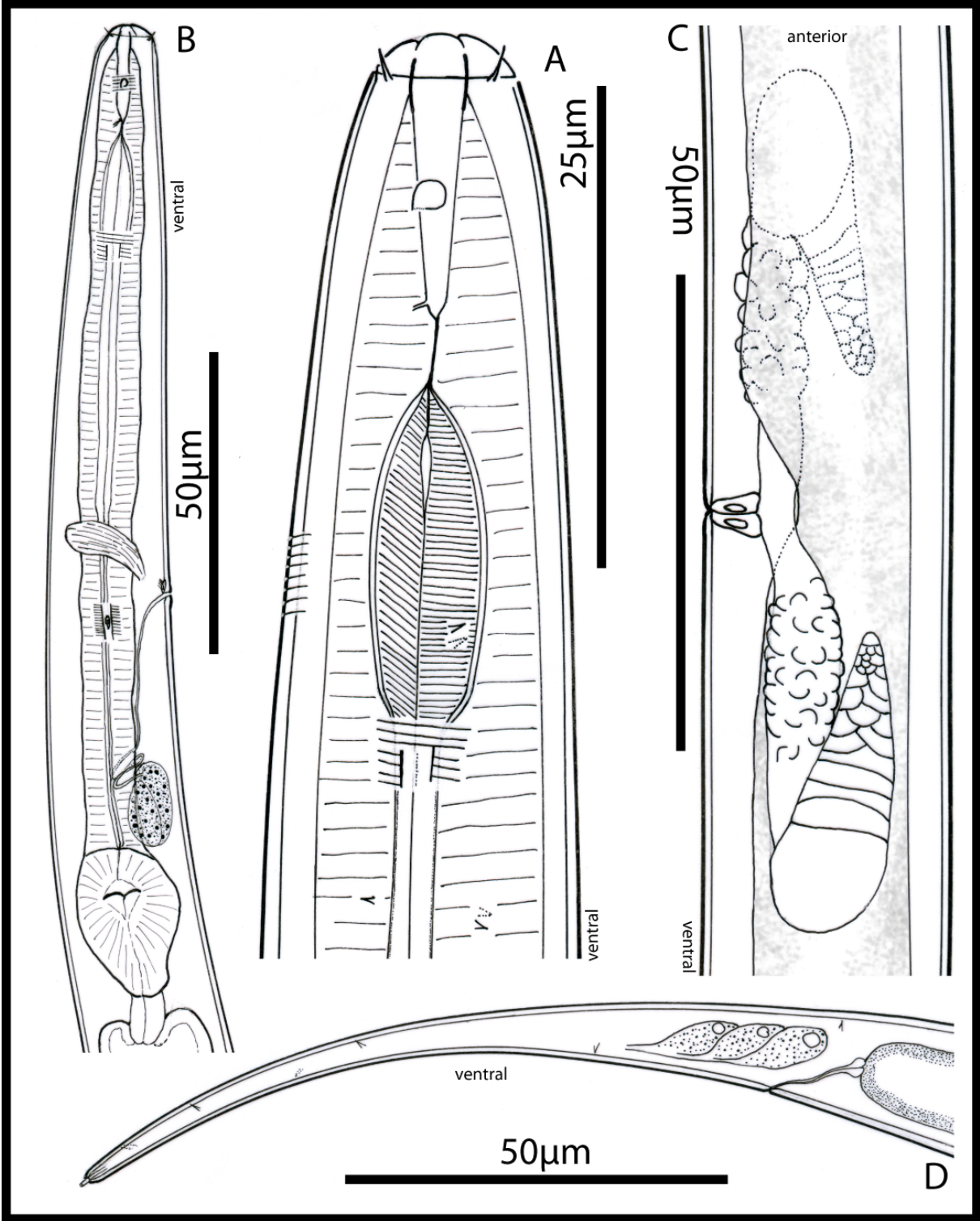


Abb. 1-7 *Plectus longicaudatus* RSB009 A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

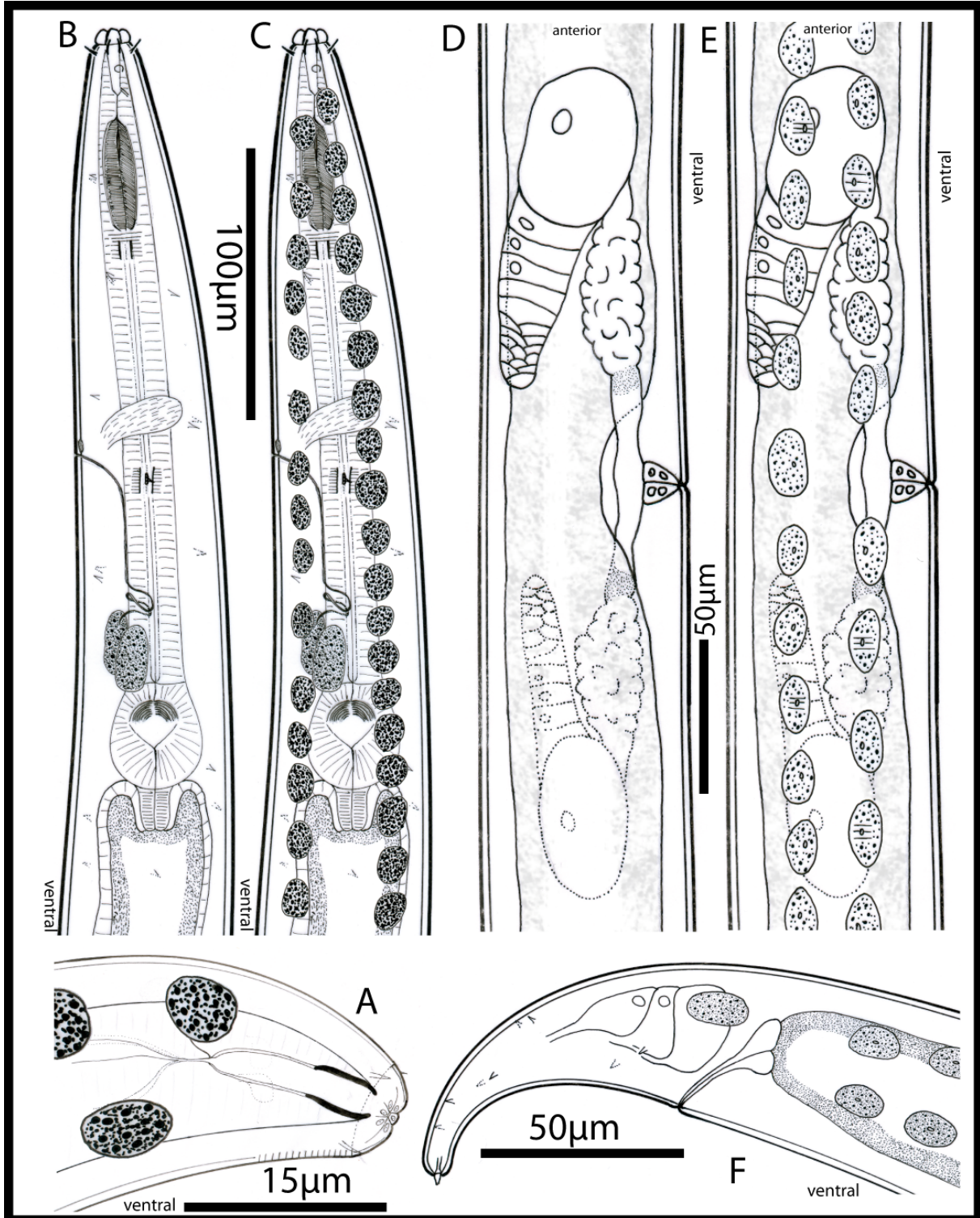


Abb. 1-8 *Plectus velox* RSB010 A: Kopfbereich; B, C: Pharynx; D, E: Gonaden; F: Schwanz; Bei B & D wurden die Subepidermaldrüsen nicht dargestellt.

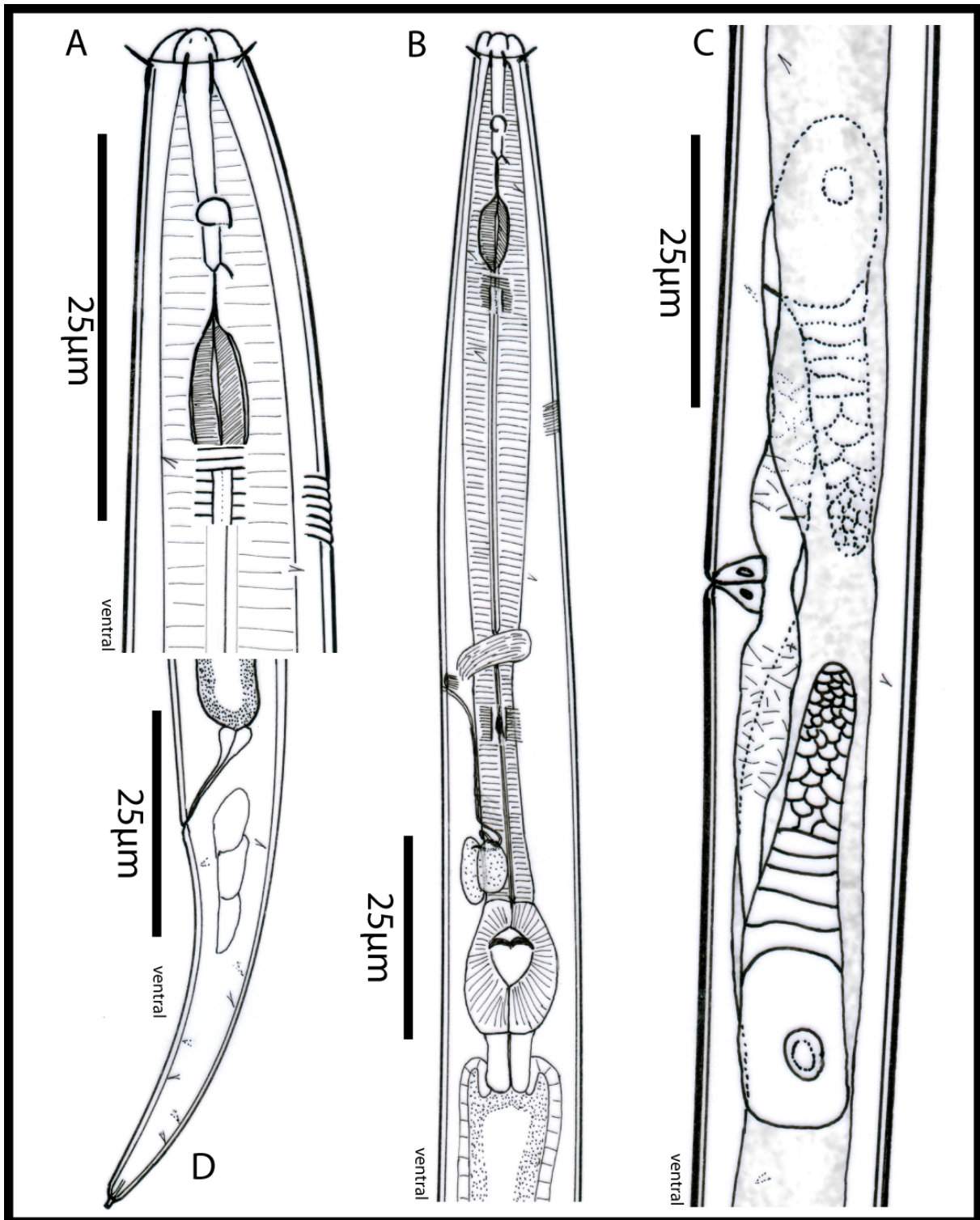


Abb. 1-9 *Plectus parvus* RSB012 A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

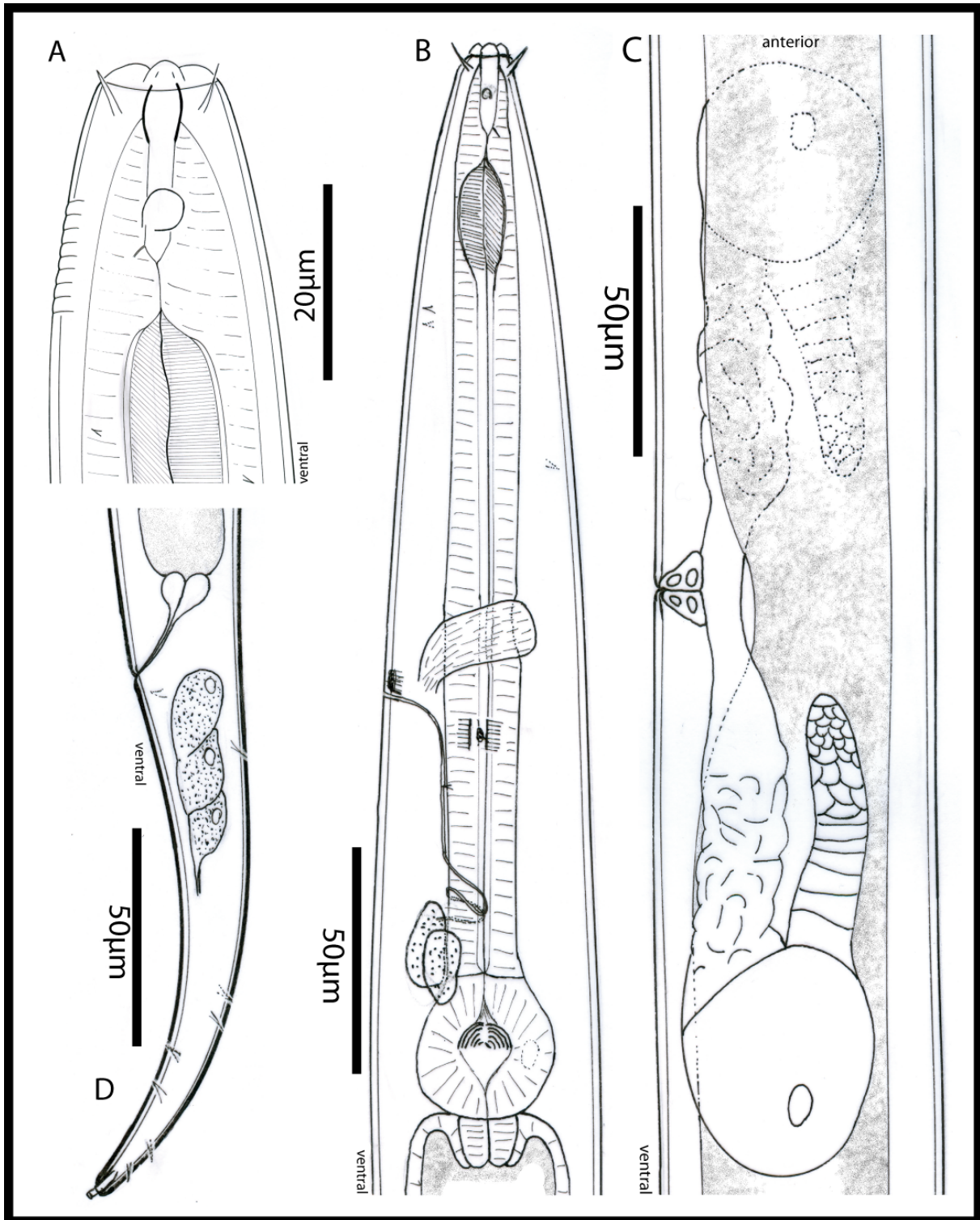


Abb. 1-10 *Plectus patagonicus* RSB014 A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

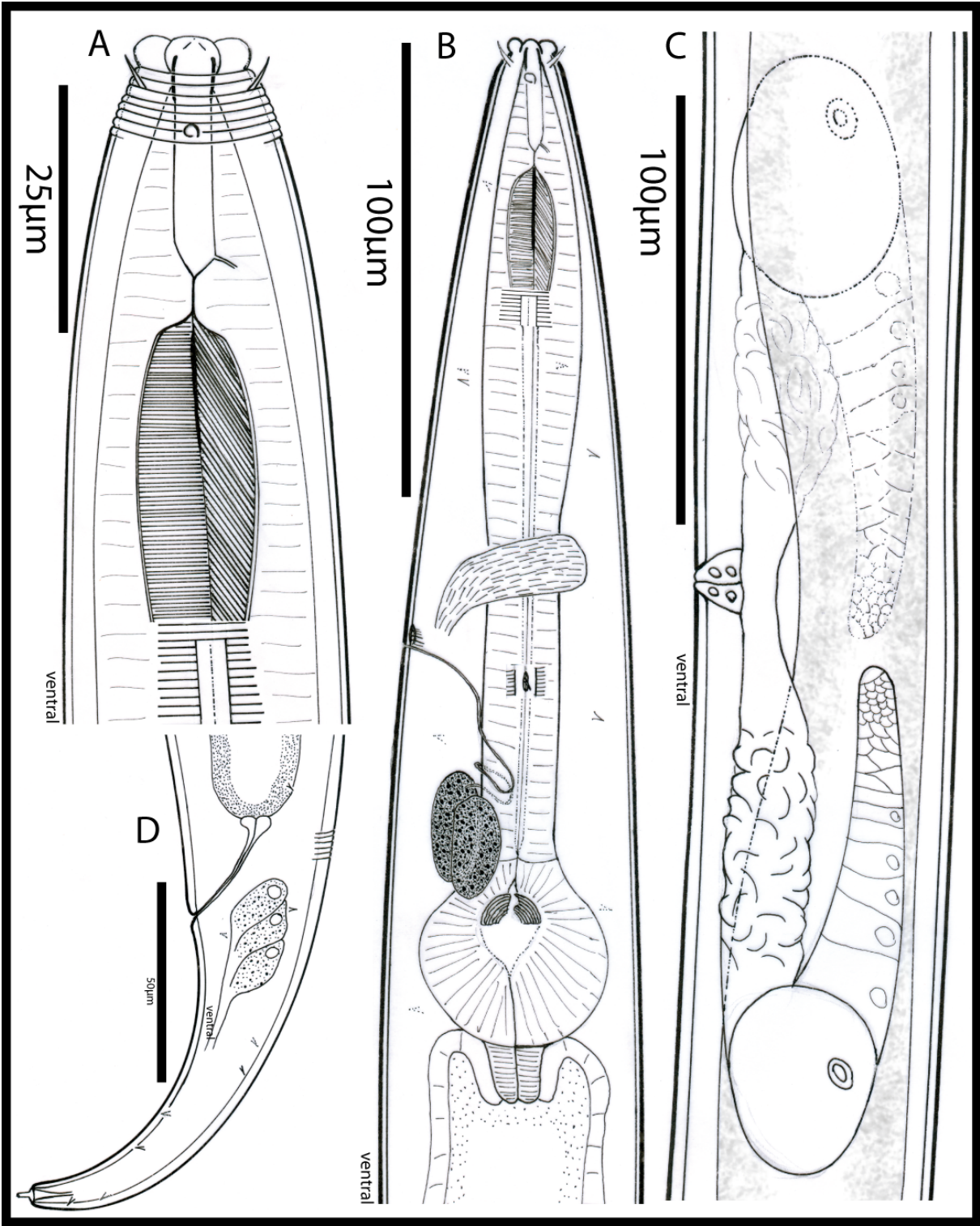


Abb. 1-11 *Plectus spec. RSB017* A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

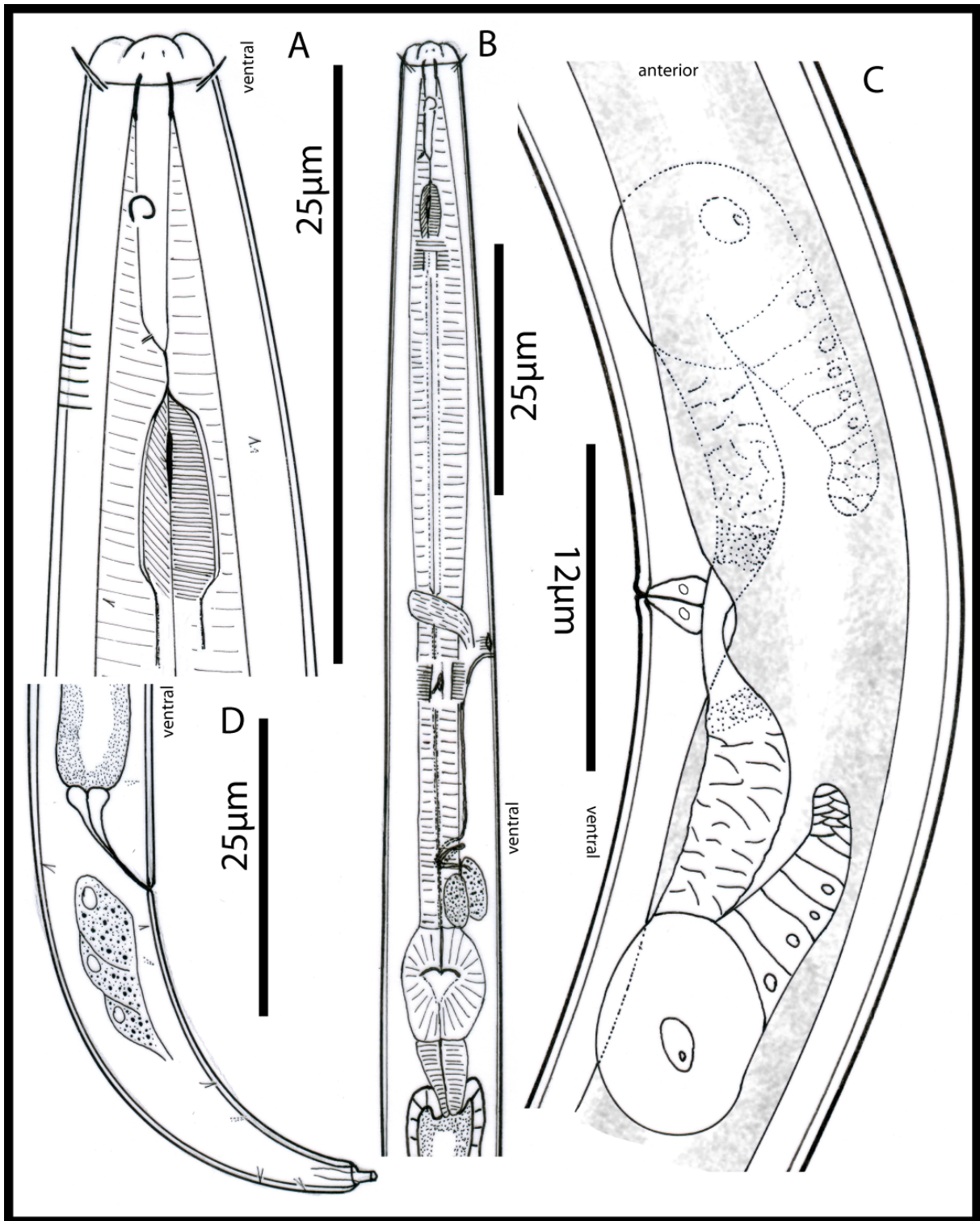


Abb. 1-12 *Plectus minimus* RSB020 A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

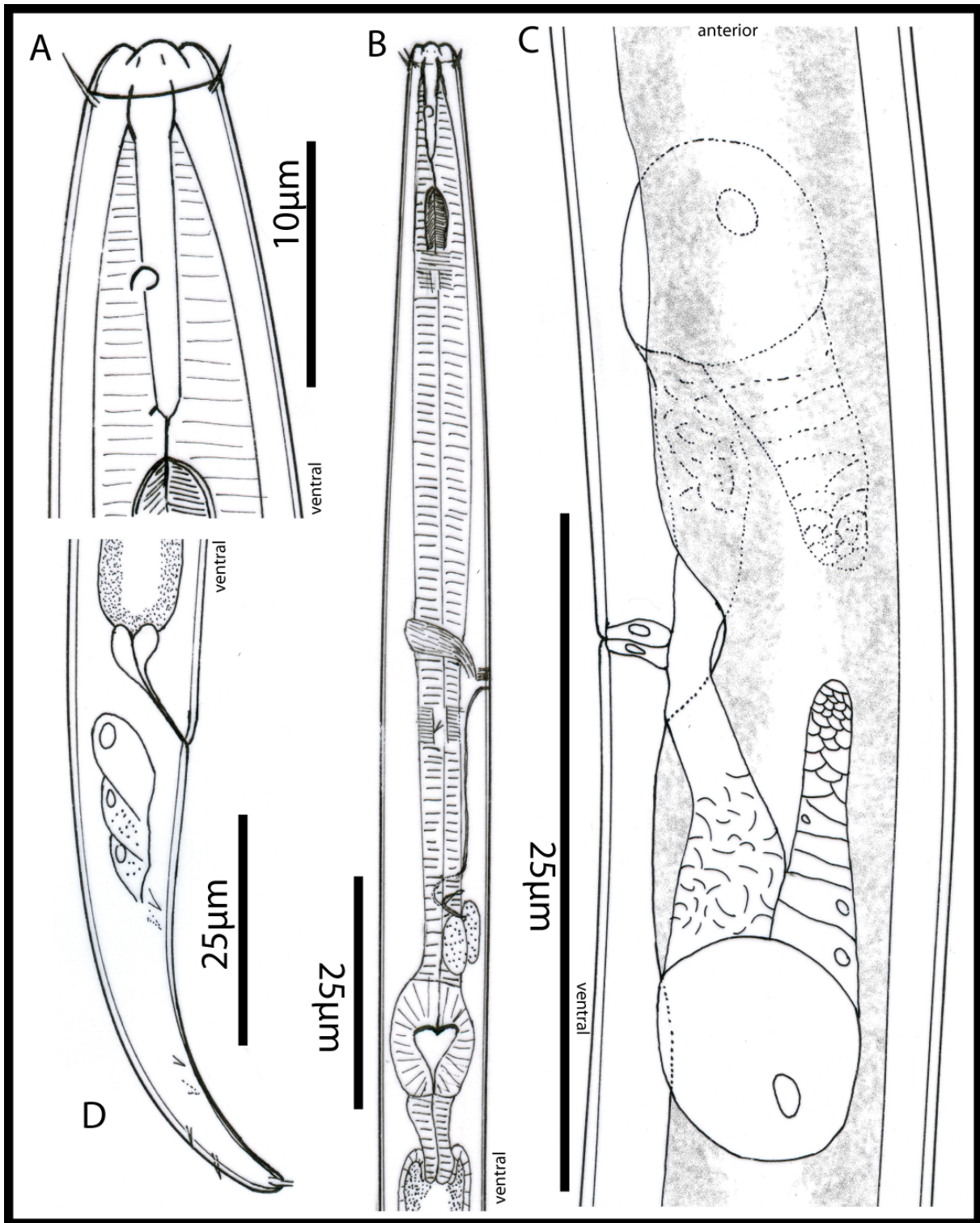


Abb. 1-13 *Plectus geophilus* RSB025 A: Kopfbereich; B: Pharynx; C: Gonaden; D: Schwanz.

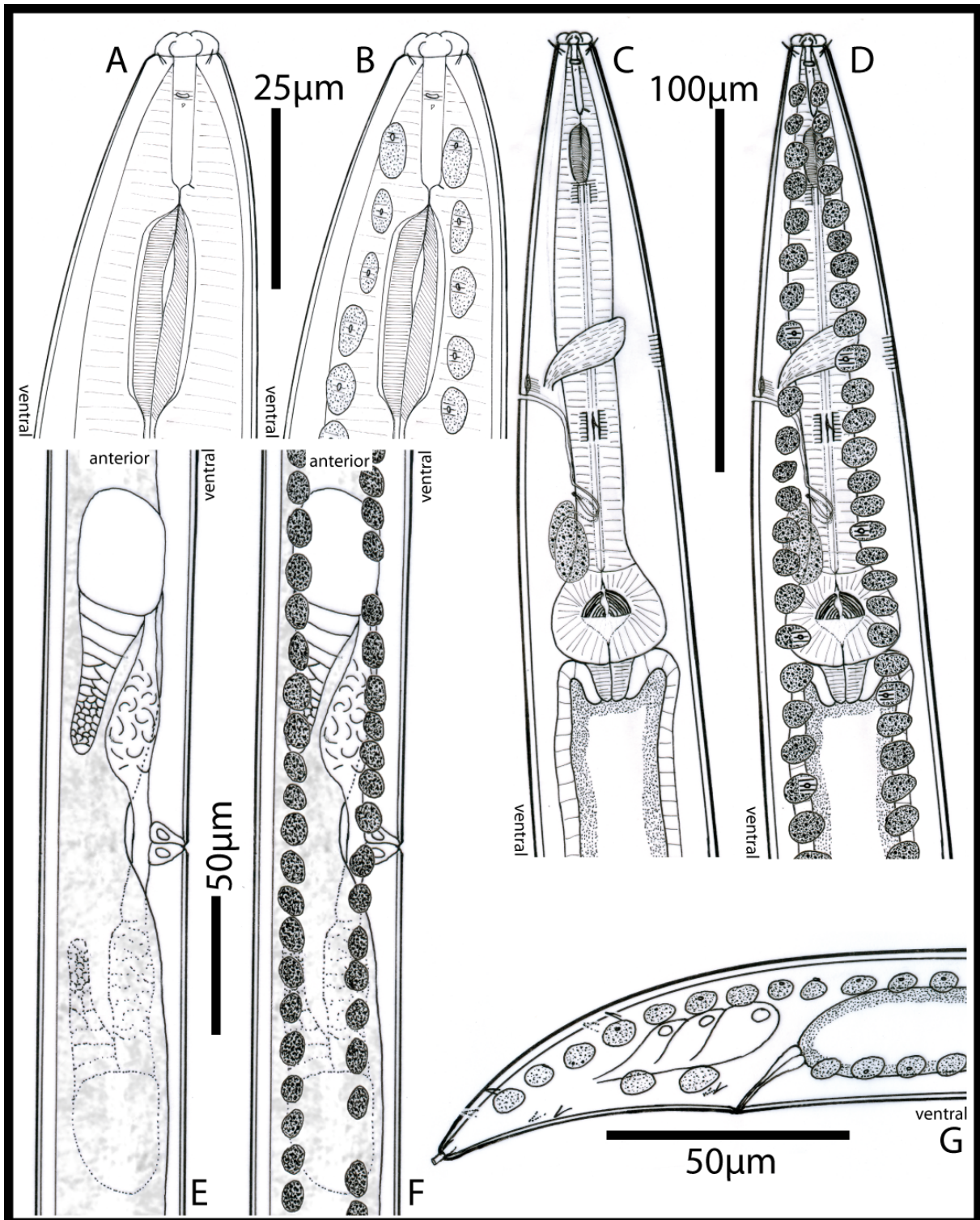


Abb. 1-14 *Anaplectus granulatus* RSB010 A, B: Kopfbereich; C, D: Pharynx; E, F: Gonaden; G: Schwanz; Bei A, C & E wurden die Subepidermaldrüsen nicht dargestellt.

2 Oberflächenmorphologie der Eier

2.1 Einleitung

Die Eier von Nematoden sind ein weites, aber bisher recht einseitig bearbeitetes Forschungsfeld. Es gibt viele Hinweise, Beschreibungen und Arbeiten zu Eiern parasitisch lebender Arten, sehr wenige zu frei lebenden. Als Grund dafür ist sicherlich die wirtschaftliche Bedeutung oder der einfachere Zugang zu größeren Mengen an Eiern von Parasiten zu nennen. Unabhängig von der Lebensweise der Nematoden haben ihre Eier eine dreischichtige Ei-Hülle. Diese Schichten werden vom Ei selber sezerniert. Die äußere Schicht ist die so genannte „vitelline layer“, eine dünne Proteinmembran, welche als erstes von der Eizelle generiert wird. Die nachfolgende „chitinous layer“ bildet sich nach dem Ablösen der „vitelline layer“ von der Eizelle in dem entstandenen Zwischenraum. Diese Schicht beinhaltet Chitin, welches bei Nematoden nur dort gefunden wird (PRESTON & JENKINS 1984; LORENZEN 1996; TAHSEEN 2002), obwohl es wohl auch in der Pharynxkutikula bei *Oesophagostomum dentatum* (Strongiloida) vorkommt (NEUHAUS et al. 1996; NEUHAUS et al. 1997). Die dritte innere Schicht ist die „lipid layer“, welche aus Fetten und Ascarosiden besteht und als Permeabilitätsbarriere dient (PRESTON & JENKINS 1984; TAHSEEN 2002). Bei einigen Nematoden z.B. innerhalb der Oxyurida oder Ascaridida existiert noch eine vierte, seltener auch eine fünfte Ei-Schicht, die „uterine layer“, welche dann die äußerste Begrenzung bildet und im Gegensatz zu den anderen Schichten nicht vom Ei sondern von der Crustaformeria / Quadricolumella im Genitaltrakt im Genitaltrakt gebildet wird (WHARTON 1980; JAIRAJPURI 2002).

Trotz des gleichen inneren Aufbaus der Schale besitzen viele Eier eine sehr variable äußere Struktur, sie reicht von glatten Oberflächen über gestachelte oder wulstartige bis zu Oberflächen mit komplexen flagellen- oder byssusartigen Anhängen (CHRISTENSON 1950). Diese Strukturen sind teilweise so spezifisch, dass es bei Zooparasiten sogar möglich ist, die Arten an Hand ihrer Eier zu identifizieren. Es geht sogar so weit, dass von einigen Arten nur die Ei-Morphologie bekannt ist und adulte Individuen noch nie gefunden wurden. Bei den Fischparasiten *Huffmanella* Moravec, 1987 sind bei acht Arten bisher nur von der Typusart *H. huffmanii* Moravec, 1987 adulte Individuen gefunden worden (ZD'ÁRSKÁ et al. 2001).

Bei vielen frei lebenden Arten wird meistens nicht mit lebenden Tieren gearbeitet, sondern nur mit fixierten Präparaten. Es besteht somit gar keine Möglichkeit die Ei-Morphologie zu untersuchen, wie es mit in Kulturen gehaltenen Arten möglich ist.

Zur Funktion der unterschiedlichen Oberflächenstrukturen gibt es auch einige Annahmen. Die Eier von *Mermis subnigrescens* weisen z.B. byssusartige Fortsätze an den Polen auf. Diese dienen zum Festsetzen auf den Blättern der Futterpflanzen der Wirte (JAIRAJPURI 2002). Es gibt auch andere Funktionen von terminalen Strukturen. Sie können zum Verbinden einzelner Eier zu längeren Ketten dienen. Bei *Chitwoodiella ovofilamenta* werden die Eier in langen Ketten abgelegt, die einer Mehrfachinfektion des neuen Wirtes dienen (JAIRAJPURI 2002). Bei dem Parasiten *Citellina marmotae* von Hydrophilidae besitzen die Eier lange Filamente, mit welchen ein Absinken im Sediment verhindert wird, oder sie sich in der Vegetation festsetzen (BASIR 1956).

Bei frei lebenden Nematoden gibt es keine Untersuchungen zur Funktion der Oberflächenstruktur.

2.2 Material und Methode

Für alle Untersuchungen wurde versucht nur Eier zu verwenden, die sich weiter entwickelt haben. Ei-Hüllen nach dem Schlupf wurden nur verwendet, wenn sich bei einer Art keine sich entwickelnden Eier finden ließen.

Objekte für die Lichtmikroskopie wurden direkt aus der Kultur auf Objektträger mit einer dünnen 4-5 %iger Agarschicht übertragen.

Die Oberflächenstruktur der Eier wurde bei allen Arten lichtmikroskopisch mit einem Zeiss Axioplan untersucht und vermessen, mit dem Zeichenspiegel gezeichnet und fotografisch mit einer Fujifilm FinePix S1 Pro fotografiert.

Des Weiteren wurden, wenn möglich, REM-Präparate der Eier erstellt. Es wurden unterschiedliche Präparationsverfahren angewendet.

1. Lufttrocknung: Die Eier wurden direkt aus der Kultur auf den Objektisch verbracht, und mindestens 15 min bei Raumtemperatur getrocknet.
2. Alkohol-Lufttrocknung: Die Präparate wurden bei langsam steigender Alkoholkonzentration (ca. 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%) entwässert. Die Objekte wurde dazu zu Beginn in einen kleinen Tropfen Flüssigkeit gegeben, anschließend die 10%-Lösung großzügig hinzugegeben, nach mindestens 10 min Einwirkzeit die Lösung vorsichtig bis auf einen kleinen Rest abgesaugt und die 20%-Lösung hinzugefügt. Diese Methode wurde bis zum Erreichen des 99% Alkohols wiederholt. In dieser Konzentration wurden die Eier auf den Objektisch verbracht und dort 5 min luftgetrocknet.

3. Hexamethyldisilazane: Die Eier wurden in einer Alkoholreihe entwässert (siehe oben). Nach Erreichen der absoluten Konzentration wurde der Alkohol bis auf einen kleinen Rest abgesaugt. Anschließend wurde zur Trocknung etwas Hexamethyldisilazane hinzugegeben, dieses verdunsten gelassen, anschließend die Eier auf den Objektisch übertragen. Dabei war bis zur endgültigen Trocknung ein Luftkontakt zu vermeiden.
4. Kritisch-Punkt-Trocknung: Die Objekte wurden in Alkohol entwässert (siehe oben). Im absoluten Alkohol wurden die Eier in poröse Trocknungsbehälter überführt. Bei der Kritisch-Punkt-Trocknung wird bei 10°C und 45bar Druck der Alkohol langsam gegen CO₂ ausgetauscht. Die Trocknung erfolgt bei 31°C und 73,8bar. Die Arbeiten wurden an einem BAL-TEC CPD 030 durchgeführt. Anschließend erfolgte die Übertragung auf den Objektisch. Die Präparate dürfen nach Beginn der Entwässerung in Alkohol bis zur endgültigen Trocknung nicht mit Luft in Kontakt kommen.

Unabhängig von der Präparationsweise wurden alle Objekte direkt nach der Trocknung mit einer dünnen Schicht Gold besputtert. Dieses erfolgte im Gerät BAL-TEC SCD 040 im Vakuum (0,05-0,01mbar) und bei einer Spannung von ~40mA für 120s.

Die REM-Untersuchungen fanden an einem FEI QUANTA 200 statt. Die Einstellungen variierten zwischen einer Spot-Größe von 2.0-4.0 und einer Hochspannung von 15-20KV.

Zur besseren Handhabung wurden die Präparate manchmal auch während der Alkoholreihe mit Bengal-Rosa eingefärbt. Die Inkubationszeit wurde dann allerdings auf 1h pro Konzentrationsstufe erhöht. Anschließend erfolgten auch einige Waschschrte in absolutem Alkohol.

2.3 Ergebnis

2.3.1 Ei-Oberfläche ohne Struktur

Plectus longicaudatus Bütschli, 1873 (RSB009) (Abb. 2-1 F)

Von dieser Art wurden insgesamt 2 Eier gefunden. Das eine Ei befand sich von der Entwicklung her im Kaulquappenstadium, das andere war ein „fertiges“ J1-Stadium. Beide Eier hatten eine glatte unstrukturierte Oberfläche. Die Länge/Breite betrug 41/30µm bzw. 38/31µm. Die Dicke der Ei-Schale betrug bei beiden Eiern weniger als ein Mikrometer.

Plectus parvus Bastian, 1865 (RSB012) (Abb. 2-1 A, B, C)

Die Eier (N=16) erreichten eine durchschnittliche Länge von 38 μ m (35-40 μ m), bei einer Breite von 29 μ m (28-31 μ m). Die Dicke der Ei-Hülle betrug weniger als ein Mikrometer. Die Oberfläche war vollständig unstrukturiert. Von den 16 Eiern waren vier im 1-Zellstadium, die anderen weiter entwickelt.

Plectus minimus Cobb, 1893 (RSB020) (Abb. 2-1 D, E)

Bei den 20 untersuchten Eiern konnte eine durchschnittliche Länge von 41 μ m (37-46 μ m) und eine durchschnittliche Breite von 30 μ m (26-38 μ m) ermittelt werden. Bis auf ein Ei hatten alle eine typische Ei-Form. Dieses Ei war nahezu rund (39/38 μ m), das Juvenile sah vollständig entwickelt aus und bewegte sich sehr rege im Ei. Die anderen Eier zeigten unterschiedliche Entwicklungsstufen vom 1-Zellstadium bis zum vollständig entwickelten Individuum. Die Ei-Schale war dünner als ein Mikrometer. Die Oberfläche war völlig glatt.

Plectus geophilus De Man, 1880 (RSB025)

Bei den 15 untersuchten Eiern ergab sich eine durchschnittliche Länge von 37 μ m (33-41 μ m) und eine Breite von 27 μ m (25-31 μ m). Die Ei-Hülle war unter einem Mikrometer dick und die Oberfläche war glatt. Das am wenigsten entwickelte Stadium war das 1-Zellstadium.

2.3.2 Ei-Oberfläche mit Stacheln

Plectus spec. (RSB003) (Abb. 2-1 G, H)

Die Eier dieser Art (N=20) besitzen eine Länge von durchschnittlich 47 μ m (43-53 μ m) bei einer durchschnittlichen Breite von 36 μ m (32-41 μ m). Die Ei-Schale ist überall gleichmäßig ca. 1 μ m dick. Die Oberfläche ist regelmäßig gestachelt. Die Stacheln sind max. 3 μ m lang, meistens aber deutlich kürzer. Zwischen den Stacheln sind im Lichtmikroskop knubbelartige Strukturen zu erkennen. Als am wenigsten entwickeltes abgelegtes Ei-Stadium konnte das 1-Zellstadium identifiziert werden.

Plectus aquatilis Andrassy, 1985 (RSB008) (Abb. 2-2 A, B, C)

Es standen 21 Eier für die Untersuchung zur Verfügung. Die Länge beträgt im Durchschnitt 48 μ m (43-52 μ m), die Breite 36 μ m (32-38 μ m). Die Ei-Hülle ist gleichmäßig zwischen 1-2 μ m dick. Auf der Oberfläche befinden sich dicht und gleichmäßig Stacheln. Die Stacheln sind an ihrer Basis unter einem Mikrometer breit und verjüngen sich gleichmäßig zur Spitze. Ihre Länge liegt zwischen zwei und fünf Mikrometern. Bei mehreren Eiern waren die Stacheln auf

einer Hälfte der Oberfläche in eine Richtung angelegt, in der anderen Hälfte in alle Richtungen abstehend (Abb. 2-2 B). Ein Ei befand sich im 2-Zellstadium, alle anderen Eier zeigten das Kaulquappenstadium oder spätere Stadien.

Plectus australis Cobb, 1893 (RSB006) (Abb. 2-2 D, E)

Bei dieser Art wurden keine Embryonalstadien gefunden. Die Ei-Morphologie konnte nur an Hand der nach dem Schlupf verbleibenden Ei-Hüllen beobachtet werden. Da die leeren Hüllen kein stabilisierendes Innenleben mehr besaßen, waren sie teilweise extrem verformt. Deshalb wurden nur die Größen von zwei platten Ei-Hüllen bestimmt: 50/34µm und 51/32µm. Die Hüllen wiesen deutliche Stacheln auf. Die Stacheln sind an der Basis bis zu 4µm breit und bis zu 5µm hoch. Die Basis ist teilweise unregelmäßig geformt, die Stacheln weisen nicht immer eine Spitze auf, sondern entsprechen Kegelstümpfen.

Plectus velox Bastian, 1865 (RSB010) (Abb. 2-3 A, B)

Die Eier (N=15) dieser Art wiesen eine durchschnittliche Länge von 53µm (47-58µm) und eine Breite von 38µm (35-42µm) auf. Die Ei-Hülle ist zwischen 1-2µm dick und gleichmäßig bestachelt. Das früheste gefundene abgelegte Embryonalstadium ist das 4-Zellstadium.

Tylocephalus auriculatus (Bütschli, 1873) (PDL0030) (Abb. 2-3 C, D, E; Abb. 2-4 A, B)

Insgesamt konnten sechs sich in Entwicklung befindliche Eier gefunden werden. Sie weisen eine Länge von durchschnittlich 51µm (47-55µm), eine Breite von 37µm (35-39µm) und eine Ei-Hüllendicke von ~1µm auf. Die Oberfläche ist dicht und gleichmäßig gestachelt. Die Basis ist unter einem Mikrometer breit, und die Stacheln weisen eine Höhe von 2-3µm auf. Einige Stacheln sind in der Spitze umgebogen (Abb. 2-4 A, B). Es wurde ein Ei im 1-Zellstadium gefunden.

Anaplectus granulosus (Bastian, 1865) (RSB031) (Abb. 2-4 C, D)

Die vermessenen Eier (N=6) besaßen eine durchschnittliche Länge von 66µm (61-71µm) und eine Breite von 35µm (31-40µm). Die Ei-Hülle ist überall zwischen 1-2 µm dick. Auf ihr sind gleichmäßig kurze Stacheln (max. 3µm) verteilt, welche sich zur Spitze gleichmäßig verjüngen. 33% der abgelegten Eier befanden sich im 1-Zellstadium.

Anaplectus spec. (RSB004) (Abb. 2-4 E, F, G, H)

Bei dieser Art weisen die Eier (N=16) eine Länge von 67 μ m (64-71 μ m) und eine Breite von 39 μ m (30-47 μ m) auf. Die Ei-Schale ist im gesamten Bereich zwischen 1-2 μ m dick und dicht bestachelt. Die Stacheln erreichen eine Länge von bis zu 6 μ m, die Basis erscheint im Lichtmikroskop 1-2 μ m breit. Die Stacheln verzüngen sich recht gleichmäßig zur Spitze hin. Es wurde ein abgelegtes Ei im 1-Zellstadium gefunden.

2.3.3 Ei-Oberfläche arkadenartig

Plectus acuminatus Bastian, 1865 (RSB007 + RSB015) (Abb. 2-5 A, B, C, D, E)

Es wurden 27 Eier untersucht, welche eine Größe von 49 μ m (43-55 μ m) zu 36 μ m (24-45 μ m) aufwiesen. Die Ei-Schale ist gleichmäßig zwischen 1-2 μ m dick. Die Oberfläche wird durch eine leistenartige, unregelmäßig-netzförmige Struktur charakterisiert, welche 2-3 μ m hoch ist (Abb. 2-5 A). Sie weist im LM in unregelmäßigen Abständen helle Bereiche auf (Abb. 2-5 C). REM-Aufnahmen (Abb. 2-5 B, D) lassen diese Strukturen als eine Art Arkadengang aussehen, einem überdachten Gang mit beidseitig tragenden Strukturen. Ein Vergleich der Anzahl der hellen Strukturen im LM (N=9) und der tragenden Strukturen im REM (N=6) auf 100 μ m² ergibt, dass sie in gleicher Anzahl auftreten: LM 33 (27-42); REM 32 (29-35). Bei den abgelegten Eiern wurde als frühesten Zustand das 1-Zellstadium gefunden.

Plectus cirratus Bastian, 1865 (RSB005) (Abb. 2-6 A, B, C, D, E)

Bei dieser Art wurden 21 Eier vermessen. Sie weisen eine Länge von 55 μ m (49-60 μ m) und eine Breite von 40 μ m (32-45 μ m) auf. Das Ei besitzt eine gleichmäßig 1-2 μ m dicke Hülle. Auf der Oberfläche befinden sich leistenartige Strukturen, welche im REM wie ein Arkadengang aussehen (Abb. 2-6 C, D, E). Ihre Orientierung verläuft im Großen und Ganzen von einem Pol zum anderen. Auch wenn es offene oder geschlossene Verbindungen zwischen den Strukturen gibt, lässt sich eindeutig ein Grundaufbau aus Längsleisten erkennen. Die Leisten sind bis 4 μ m hoch. Die Embryonalentwicklung ab dem 1-Zellstadium findet außerhalb des Uterus statt.

Plectus patagonicus de Man, 1904 (RSB014) (Abb. 2-5 F, G)

Von dieser Art standen insgesamt 17 Eier zur Verfügung. Sie wiesen eine Länge von 63 μ m (58-68 μ m) bei einer Breite von 45 μ m (42-48 μ m) und eine Hüllendicke von 1-2 μ m auf. Die bis 2 μ m hohen Strukturen bilden ein Netzwerk aus meistens geschlossenen Zellen (Abb. 2-5 G). Im LM sieht es allerdings so aus, als ob es sich nicht um einen Arkadengang handeln

würde, sondern die Strukturen in gesamter Breite auf der Oberfläche aufliegen. Es wurden mehrere abgelegte Eier im 1-Zellstadium gefunden.

2.3.4 Ei-Oberflächen außerhalb der Plectida

Prionchulus spec. (RSB026) (Abb. 2-7 A, B, C)

Die untersuchten Eier (N=2) wiesen eine Größe von 89/58 μ m und 79/55 μ m auf. Die Schalendicke liegt zwischen 1-2 μ m. Auf der Oberfläche befinden sich wulstige Verdickungen, welche im LM deutlich anders lichtbrechend sind als der Rest der Ei-Hülle. Diese Strukturen (Abb. 2-7 C) sind bis zu 3 μ m dick. Beide Eier befanden sich in ihrer Entwicklung im Kaulquappenstadium.

Teratocephalus lirellus Anderson, 1969 (PDL0011) (Abb. 2-7 D, E)

Es konnten bei dieser Art acht Eier untersucht werden. Die Entwicklungsstadien reichten vom Zellhaufen bis zum vollständig entwickelten Juvenilen. Die Eier variierten um die Länge 45 μ m (43-48 μ m) und die Breite 20 μ m (17-22 μ m). Die Ei-Hülle ist in ihrer Dicke sehr variabel. Im äquatorialen Bereich befinden sich mit teilweise deutlich unter einem Mikrometer die geringsten Dicken, an den Polen mit bis zu vier Mikrometer die größten. Im optischen Schnitt erscheint die Innenseite der Ei-Schale glatt und eiförmig. Die unterschiedliche Dicke zeigt sich durch wellenartige Ausstülpungen auf der Schalenaußenseite. Die Oberfläche ist ohne Strukturen.

Oscheius spec. (SB366) (Abb. 2-7 F, G)

Es standen 15 Eier zur Untersuchung zur Verfügung. Sie wiesen eine durchschnittliche Länge von 48 μ m (45-54 μ m) und eine Breite von 25 μ m (17-28 μ m) auf. Die Dicke der Ei-Hülle liegt zwischen 1-2 μ m. Die Oberfläche ist ohne Struktur und glatt. Es wurden mehrere Eier im 1-Zellstadium gefunden.

Cephalobus spec. (SB374) (Abb. 2-8 A, B)

Die durchschnittliche Größe von Eiern dieser Art (N=16) ist in der Länge 57 μ m (55-61 μ m) und in der Breite 27 μ m (25-29 μ m). Die glatte Ei-Hülle ist zwischen 1-2 μ m dick. Es wurden zwei Eier im 4-Zellstadium gefunden.

Caenorhabditis elegans (Maupas, 1899) (CB4088) (Abb. 2-8 C, D)

Es wurden 15 Eier vermessen. Die durchschnittliche Länge beträgt $49\mu\text{m}$ ($46\text{-}53\mu\text{m}$) und die Breite $29\mu\text{m}$ ($27\text{-}31\mu\text{m}$). Die Ei-Hülle ist $1\text{-}2\mu\text{m}$ dick und besitzt eine unstrukturierte Oberfläche. Es konnte ein Ei im 4-Zellstadium gefunden werden, die anderen Eier waren schon weiter entwickelt.

Cephaloboides spec. (SB363) (Abb. 2-8 E, F, G)

Die zehn untersuchten Eier zeigten eine Länge von $53\mu\text{m}$ ($50\text{-}57\mu\text{m}$) bei einer Breite von $35\mu\text{m}$ ($31\text{-}40\mu\text{m}$). Die Ei-Hülle ist bei allen Eiern zwischen $1\text{-}2\mu\text{m}$ dick. Die Oberfläche ist vollständig glatt. An einem Pol befindet sich eine Polzelle (Abb. 2-8 G). Vom Entwicklungsstand her befanden sich in den Eiern Zellhaufen unterschiedlicher Entwicklung oder spätere Stadien.

2.4 Diskussion

Wenn man sich die Oberflächenstrukturen der untersuchten Eier anschaut, zeigen sich auf den ersten Blick innerhalb der Plectida drei verschiedene Grundstrukturen: glatt, gestachelt, arkadenartig. Bei einer genaueren Betrachtung der arkadenartigen Struktur, wie es bei *Plectus acuminatus* geschehen ist, fällt auf, dass die tragenden Strukturen im REM mit den hellen Strukturen im LM in ihrer Anzahl übereinstimmen. Ein Vergleich lichtmikroskopischer Aufnahmen von *P. acuminatus* (Abb. 2-5 C) mit einer gestachelten Art wie *Plectus spec.* (Abb. 2-3 D) zeigt die gleiche optische Eigenschaft der tragenden Strukturen und der Stacheln. Ein gemeinsamer Ursprung beider Strukturen ist anzunehmen. Ein möglicher ursprünglicher Zustand wäre sicherlich die gestachelte Oberfläche, da diese vom Aufbau einfacher ist und auch vollständig als Struktur bei den arkadenartigen Oberflächen wieder zu finden ist.

Unter Berücksichtigung dieser Tatsache scheint es sich nur um zwei Grundstrukturen zu handeln: glatt und gestachelt.

Eine direkte Aussage zur Funktion der Oberflächenstrukturen von Eiern bei Plectiden lassen sich nicht treffen. Eine Vermutung wäre ein verbesserter Schutz vor Fraßfeinden. Bei räuberischen Nematoden wie Diplogastriden besitzen die beweglichen Zahnstrukturen eine mögliche Reichweite von $2\text{-}3\mu\text{m}$, bei *Ironus tenuicaudatus* beträgt diese bis zu $6\mu\text{m}$. Da die Stacheln sich ebenfalls in diesen Größenordnungen bewegen, könnten sie ausreichen, die Ei-Schale aus der Reichweite der Zähne zu halten. Bei Räubern mit einer unbeweglichen Mundhöhle wird die Beute angesaugt und durch den Zahn in der Mundhöhle aufgeschlitzt.

Die Mundhöhlenbreite wird der begrenzende Faktor sein, z.B. bei *Mononchus truncatus* Bastian, 1865 bis zu 9µm oder bei *Prionchulus* spec. mit bis zu 13µm. Die Oberfläche der Eier wird durch die Stacheln oder Arkaden stark vergrößert, außerdem erschweren die Strukturen durch ihre lockere Struktur ein Ansaugen durch Prädatoren.

Als ein weiterer Hinweis auf die Funktion zur Fressvermeidung könnte die Reproduktionsstrategie (Kapitel 7) gesehen werden. Bei den K-strategischen Arten weisen alle untersuchten Arten Eier Strukturen auf. Bei den r-strategischen weisen zwei Arten glatte Eier auf. Die dritte r-Art, *Plectus* spec. (RSB003), weist zwar Stacheln auf, diese sind allerdings locker verteilt.

Alles spricht für die Hypothese, dass die Oberflächenstrukturen zur Vermeidung von Fressfeinden dienen. Eine Unterstützung für diese Hypothese liefert FÜRST VON LIEVEN (2008). Im Experiment mit gestachelten Eiern (N=3) von *Myolaimus* spec. konnte er zeigen, dass der Räuber *Koerneria histophora* diese nicht fressen konnte, glatte Eier (N=4) von *Halicephalobus* spec. hingegen schon.

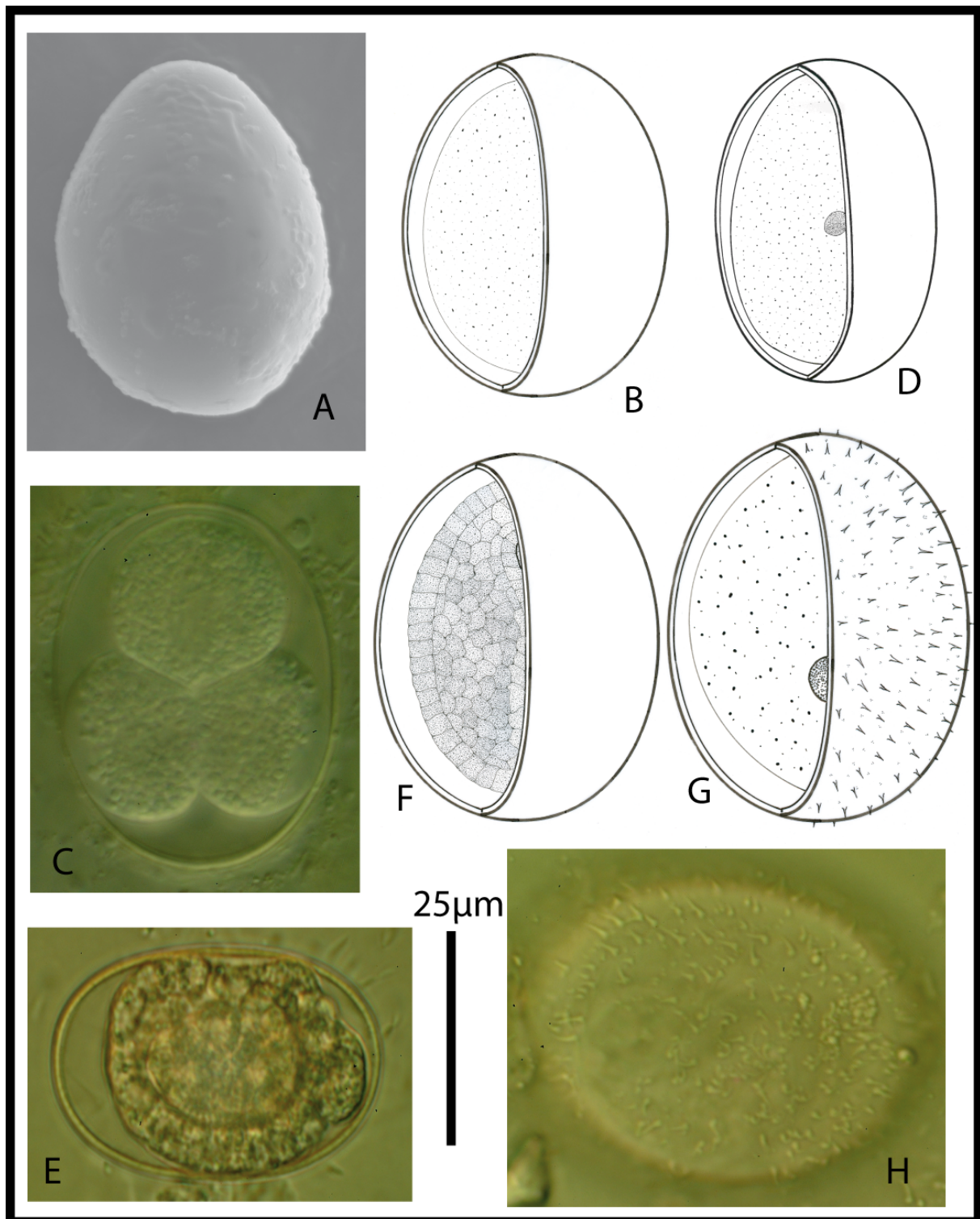


Abb. 2-1 Ei-Oberflächenstrukturen und frühestes gefundenes Zell-Stadium: A, B, C *Plectus parvus*; D, E *Plectus minimus*; F *Plectus longicaudatus*; G, H *Plectus spec.* (RSB003).

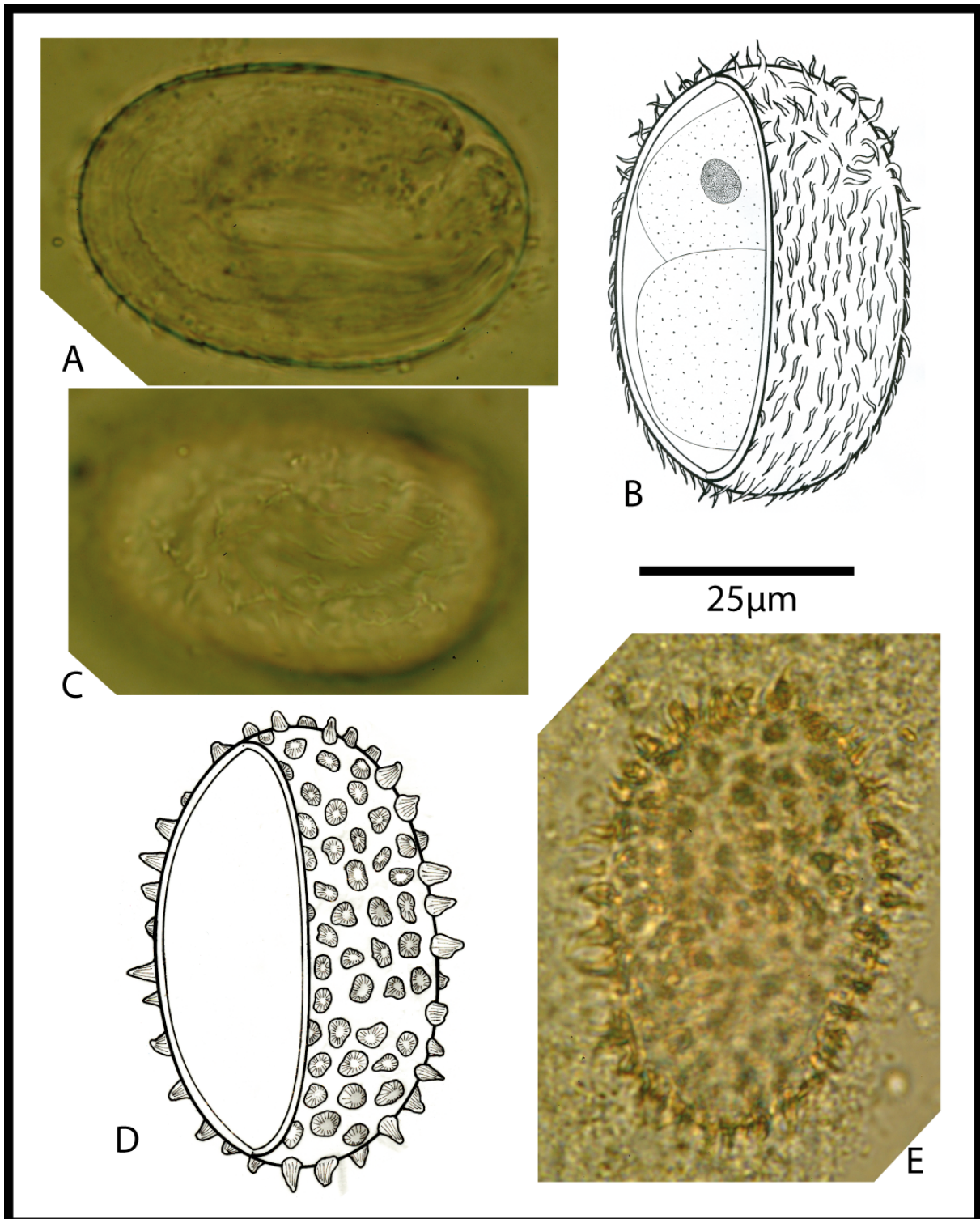


Abb. 2-2 Ei-Oberflächenstrukturen und frühestes gefundenes Zell-Stadium: A, B, C *Plectus aquatilis*; D, E *Plectus australis*.

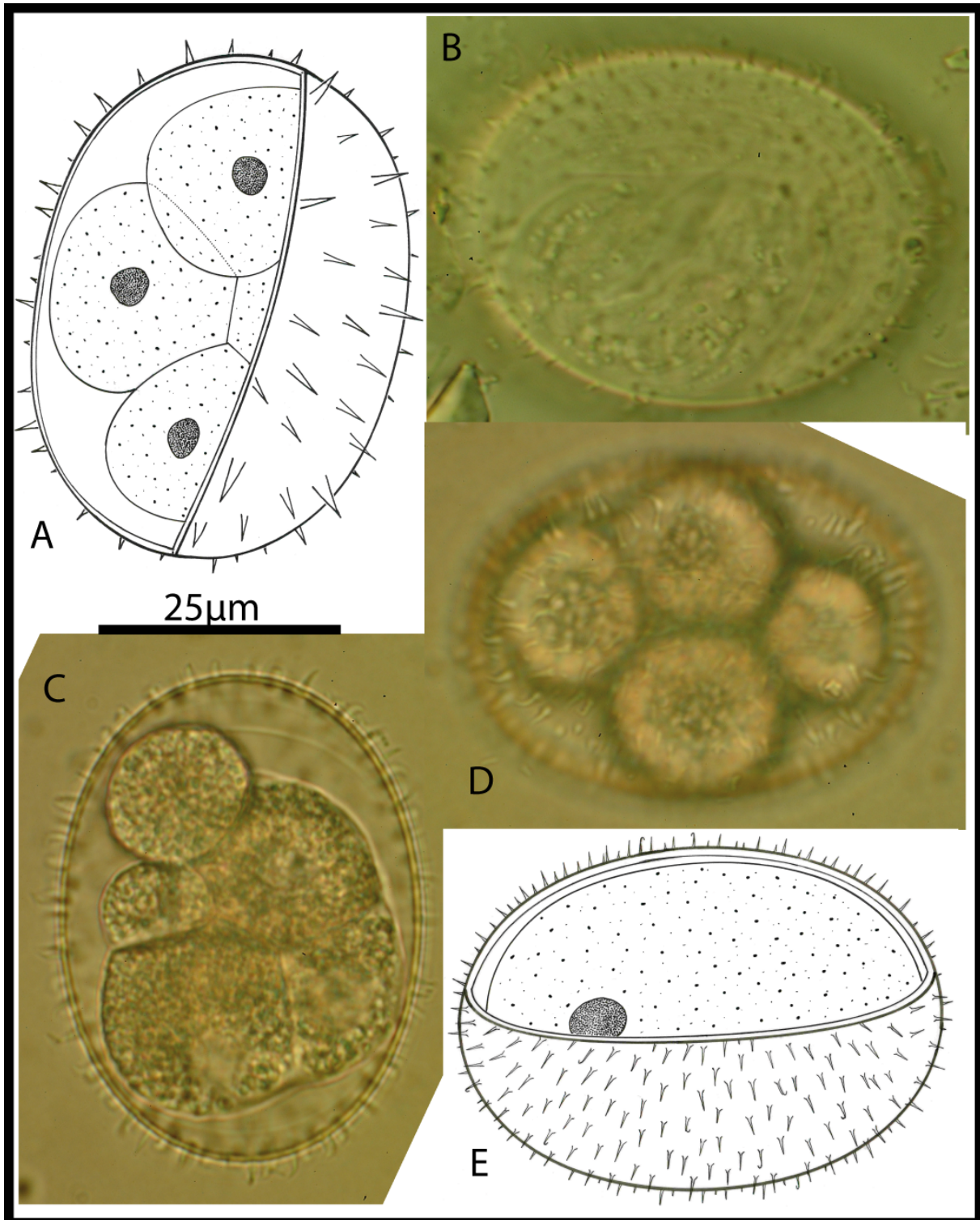


Abb. 2-3 Ei-Oberflächenstrukturen und frühestes gefundenes Zell-Stadium: A, B *Plectus velox*; C, D, E *Tylocephalus auriculatus*.

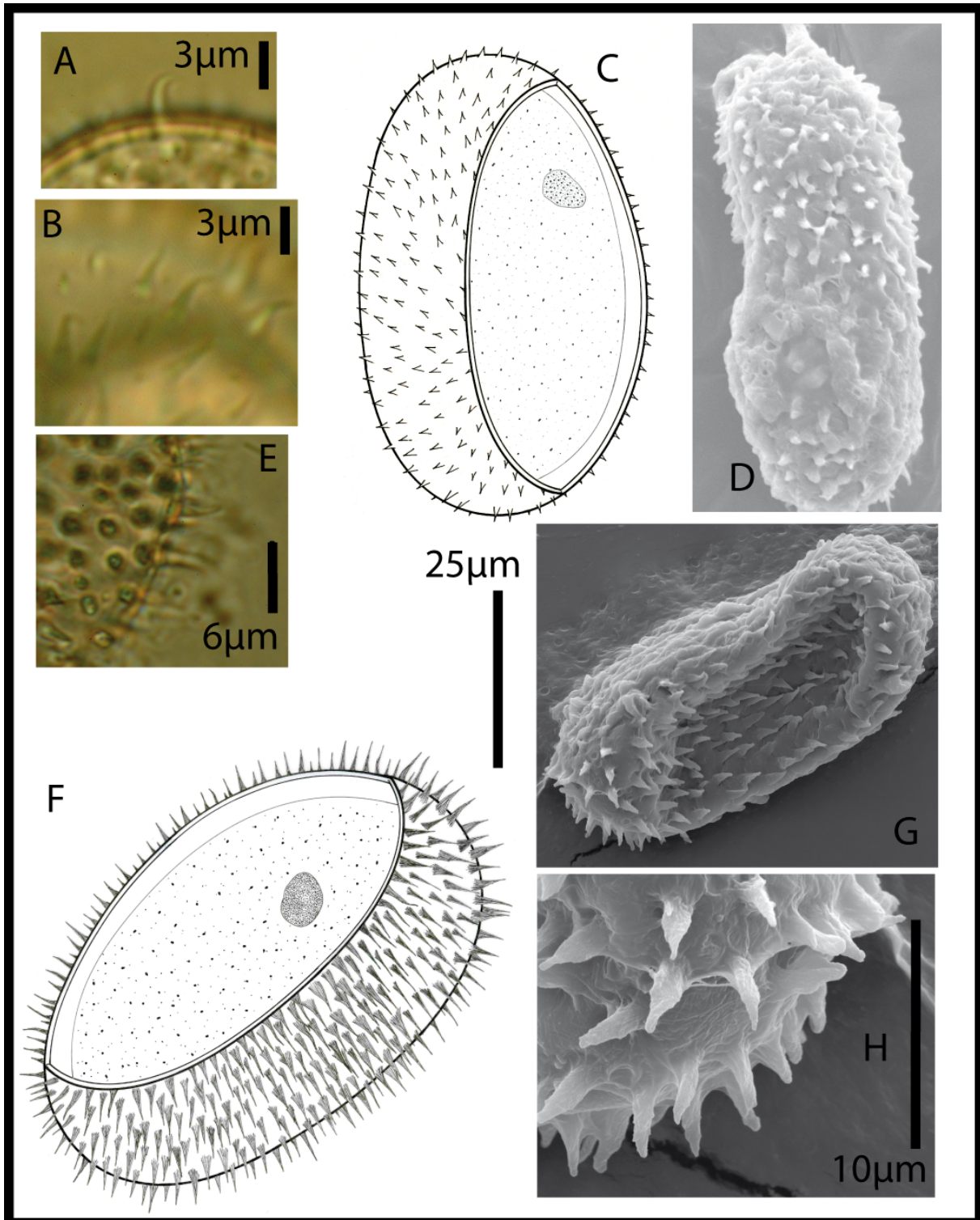


Abb. 2-4 Ei-Oberflächenstrukturen und frühestes gefundenes Zell-Stadium: A, B *Tylocephalus auriculatus*; C, D *Anaplectus granulatus*; E, F, G, H *Anaplectus* spec.

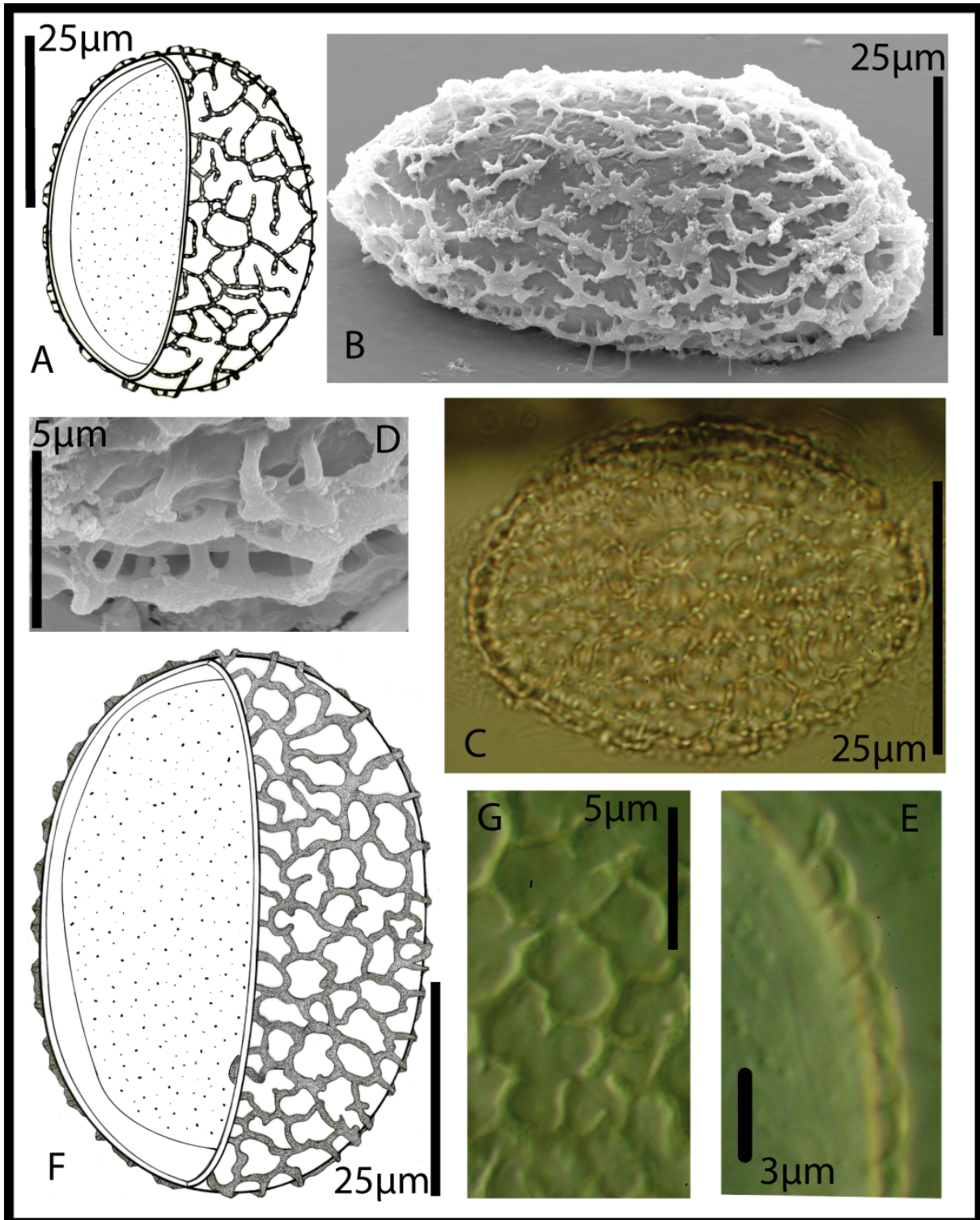


Abb. 2-5 Oberflächenstrukturen und frühestes gefundenes Zell-Stadium: A, B, C, D, E *Plectus acuminatus*; F, G *Plectus patagonicus*.

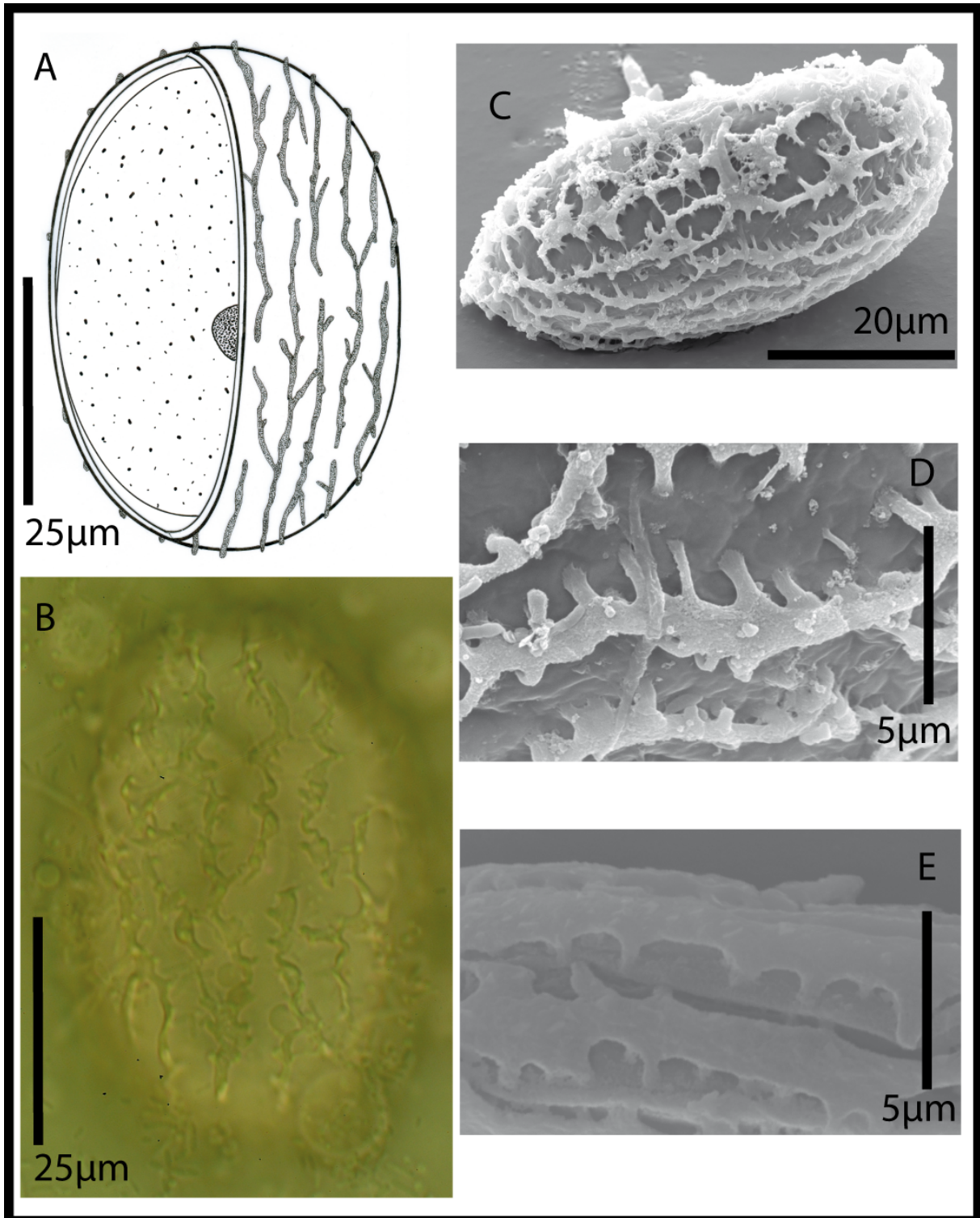


Abb. 2-6 Oberflächenstrukturen und frühestes gefundenes Zell-Stadium: A, B, C, D, E *Plectus cirratus*.

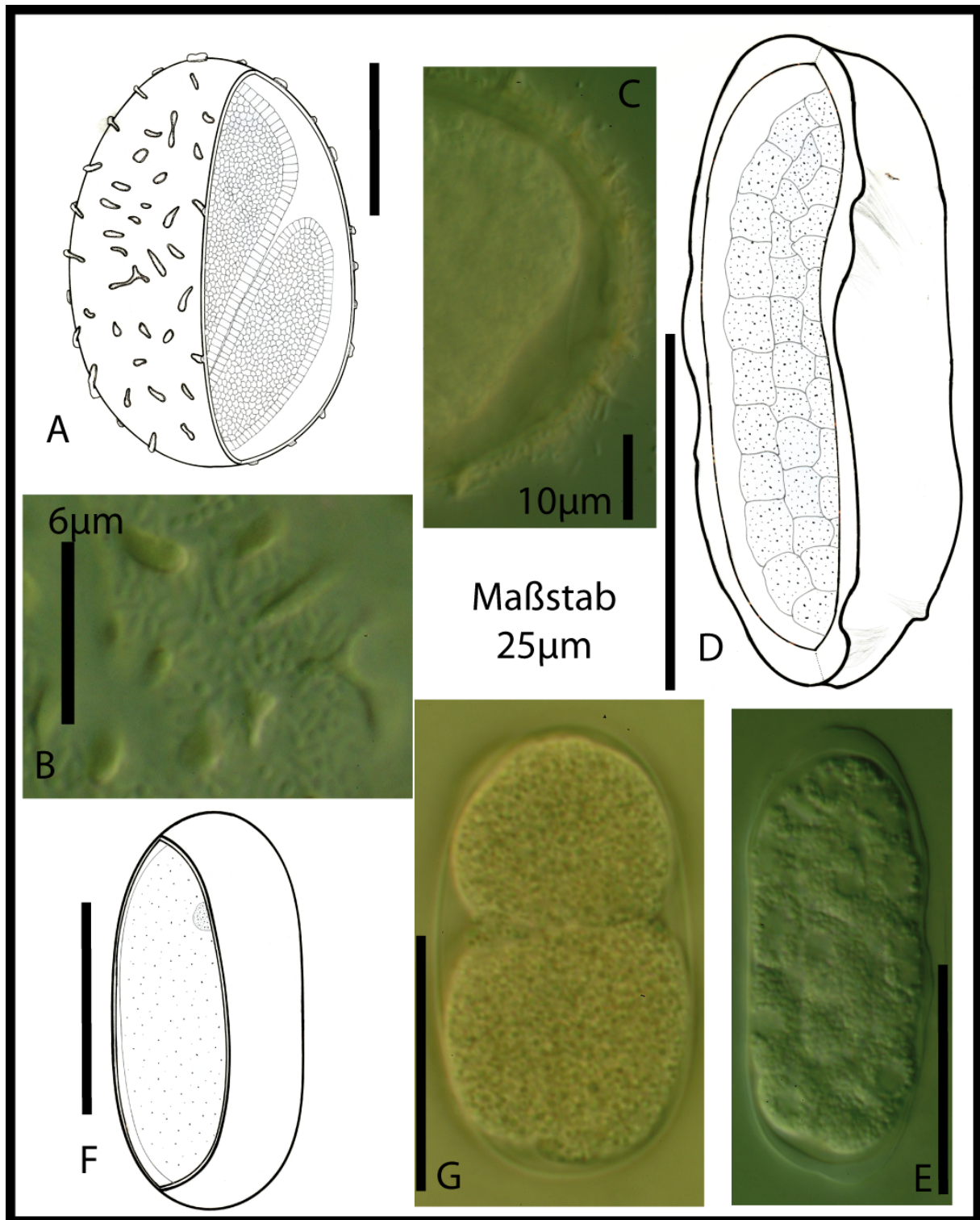


Abb. 2-7 Oberflächenstrukturen und frühestes gefundenes Zell-Stadium: A, B, C *Prionchulus spec.*; D, E *Teratocephalus lirellus*; F, G *Oscheius spec.*

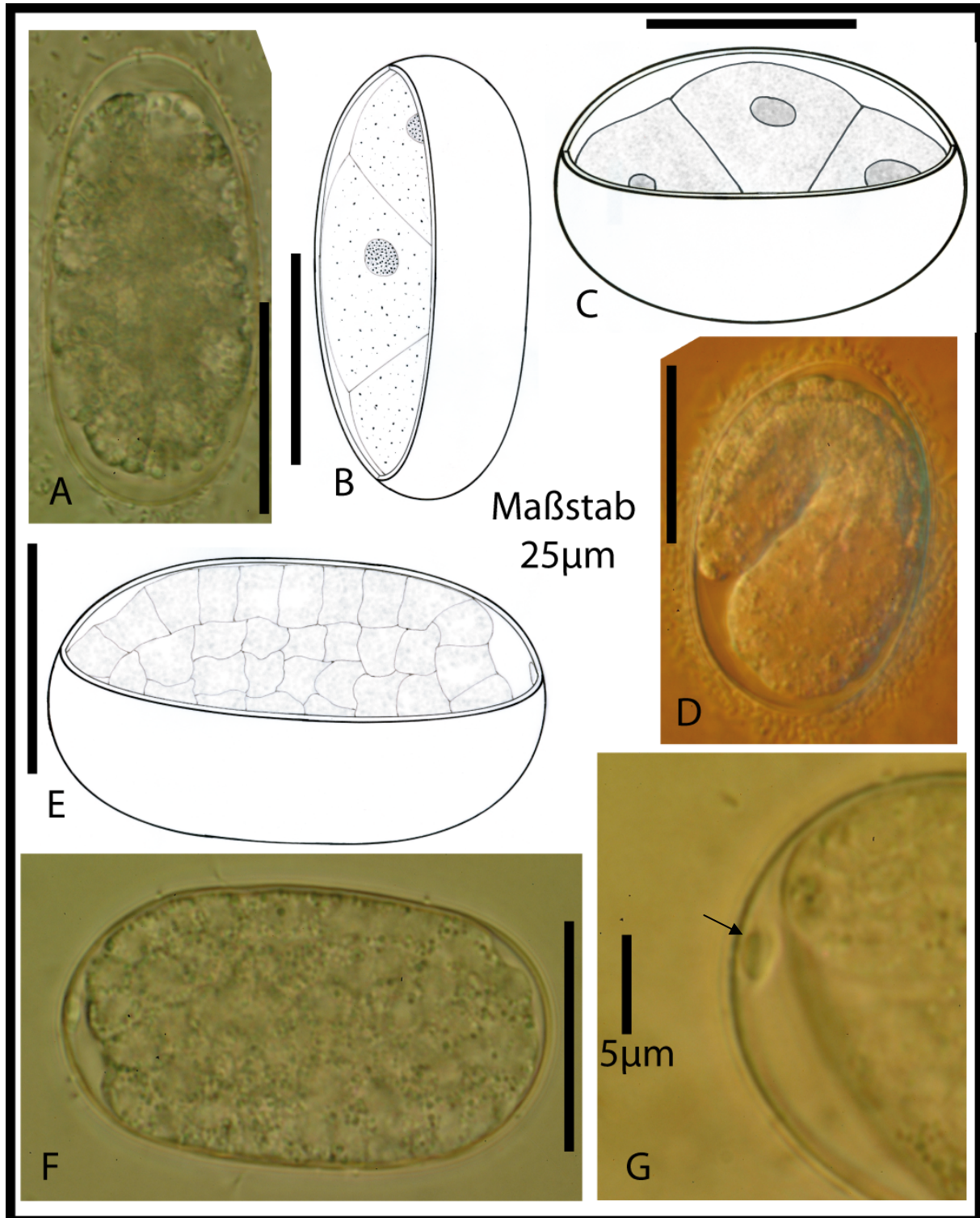


Abb. 2-8 Oberflächenstrukturen und frühestes gefundenes Zell-Stadium: A, B *Cephalobus* spec.; C, D: *Caenorhabditis elegans*; E, F, G *Cephaloboides* spec.; Pfeil Polzelle.

3 Juvenilstadienklassifizierung anhand der Mundhöhlenentwicklung

3.1 Einleitung

Das Erkennen der Juvenilstadien innerhalb der Plectiden zeigt ein sehr schwieriges und bis jetzt ungeklärtes Problem auf: Woran kann man erkennen, wie viele Stadien ein Individuum während seiner Entwicklung durchläuft und in welchem Stadium befindet es sich?

MALAKHOV (1994) postuliert für alle Nematoden eine Entwicklung über vier juvenile Stadien. Alle Entwicklungsstadien enden mit einer Häutung. Er weist aber auch darauf hin, dass das erste Entwicklungsstadium, manchmal auch das zweite, noch vor dem Schlupf im Ei stattgefunden haben kann.

Bei den Plectiden gibt es verschiedene Aussagen zur Anzahl der Juvenilstadien. Bei mehreren Arten z.B. *Plectus zelli*, *P. parietinus* oder *Anaplectus grandepapillatus* wurden vier Juvenilstadien beschrieben (TAHSEEN et al. 1992; HOLOVACHOV 2006). Es gibt aber auch Arten, bei denen nur drei Stadien beschrieben sind, wie bei *Plectus decens*, *P. communis*, *Tylocephalus auriculatus* oder *Ereptonema arcticum*, oder zumindest keine morphologischen Unterschiede zwischen den Stadien festzustellen sind (DE LEY & COOMANS 1997; HOLOVACHOV 2006). Eine Häutung im Ei wird allerdings ausgeschlossen, da das erste Juvenilstadium (J1) eindeutig erkennbar ist. Die Klappenapparate der verglichenen Arten besitzen im J1 noch nicht die endgültige rhabditis- oder parietinusartige Form, sondern bestehen bei allen Arten aus gezähnten Leisten (Abb. 3-5).

Untersuchungen der Größenentwicklung bei Nematoden zeigen, dass die Größenzunahme während eines Stadiums, selbst bei den adulten, kontinuierlich zunimmt. STURHAN (1963) zeigte an verschiedenen *Longidorus*-Arten und an *Xiphinema diversicaudatum*, dass die Körperlänge innerhalb jedes Stadiums zunimmt. Zu den gleichen Ergebnissen sind auch SOHLENIUS (1973) bei *Acrobeloides spec.* und KNIGHT et al. (2002) bei *Caenorhabditis elegans* gekommen. Bei *C. elegans* konnte aber auch gezeigt werden, dass eine Charakterisierung mit stark kutikularisierten Strukturen möglich ist, welche sich nur bei der Häutung ändern, wie z.B. die Mundhöhle.

Da die Bestimmung der Juvenilstadien nicht einfach ist, ist auch eine Zuordnung der entsprechenden Entwicklungsstadien der Gonaden meist nicht eindeutig.

3.2 Material und Methode

Zur Charakterisierung der Juvenilstadien wurde mit Individuen der Art *Plectus velox* Bastian, 1865 (RSB010) gearbeitet. Jedes Tier wurde auf einem Objektträger mit einer Agarschicht aus 5% Agar mikroskopiert. Individuen im ersten Juvenilstadium oder adulte Tiere wurden für diese Untersuchung aussortiert, bei den anderen Juvenilstadien (N=198) wurden die jeweilige Mundhöhle fotografiert und der Entwicklungszustand der Gonaden und der Vulva bestimmt. Tiere während der Häutung wurden gesondert gekennzeichnet.

Die mikroskopische Untersuchung wurde mit einem Zeiss Axioplan durchgeführt, die Bilder wurden mit einer Fujifilm FinePix S1 Pro aufgenommen.

Die Mundhöhle wurde an Hand der Bilder vermessen. Es wurden die Werte für die gesamte Mundhöhlenlänge und die Länge eines stark kutikularisierten Teilstücks ermittelt (Abb. 3-1). Die Messung erfolgte am Computer mit dem Programm Adobe Photoshop CS 8.0.1. Aus den ermittelten Werten wurden in Klassen (Klassengröße: $0,275\mu\text{m}$) gebildet.

Des Weiteren wurde, auf Grund der Entwicklungszustände der Gonaden und der Vulva, jedes Individuum ein Entwicklungsstadium zugeordnet. Die Entwicklungszustände der in Häutung befindlichen Individuen bildeten dafür die Grundlagen.

Die grafische und statistische Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel 2002 und dem Statistikprogramm R.

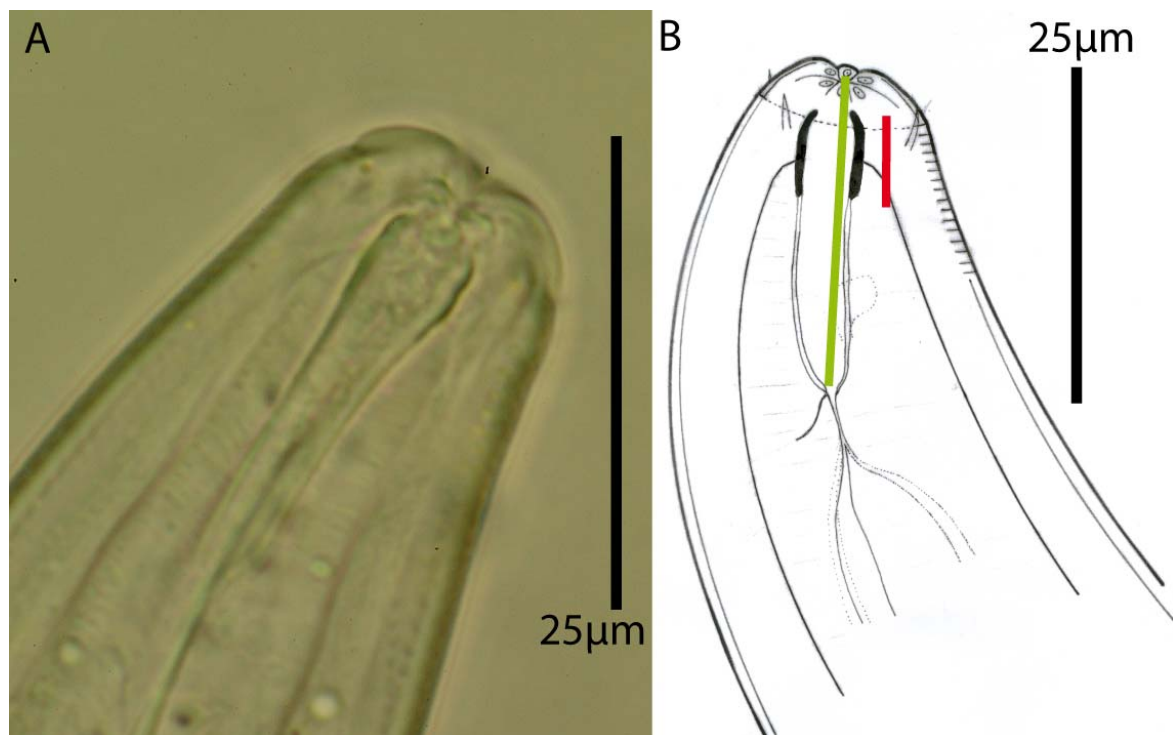


Abb. 3-1 Mundhöhle *Plectus velox* Grün: gesamte Mundhöhlenlänge; Rot: kutikularisiertes Mundhöhlenteilstück.

3.3 Ergebnis

3.3.1 Entwicklung

Es wurden acht Individuen gefunden, welche sich in Häutung befanden. Drei von ihnen wiesen ein Entwicklungsstadium der Gonaden auf, in welchem die Gonadenanlage eine 1-1,5fache Länge der entsprechenden Körperbreite aufwies. Der anteriore Bereich lag auf der rechten Seite des Darms, der posteriore Bereich auf der linken Seite (Abb. 3-2 A).

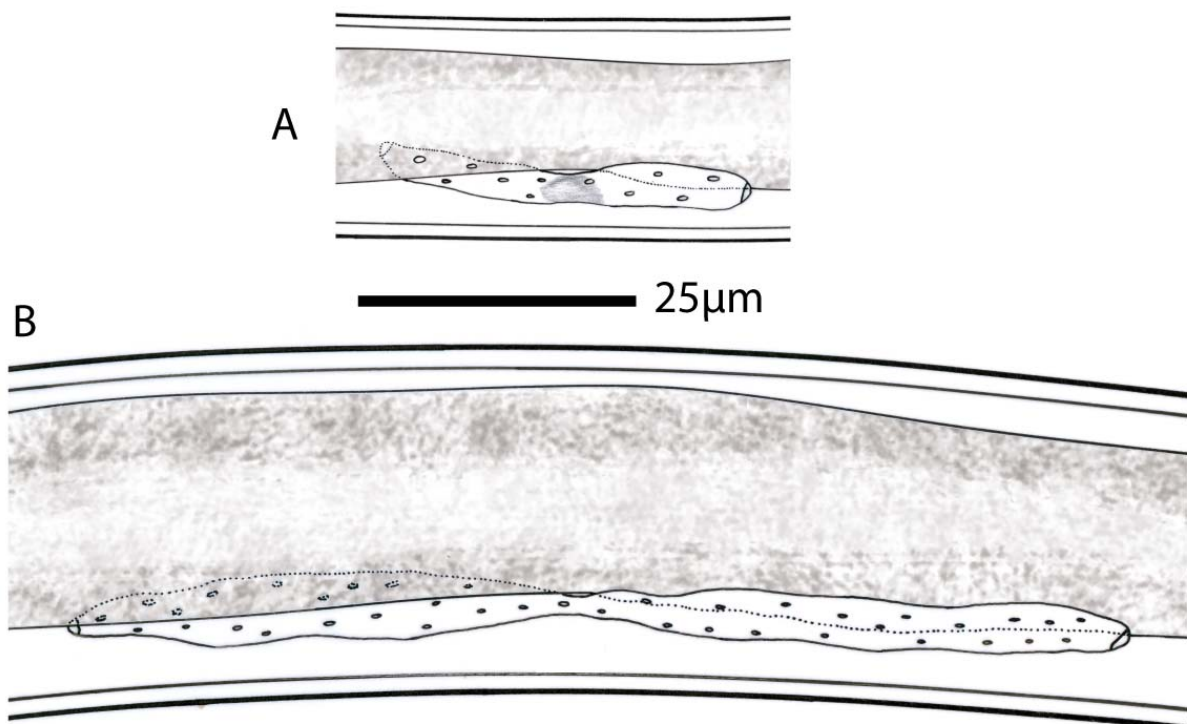


Abb. 3-2 *Plectus velox*: Stadium der Gonadenentwicklung zum Zeitpunkt der Häutung A: Häutungsstadium 1, Klassengrenze zwischen J2 und J3; B: Häutungsstadium 2, Klassengrenze zwischen J3 und J4; Lateralansicht, anterior ist links.

Fünf Individuen zeigten während der Häutung eine mehr als 3fach längere Gonadenanlage, im Vergleich zur Körperbreite. Das anteriore Ende lag rechts vom Darm, das posteriore links (Abb. 3-2 B). Des Weiteren konnte bei einem Individuum der Beginn der Vulvabildung festgestellt werden.

Auf Grund der unterschiedlichen Entwicklung während der Häutung wurden drei definierte und eine undefinierte Klasse gebildet. Die definierten Klassen wurden nach den Juvenilstadien 2 (J2), 3 (J3) und 4 (J4) benannt. Die undefinierte Klasse heißt n.a. und entspricht keiner der anderen Klassen:

J2: geringere Entwicklung als bei Häutungsstadium 1 (N=42)

- J3: Entwicklung zwischen beiden Häutungsstadien (N=63)
- J4: weiter entwickelt als bei Häutungsstadium 2 (N=56)
- n.a.: nicht eindeutig einer der anderen Klasse zuzuordnen (N=37)

3.3.2 Häufigkeitsverteilung

Eine Häufigkeitsauftragung der Klassen zeigt bei der gesamten Mundhöhle eine vielgipflige Verteilung (Abb. 3-3 A).

Die Häufigkeitsauftragung des Teilstückes der Mundhöhle (Abb. 3-4 B) weist eine dreigipflige Verteilung auf.

3.3.3 Häufigkeitsverteilung und Entwicklung

Die Häufigkeitsverteilung der gesamten Mundhöhlenlänge unter Berücksichtigung der Entwicklung (Abb. 3-3 A) zeigt eine deutliche Überschneidung der einzelnen Klassen. Eine Boxplot-Auftragung aller Klassen (Abb. 3-3 B) zeigt, ebenso wie ein t-Test-Vergleich (Tab. 3-1) der zugeordneten Stadien, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen dem J2- und J4-Stadium gibt. Bei den Kombinationen J2/J3 und J3/J4 kann keine Signifikanz festgestellt werden.

Bei dem Mundhöhlenteilstück weist die Häufigkeitsverteilung für die drei definierten Juvenilstadien eine verzerrte Normalverteilung auf. Die Gruppe n.a. ist über den gesamten Datenbereich verteilt (Abb. 3-4 B). Der Vergleich der Boxplots (Abb. 3-4 A) zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den definierten Juvenilstadien. Ein t-Test der entsprechenden Gruppen zeigt ebenfalls einen signifikanten Unterschied auf (Tab. 3-1).

Tab. 3-1 t-Test-Vergleich der verschiedenen Juvenilstadien gegeneinander; (*) signifikanter Unterschied.

	J2-J3	J2-J4	J3-J4
Ganze Mundhöhle	t = 7,1964	t = 15,4205 (*)	t = 8,641
Mundhöhlenteilstück	t = 21,1352 (*)	t = 37,644 (*)	t = 20,1968 (*)

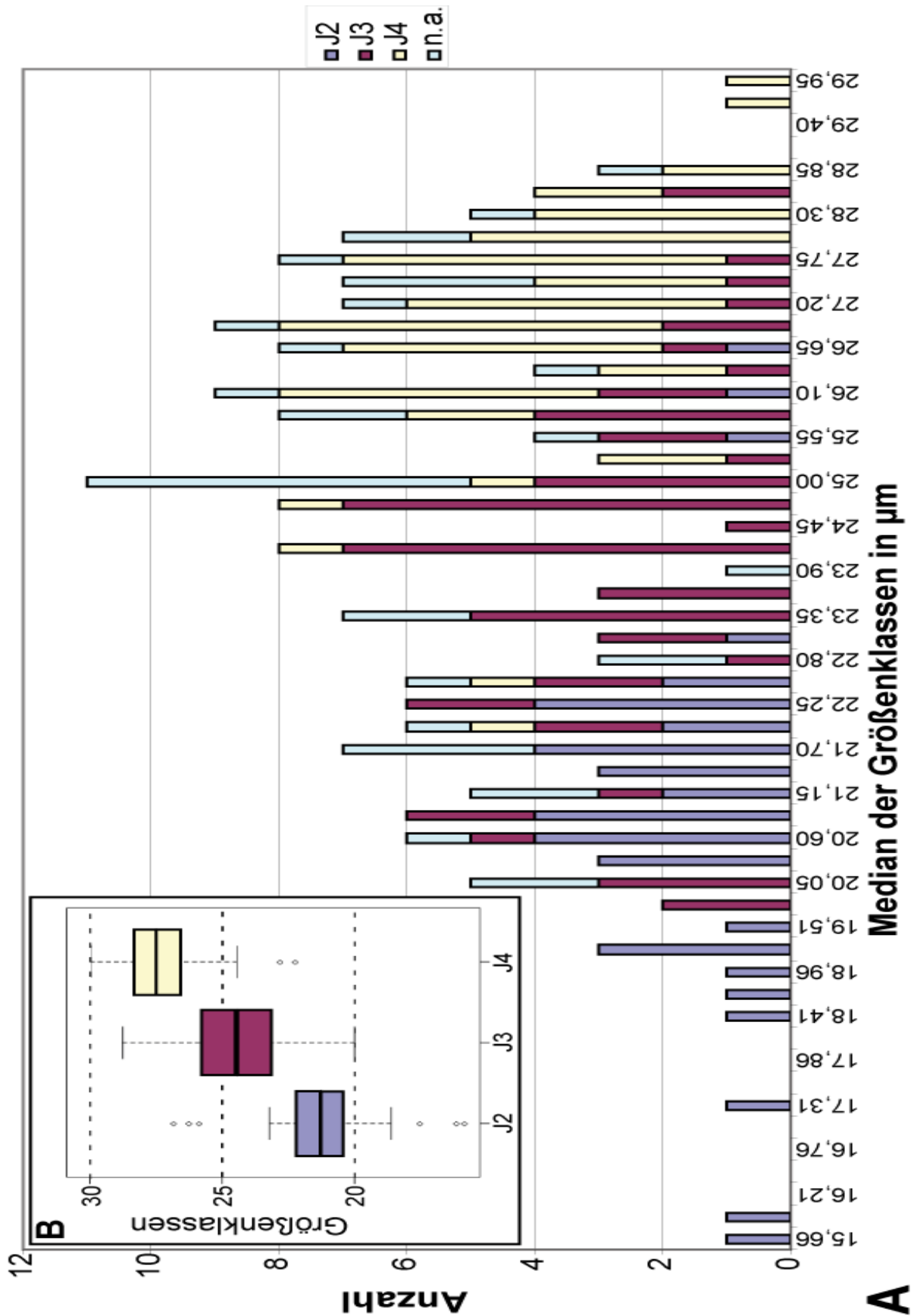


Abb. 3-3 Gesamte Mundhöhle A: Häufigkeitsverteilung bei Klassengröße $0,275\mu\text{m}$ ($N=198$) mit Zuordnung der Gonadenentwicklungsstadien; B: Box-Plot-Auftragung der Mundhöhlenlänge der unterschiedlichen Juvenilstadien.

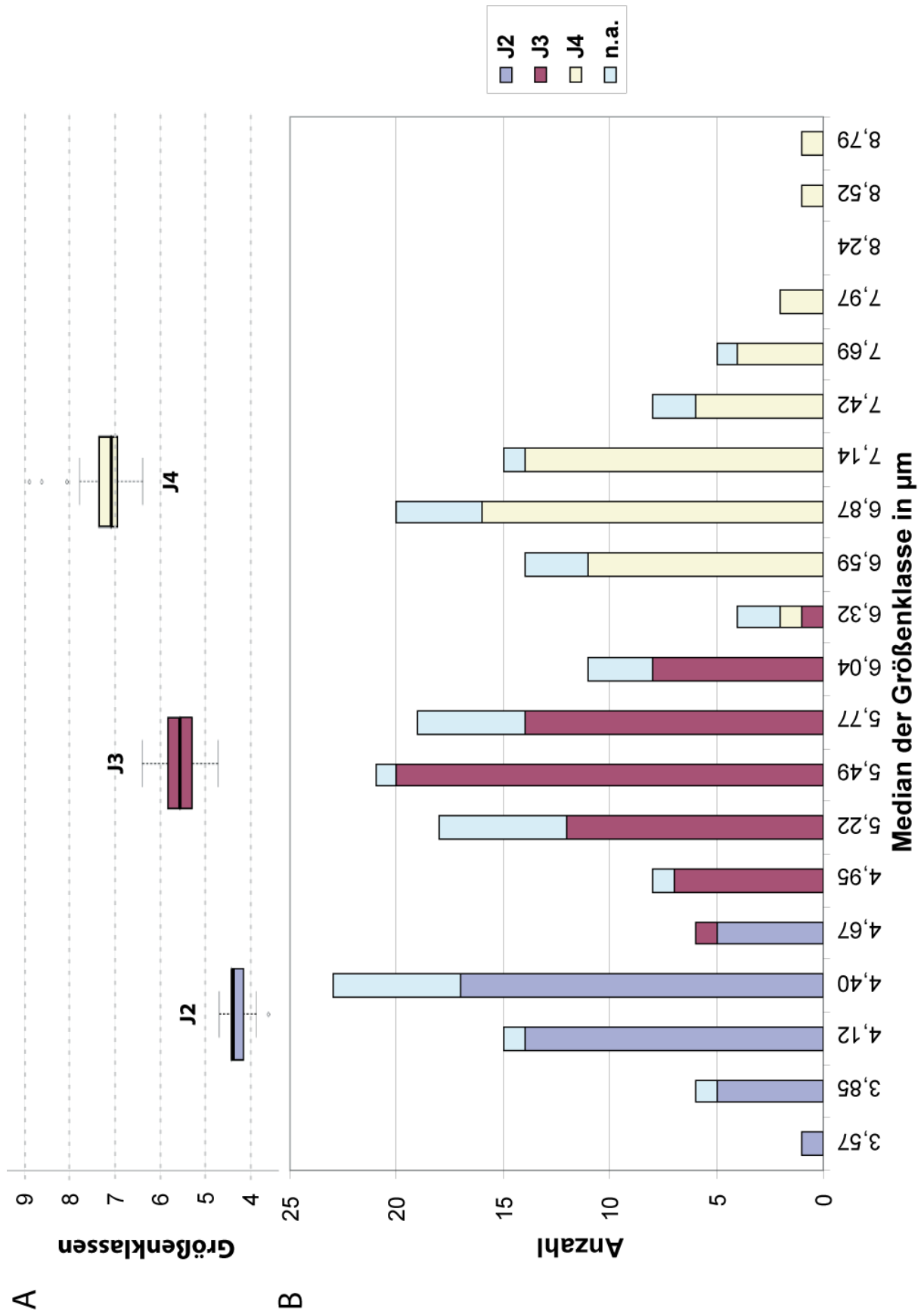


Abb. 3-4 Mundhöhlen-Teilstück: A: Box-Plot-Auftragung der Teilstücklänge der unterschiedlichen Juvenilstadien; B: Häufigkeitsverteilung bei Klassengröße 0,275µm (N=198) mit Zuordnung der Gonadenentwicklungsstadien.

3.4 Diskussion

Um Aussagen über Juvenilstadien zu machen, ist die Wahl eines geeigneten Charakteristikums ist der entscheidende Faktor. Ein Rückschluss auf Grund von Entwicklungsstadien ist nur dann möglich, wenn die gesamte Entwicklung bekannt ist, oder es Stadien gibt, welche immer eindeutig zugeordnet werden können und damit als Referenz dienen. Bei den Plectiden sind solche Referenzpunkte die Häutungen und die unterschiedlichen Klappenapparat-Typen. Neben der ersten Häutung, welche durch einen Änderung des Klappenapparat-Typus charakterisiert wird, wurden bei den untersuchten Juvenilen zwei unterschiedliche Häutungsstadien gefunden. Es gibt mindestens drei weitere Juvenilstadien.

Die Auswertung der grafischen Auftragung des stark kutikularisierten Teilstücks der Mundhöhle weist drei Maxima auf, welche ebenfalls auf drei zusätzliche Juvenilstadien hin deuten.

Eine kombinierte Darstellung der Entwicklungsstadien und der Häufigkeitsverteilung des Teilstücks zeigt, dass jedes Maximum mit einem Entwicklungsstadium übereinstimmt. Die Kombination weist immer eine leicht verzerrte Gauß-Verteilung auf. Die statistische Auswertung hat gezeigt, dass es sich um signifikant unterschiedliche Gruppen handelt. Es ergibt sich, dass es sich bei den untersuchten Stadien eindeutig um drei juvenile Stadien handelt.

Eine Auswertung der Mundhöhlenlänge, mit und ohne Bezug zum Entwicklungsstand der Gonaden, zeigt, dass es bei *Plectus velox* nicht möglich ist, mit diesem Maß eine Aussage über die Anzahl der Juvenilstadien zu treffen, da die Länge der Mundhöhle nicht mit den Häutungen korrelierbar ist. Was die Ursache dafür sein könnte, ist nicht bekannt. Eine Vermutung wäre eine „flexible“ Mundhöhlenlänge, bei welcher die Mundhöhle oder ein Teil von ihr auch zwischen den Häutungen wachsen könnte, wie z.B. die Lippen.

In diesem Fall zeigt es sich, dass sowohl mit der grafisch-statistischen Auswertung des Teilstückes, der entwicklungsbiologischen und der Kombination aus beiden Methoden immer drei Stadien ermittelt werden. Diese ergeben durch den leistenartigen Klappenapparat-Typus definierte erste Stadium, insgesamt vier Juvenilstadien (Abb. 3-5).

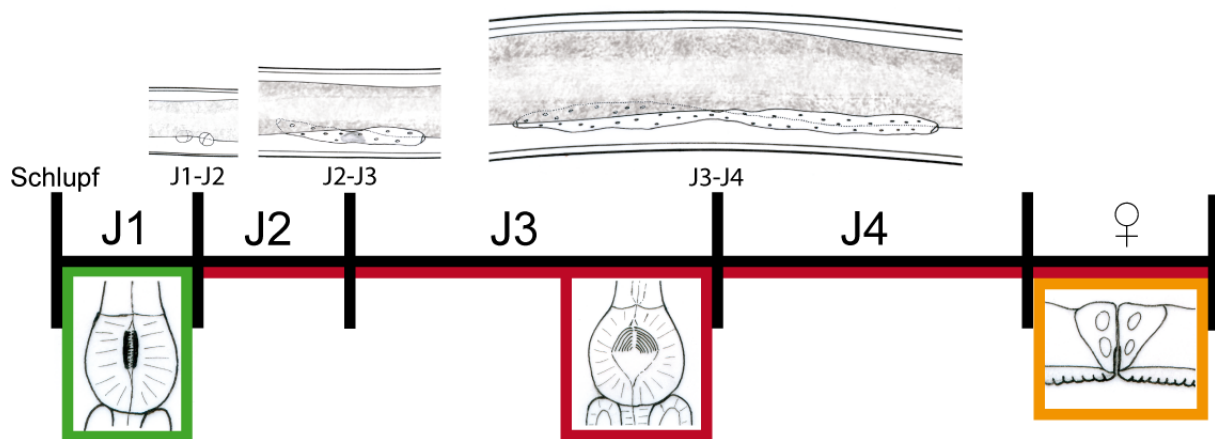


Abb. 3-5 Merkmale der Entwicklungsstadien: oben: Entwicklungsstand der Gonadenanlagen während der Häutung; unten: grün: leistenartiger Klappenapparat; rot: parietinusartiger Klappenapparat; gelb: Vulva.

Dieses Ergebnis unterstützt auch die allgemeine Aussage von MALAKHOV (1994), dass die Entwicklung über vier Stadien abläuft. Aber auch die Aussage von HOLOVACHOV (2006) über nur drei morphologisch unterscheidbare Stadien konnte „bestätigt“ werden, da die morphologischen Unterschiede zwischen J2 und J3 nur gering sind und ohne ein vorliegendes Häutungsstadium nur extrem schwer zu unterscheiden sind.

4 Gonadenentwicklung

4.1 Einführung

Die Entwicklung der Gonaden ist bei Nematoden kein einheitlicher Prozess. Es sind zwei unterschiedliche Entwicklungswege bekannt, welche sich deutlich in ihrem Beginn unterscheiden.

Einer der Entwicklungswege beginnt mit einer Gonadenanlage (Primordium), welche aus insgesamt vier Zellen (Z1-Z4) besteht. Die Zellen sind in einer Reihe nebeneinander angeordnet. Die Zellen Z2 und Z3 bilden die Zellen der Keimbahn, die Zellen Z1 und Z4 die somatischen Bereiche der Gonade. Dieses Stadium des Primordiums findet sich bei Tieren im ersten Juvenilstadium. In den beiden nachfolgenden Stadien wachsen die Gonadenanlagen kontinuierlich. Im späten dritten oder frühen vierten Juvenilstadium schlägt die Spitze jedes Gonadenastes um. Bis zur vollständig entwickelten Gonade findet noch ein Größenwachstum statt, und die einzelnen Abschnitte der Gonade wie z.B. das Ovar differenzieren sich heraus.

Diese Entwicklung findet so, vereinfacht dargestellt, bei *Caenorhabditis elegans* statt (KIMBLE & WARD 1988; SCHEDL 1997). Bei Arten mit nur drei Juvenilstadien nach dem Schlupf, wie *Pristionchus pacificus*, oder Arten mit nur einem Gonadenast, wie *Teratorhabditis andrassyi*, oder Arten mit gestreckter Gonade, wie *Tylenchorhynchus claytoni*, unterscheiden sich die zeitlichen und entsprechenden morphologischen Abläufe voneinander (WANG 1971; FÉLIX et al. 1999; TAHSEEN & JAIRAJPURI 2005), der Grundzustand mit einem aus vier Zellen bestehendem Primordium ist allerdings bei all diesen secernenten Nematoden der gleiche, es gibt auch keine Hinweise auf ein anderes Entwicklungsmuster innerhalb der monophyletischen Secernentea.

Die Gonadenentwicklung im anderen Fall beginnt mit zwei ovalen Primordien, welche jeweils aus zwei Zellen bestehen. Das anteriore Primordium befindet sich rechts vom Darm, das posteriore links. Zwischen beiden Primordien bildet sich eine schlauchartige Verbindung. Im weiteren Verlauf wachsen beide Primordien zuerst aufeinander zu und verschmelzen ventral vom Darm. Beide Seiten der verschmolzenen Primordien wachsen anschließend kontinuierlich weiter, bis sie im letzten Juvenilstadium umschlagen und wieder auf einander zuwachsen. In diesem Stadium beginnt auch die Bildung der Vulva. Am Ende des letzten Stadiums beginnt die Ausdifferenzierung der Gonade.

Dieses Entwicklungsmuster aus zwei getrennten Primordien findet sich bei *Miconchus struderi*, *Anatonchus amiciae* und *Parahadronchus shakili*, welche alle zu den Mononchida gehören (COOMANS & LIMA 1965; AHMAD & JAIRAJPURI 1982; KHAN & COOMANS 1980). Bei

den Plectida entwickelt sich die Gonade von *Plectus zelli*, *Plectus decens*, *Plectus communis* und *Anaplectus grandepapillatus* ebenfalls aus zwei getrennten Primordien (TAHSEEN et al. 1992; HOLOVACHOV 2006). Die Gonadenbildung gleicht sich in der morphologischen Entwicklung, weist aber einen zeitlichen Unterschied auf. Die schlauchförmige Verbindung tritt z.B. bei den Mononchida schon im ersten Juvenilstadium auf, während sie bei *Anaplectus* frühestens im späten zweiten Stadium gebildet wird. Bei *Plectus* ist diese Verbindung nicht explizit dokumentiert. Die weitere Entwicklung entspricht sich in ihrem Ablauf.

4.2 Material und Methode

Für die Bestimmung der Gonadenentwicklung wurden unterschiedliche Juvenilstadien der Arten *Plectus cirratus* (RSB005), *Plectus acuminatus* (RSB007), *Plectus aquatilis* (RSB008), *Plectus velox* (RSB010), *Plectus minimus* (RSB020) und *Plectus spec.* (RSB003) untersucht.

Juvenile Individuen jeder Art wurden lebend auf einem Objektträger mit einer Agrar-Schicht aus 5%igen Agar mikroskopiert und der Entwicklungszustand der Gonaden und der Vulva bestimmt, Tiere während der Häutung wurden gesondert gekennzeichnet.

Die mikroskopische Untersuchung wurde mit einem Zeiss Axioplan durchgeführt. Zeichnungen wurden mit einem Zeichenspiegel erstellt.

Eine Einordnung der Stadien erfolgte gemäß dem Klappenapparat und den gefundenen Häutungsstadien. Individuen mit einer Vulvaanlage wurden dem vierten Juvenilstadium zugeordnet.

4.3 Ergebnis

Plectus cirratus (RSB005)

Am ersten Tag nach dem Schlupf besteht die Gonadenanlage aus zwei getrennten Primordien. Jedes Primordium besteht aus zwei Zellen, das anteriore liegt rechts vom Darm, das posteriore links (Abb. 4-2 A). Diese Orientierung tritt bei allen folgenden Stadien ebenfalls auf. Am fünften Tag, das Individuum befindet sich im J1-Stadium, weist die Gonadenanlage immer noch zwei Primordien auf. Jedes Primordium besteht aus zwei Zellen und besitzt die gleiche Orientierung wie am ersten Tag, allerdings haben die Zellen an Volumen zugelegt (Abb. 4-2 B). Am siebten Tag befindet sich das Individuum im zweiten Juvenilstadium, die Primordien sind immer noch getrennt, allerdings hat die Anzahl der Zellen jedes Primordiums zugenommen (Abb. 4-2 C). Am achten Tag zeigt sich beim anterioren Primordium eine schlauchartige Ausstülpung, welche unter dem Darm eine posteriore Orientierung aufweist (Abb. 4-2 D). Am neunten Tag zeigt sich eine geschlossene schlauchartige Verbindung zwischen beiden Primordien (Abb. 4-2 E).

Die bis jetzt beschriebenen Stadien wurden alle an der Entwicklung eines Individuums beobachtet. Die nachfolgenden Stadien wurden an verschiedenen Individuen bestimmt, deshalb gibt es keine zeitlichen Angaben.

Beim nächsten Stadium, es handelt sich um eine Häutung von J2 nach J3, sind die beiden Anlagen aufeinander zugewachsen. Ob sie miteinander verwachsen sind oder sich nur überlappen, konnte nicht geklärt werden (Abb. 4-2 F). Das nächste gefundene Stadium zeigt eine verwachsene Gonadenanlage (Abb. 4-2 G, H) und wird ebenfalls dem dritten Juvenilstadium zugerechnet.

Einige Stunden nach der Häutung von J3 zu J4 sind beide Gonadenäste gerade ausgestreckt, des Weiteren erkennt man schon eine Vulvaanlage, welche aus drei Zellen besteht (Abb. 4-3 A). Im folgenden Stadium besitzen beiden Gonadenäste jeweils einen Umschlag, welcher ca. $\frac{1}{4}$ der Gesamtlänge des Astes ausmacht, und die Vulvaanlage besteht aus fünf Zellen (Abb. 4-3 B). Bei der am weitesten entwickelten Gonade bei einem juvenilen Individuum entspricht der Umschlag etwa $\frac{2}{5}$ der Gesamtlänge, die Vulvaanlage besteht aus neun Zellen (Abb. 4-3 C).

Bei den vollständig entwickelten Gonaden besitzt jeder Gonadenast einen Umschlag. Der Umschlag entspricht in seiner Länge ca. $\frac{2}{5}$ der Gesamtlänge und bildet das Ovar. Der restliche Teil der Gonade bildet den Uterus. Der Uterus weist kurz vor der Vulva einen

sekretreichen Abschnitt auf. Die Vulva zeigt zwei ringartige Strukturen (Abb. 4-3 D), welche auch als „vaginal sphincter“ bezeichnet werden (HOLOVACHOV 2006).

Plectus acuminatus (RSB007)

Bei der Art *Plectus acuminatus* beginnt die Entwicklung der Gonade mit zwei getrennten Primordien. Jedes Primordium besteht im J1-Stadium aus zwei Zellen (Abb. 4-4 A). Das J2-Stadium hat anfangs noch zwei getrennten Primordien (Abb. 4-4 B), welche zu einem späteren Zeitpunkt durch eine schlauchartige Struktur verbunden werden (Abb. 4-4 C). Zu Beginn der Häutung zum J3-Stadium, gekennzeichnet durch eine abgelöste Kutikula an den Lippen, sind die Primordien aufeinander zugewachsen, aber anscheinend noch nicht verschmolzen (Abb. 4-4 D). Bei Juvenilen im dritten Stadium sind die Primordien miteinander verschmolzen, und es lässt sich eine Größenzunahme feststellen (Abb. 4-4 E, F). Ein Entwicklungszustand der Gonade während der Häutung zum letzten Stadium konnte nicht dokumentiert werden. Im letzten Stadium weisen die Gonadenäste jeweils einen Umschlag auf, welcher ca. 1/3 der Gesamtlänge ausmacht (Abb. 4-4 G). Die Vulvaanlage besteht bei diesem Stadium aus fünf Zellen.

Die Gonade im adulten Tier weist die antidrom umgeschlagenen Gonadenabschnitte auf, welche das Ovar bilden. Der Uterus ist fast auf der gesamten Länge reich an Falten und kleinen Ausstülpungen. Die Vulva besitzt zwei ringartige Strukturen (Abb. 4-4 H).

Plectus aquatilis (RSB008)

Die Gonadenentwicklung bei dieser Art beginnt mit zwei getrennten Primordien (Abb. 4-5 A), welche sich auch im J2 Stadium wieder finden lassen (Abb. 4-5 B). In der Entwicklung bis zum J4-Stadium wachsen die Anlagen zusammen (Abb. 4-5 C), und es findet eine Größenzunahme statt (Abb. 4-5 D). Im letzten Stadium besitzen die Gonadenäste schon ihren Umschlag, welcher 1/3 der Gesamtlänge ausmacht. Des Weiteren existieren fünf Zellen der Vulvaanlage mit einer Verbindung zur Kutikula (Abb. 4-5 E). Im nächsten Entwicklungsschritt findet ein Größenzuwachs der Gonadenäste statt und die Vulvaanlage weist neun Zellen auf.

Die adulte Gonade besitzt zwei antidrom umgeschlagene Gonadenäste. Im Umschlag befindet sich das Ovar, im gestreckten Abschnitt der Uterus, welcher einen faltenreichen Abschnitt aufweist. Die Vulva besitzt zwei ringförmige Strukturen (Abb. 4-5 F).

Plectus velox (RSB010)

Die Bildung der Gonade beginnt aus zwei getrennten Anlagen, welche sowohl im J1 (Abb. 4-6 A), als auch J2 Stadium (Abb. 4-6 B) zu finden sind. Im späteren J2 Stadium bildet sich eine schlauchartige Verbindung zwischen beiden Primordien (Abb. 4-6 C). Die verwachsenen Anlagen im gleichen Stadium weisen eine Länge vom 1-1,5fachen der korrespondierenden Körperbreite auf (Abb. 4-6 D). Bei der Häutung zum J3 Stadium besitzt die Gonadenanlage eine 1,5-2fache Länge der entsprechenden Körperbreite (Abb. 4-1 E). Im Verlauf dieses Stadiums nimmt die Gonade an Länge zu (Abb. 4-6 F). Bei der Häutung zum vierten Juvenilstadium besitzt die Gonade die ca. dreifache Länge der Körperbreite (Abb. 4-7 A). Es wurden mehrere Individuen (N=6) gefunden, die sich in Häutung befanden. Alle besaßen ungefähr die gleiche Gonadenlänge. Ein Tier unterschied sich aber insofern, als es schon drei Zellen der Vulvaanlage aufwies. Die Häutung definierte sich in diesem Fall über die abgestreifte Kutikula am Schwanz. Bei zwei anderen Tieren trat diese erst zwei bzw. vier Tage später auf (Abb. 4-7 B). Der nächste erkennbare Unterschied ist das Umklappen der Gonadenäste und die 5-zellige Vulvaanlage (Abb. 4-7 C).

Bei der vollständig entwickelten Gonade ist in jedem Umschlag ein Ovar untergebracht, welches etwas weniger als die Hälfte der Gesamtlänge ausmacht. Der Uterus besteht aus einem Bereich mit einer sehr faltigen Oberfläche, gefolgt von einem sehr sekretreichen Abschnitt. Die Vulva ist durch zwei Ringstrukturen gekennzeichnet (Abb. 4-7 D).

Plectus minimus (RSB020)

Die Gonadenentwicklung bei *Plectus minimus* beginnt im J1 Stadium mit einem 4-zelligen Primordium (Abb. 4-8 A). Das über die Änderung des Klappenapparates definierte nachfolgende Stadium zeigt ebenfalls ein einziges Primordium, welches aus vier Zellen besteht (Abb. 4-8 B). In einem weiter entwickelten Stadium zeigt sich eine Verlängerung des Primordiums (Abb. 4-8 C). Die Länge der Gonadenanlage entspricht dem 1-1,5fachen der entsprechenden Körperbreite. Im nächsten Stadium ist die Gonadenanlage dreimal so lang wie die korrespondierende Körperbreite. Die Gonadenäste sind vollständig ausgestreckt. Es sind außerdem fünf auffällige Zellen zu erkennen, welche sich ventral von der Mitte der Gonadenanlage befinden (Abb. 4-8 D). Die adulte Gonade (Abb. 4-8 E) besitzt zwei antidrom umgeschlagene Gonadenäste. Die Gonadenspitze besteht aus der Distal Tip Zelle, gefolgt vom Ovar, welches sich bis zum Umschlag erstreckt, nach dem Umschlag geht es in den Uterus über. Vor der Vulva befindet sich ein sekretreicher Abschnitt. Die Vulva weist eine Ringstruktur auf.

Plectus spec. (RSB003)

Bei diese Art beginnt die Gonadenentwicklung mit einem 4-zelligen Primordium (Abb. 4-9 A), welches auch noch im zweiten Juvenilstadium zu finden ist (Abb. 4-9 B). In der weiteren Entwicklung findet eine Größenzunahme statt (Abb. 4-9 C), welche darin resultiert, dass sich an den Spitzen jedes Gonadenastes ein Umschlag bildet (Abb. 4-9 D). Bei der vollständig entwickelten Gonade ist das Ovar nahezu genauso lang wie der Uterus. Die Vulva besitzt eine ringförmige Struktur (Abb. 4-9 E).

Bei den folgenden Arten wurde nicht die gesamte Gonadenentwicklung verfolgt, aber die Zustände der Gonadenanlagen im J1 Stadium ermittelt. Bei *Plectus* spec. (RSB017), *Plectus patagonicus* (RSB014), *Plectus australis* (RSB006), *Anaplectus* spec. (RSB004) und *Prionchulus* spec. (RSB026) besteht die Anlage stets aus zwei getrennten Primordien, bei *Plectus parvus* (RSB012) aus nur einem Primordium.

4.4 Diskussion

Es konnten zwei unterschiedliche Wege der Gonadenentwicklung innerhalb der Plectidae festgestellt werden, welche sich in ihrem Anfangsstadium unterscheiden. Die Entwicklung über zwei 2-zellige Primordien ist für die Gruppe schon bekannt gewesen und entspricht auch der Entwicklung anderer adenophorer Nematoden, zu denen die Plectida ebenfalls gestellt werden. Die Bildung der Gonaden ist ein so komplexer Vorgang und bei den Plectida und den Mononchida so ähnlich, dass ein homologer Ursprung angenommen werden kann.

Die Bildung der Gonade aus einem 4-zelligen Primordium ist bis jetzt nur von secernenten Nematoden bekannt. Ihr Ablauf entspricht genau dem, der bei *Plectus minimus* und *Plectus* spec. (RSB003) beobachtet werden konnte, so dass sicherlich ein homologer Ursprung angenommen werden kann, vor allem da nach mit Moleküldaten erstellten Stammbäumen (BLAXTER et al. (1998); HOLTERMAN et al. 2006) die Plectidae eine nahe Verwandtschaft mit den Secernentea aufweisen.

Die unterschiedlichen Entwicklungen lassen die Frage nach den verwandtschaftlichen Beziehungen der Arten innerhalb der Plectidae aufkommen. Die zwei in ihrer Gonadenentwicklung verschiedenen Plectiden-Gruppen unterscheiden sich zusätzlich in der Ausprägung ihres Klappenapparates. Die eine Gruppe besitzt einen parietinusartigen Klappenapparat, die andere einen rhabditisartigen. Die beiden Arten mit nur einer Gonadenanlage zeichnen sich durch einen rhabditisartigen Klappenapparat aus, während alle

anderen einen parietinusartigen besitzen. Nach Literaturdaten besitzt *Plectus zelli* Tahseen, Ahmad & Jairajpuri, 1992 und *Plectus communis* Bütschli, 1873 ebenfalls sowohl zwei Primordien als auch einen parietinusartigen Klappenapparat besitzen. Auch bei der von HOLOVACHOV (2006) als *Plectus decens* Andrassy, 1985 bezeichneten Art gibt es nach diesem Autor zwei Primordien und parietinusartige Klappen, [ZELL (1993) synonymisiert ihn allerdings mit *Plectus turricaudatus* Truskova, 1976, einer Art mit rhabditisartigem Klappenapparat.]

Bei *Anaplectus grandepapillatus* (Ditlevsen, 1928) entwickelt sich die Gonade ebenfalls aus zwei primordialen Anlagen (HOLOVACHOV 2006) und der Klappenapparat ist parietinusartig. Daten zur Gonadenentwicklung bei Plectiden mit rhabditisartigem Klappenapparat sind in der Literatur nicht zu finden.

Es existieren also zwei Gruppen innerhalb der Gattung *Plectus*, welche sich durch zwei komplexe Merkmale voneinander unterscheiden, wobei die eine Gruppe diese beiden Merkmale (unpaares Primordium, rhabditisartigem Klappenapparat) mit den Secernentea teilen. Allerdings gibt es auch ein Merkmal während der Entwicklung, welches bei den secernenten Nematoden nicht auftritt, aber alle untersuchten *Plectus*-Arten besitzen. Im J1 Stadium besteht der Klappenapparat aus länglichen bezahnten Platten. Erst nach der Häutung zum J2 ist der eigentliche Typus, rhabditis- oder parietinusartig, zu erkennen. Bei den Secernentea besitzen schon J1 Entwicklungsstadien den rhabditisartigen Klappenapparat.

Diese Merkmale sind in dem unten abgebildeten Stammbaum (Abb. 4-1) eingetragen, dessen Lesrichtung wurde nach auf Molekülen basierenden Daten erstellten Bäumen von BLAXTER et al. (1998) und HOLTERMAN et al. (2006) entschieden. In den betreffenden Bäumen sind die Plectidae eine monophyletische Gruppe. Bei BLAXTER (1998) sind dieses *Plectus acuminatus* und *Plectus aquatilis*, welche auch im eigenen Baum eine monophyletische Gruppe bilden (Abb. 4-1). Bei HOLTERMAN (2006 + persönliche Kommunikation) umfasst die monophyletische Gruppe Arten mit parietinusartigen Klappen wie *Plectus aquatilis* und *Plectus acuminatus*, aber auch Arten mit rhabditisartigem Klappenapparat wie *Plectus* cf. *parvus*, *Plectus armatus* und *Plectus* cf. *pusillus*. Im eigenen Stammbaum ergibt sich bei diesen Merkmalen eine paraphyletische Beziehung (Abb. 4-1). Überlegungen in diese Richtung postulierte auch FÜRST VON LIEVEN (2003) anhand von Merkmalen der Pharynxanatomie inklusive des Klappenapparates.

Eine ausführlichere phylogenetische Analyse erfolgt in Kapitel 8

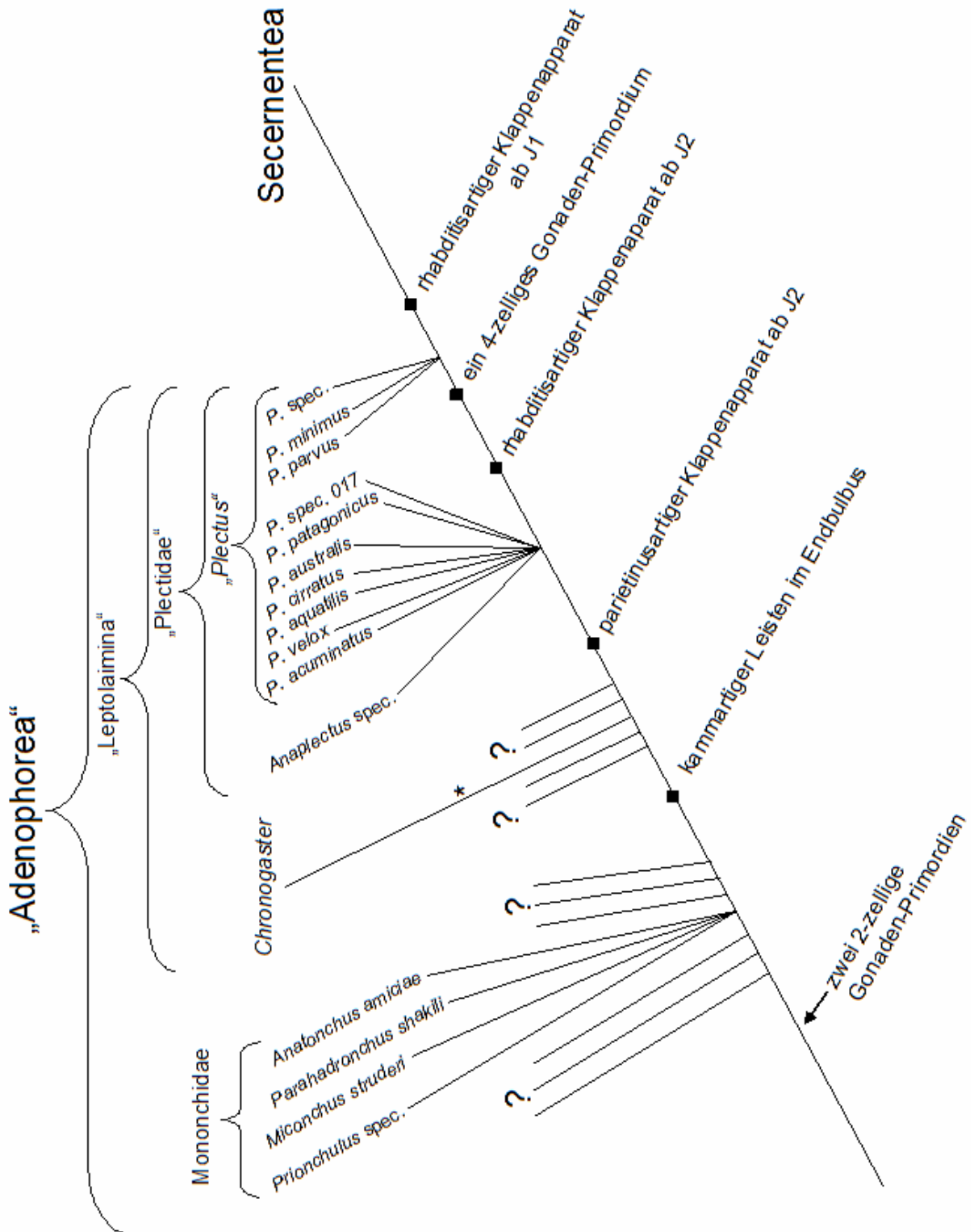


Abb. 4-1 Mögliche phylogenetische Stellung der „Plectidae“ anhand der Gonadenentwicklung und des Klappenapparates ■ Apomorphien; ? nicht benannte Vertreter der „Adenophorea“; * Gonadenanlage nicht geklärt.

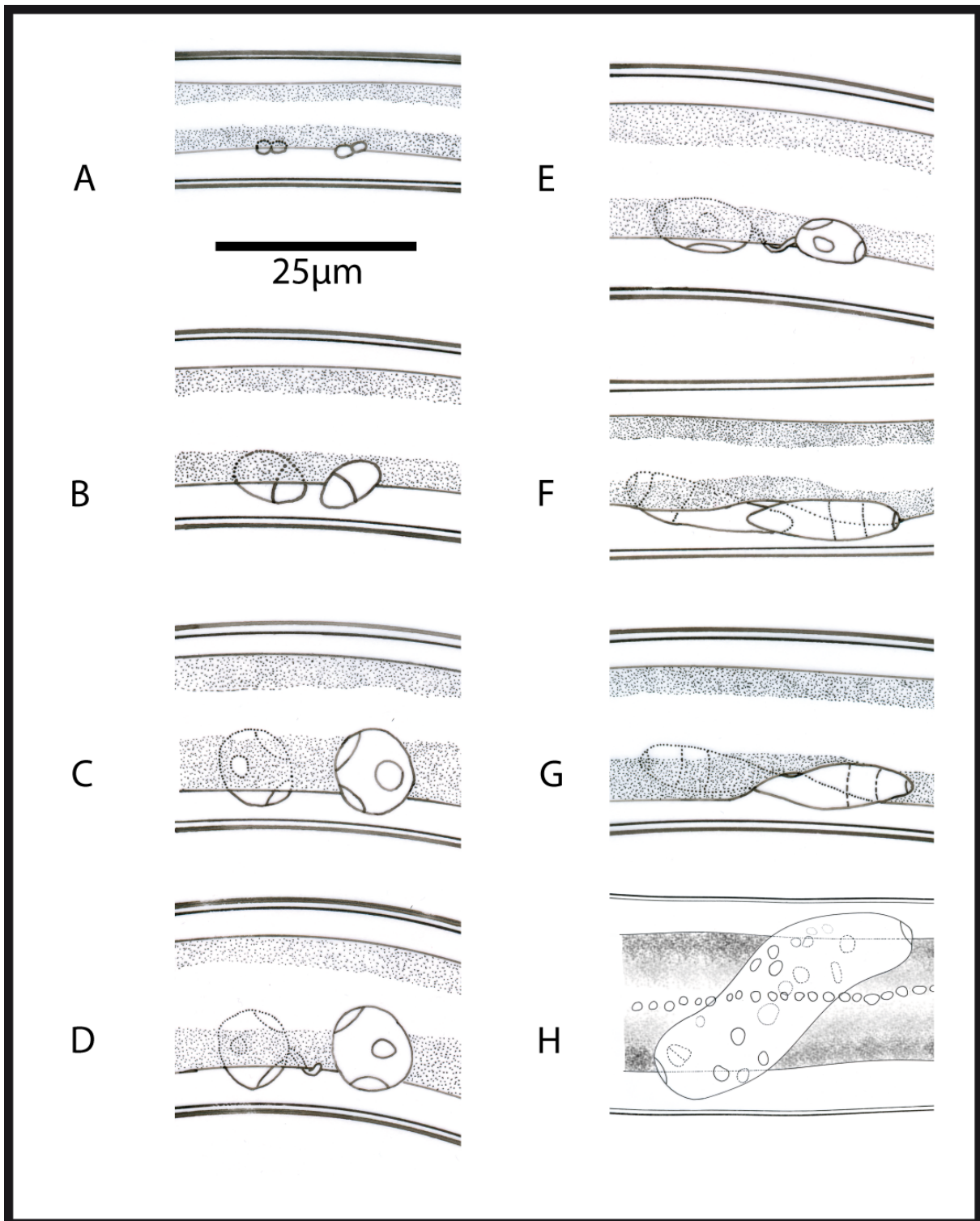


Abb. 4-2 Gonadenentwicklung bei *Plectus cirratus* Orientierung: anterior ist links, A-G lateral, H ventral; A: Juvenilstadium 1 (Ind. 1 Tag 1); B: Juvenilstadium 1 (Ind. 1 Tag 5); C: Juvenilstadium 2 (Ind. 1 Tag 7); D: Juvenilstadium 2 (Ind. 1 Tag 8); E: Juvenilstadium 2 (Ind. 1 Tag 9); F: Häutungsstadium j2/j3; G: Juvenilstadium 3; H: Juvenilstadium 3

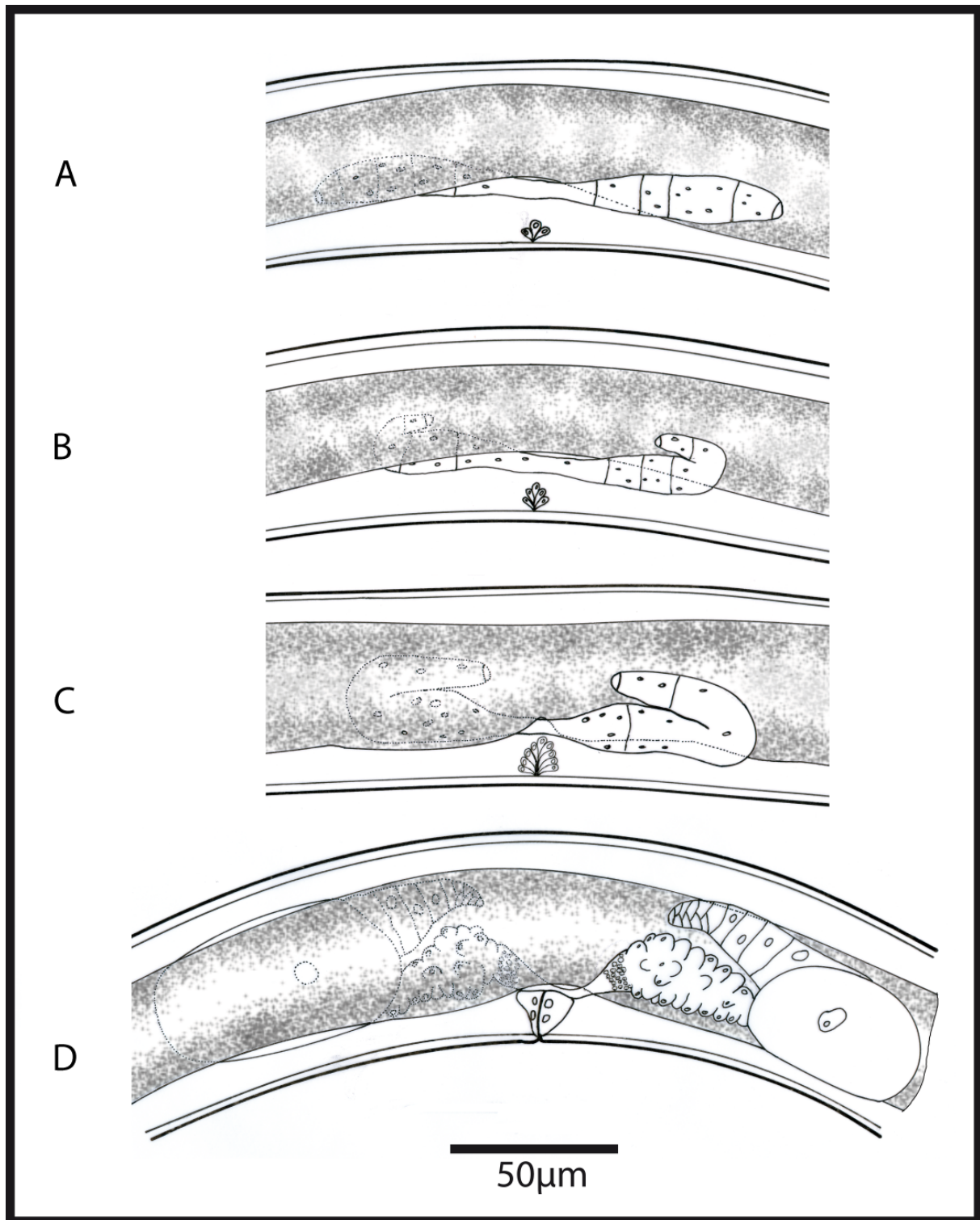


Abb. 4-3 Gonadenentwicklung bei *Plectus cirratus* im vierten Juvenilstadium im zeitlichen Verlauf (A, B, C) und im Adultus (D); Orientierung: anterior ist links, Lateralansicht

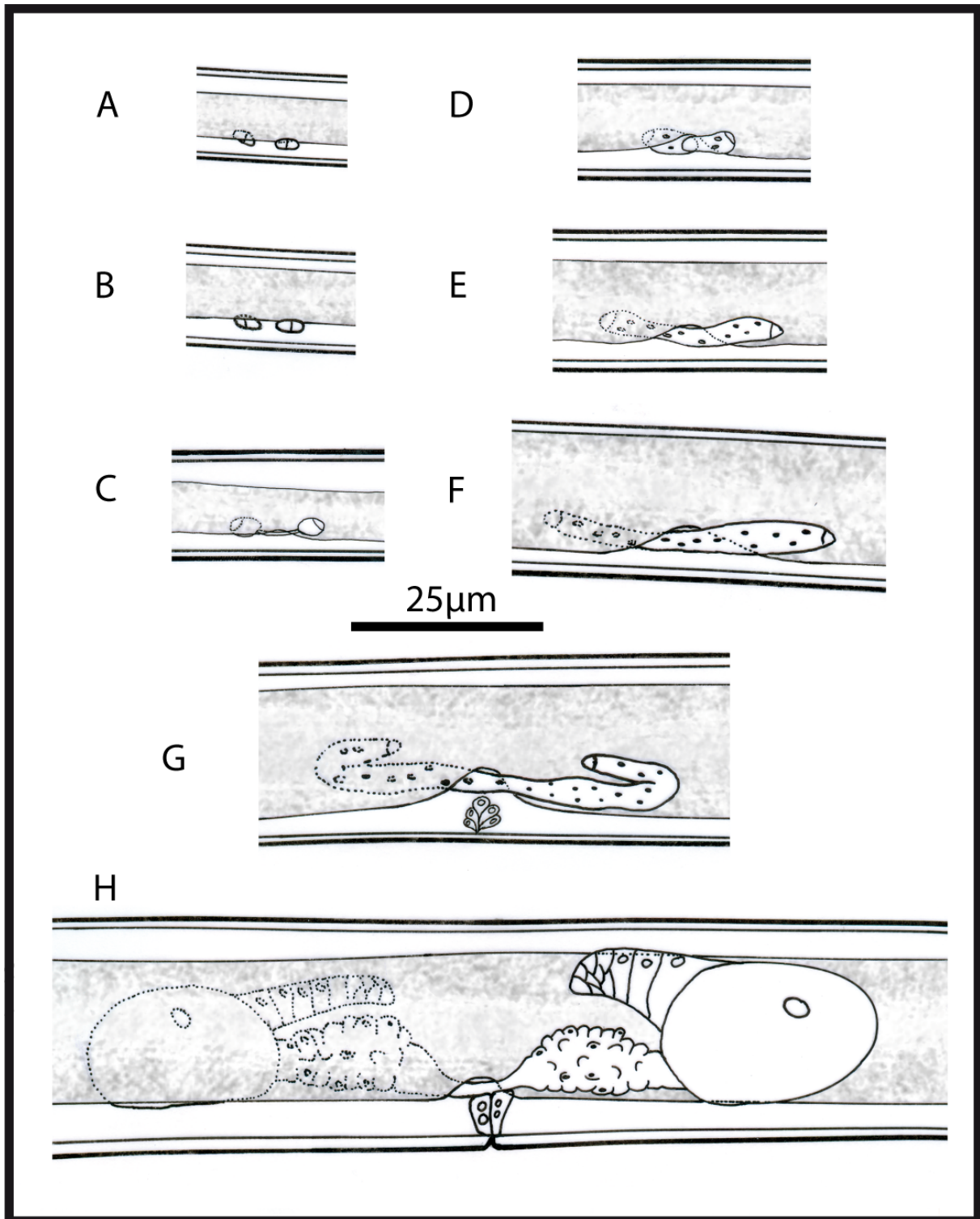


Abb. 4-4 Gonadenentwicklung bei *Plectus acuminatus* A: Juvenilstadium 1; B, C: Juvenilstadium 2; D: Häutungsstadium von zweiten zum dritten Juvenilstadium; E, F: Juvenilstadium 3; G: Juvenilstadium 4, H: adultes Individuum; Orientierung: anterior ist links, Lateralansicht

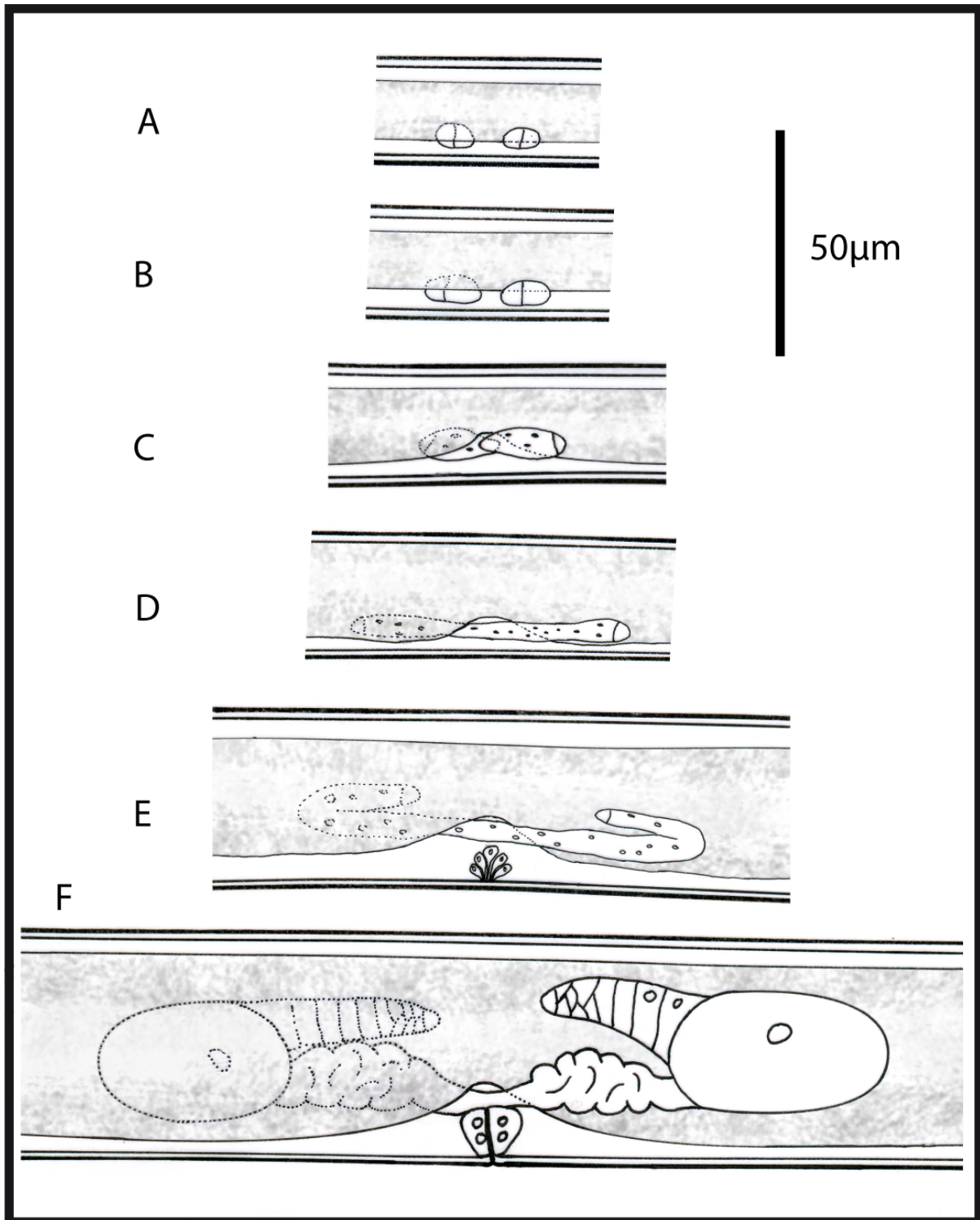


Abb. 4-5 Gonadenentwicklung bei *Plectus aquatilis* A: Juvenilstadium 1; B: Juvenilstadium 2; C, D: Juvenilstadien zwischen spätem J2 und frühem J4; E: Juvenilstadium 4, F: adultes Individuum; Orientierung: anterior ist links, Lateralansicht

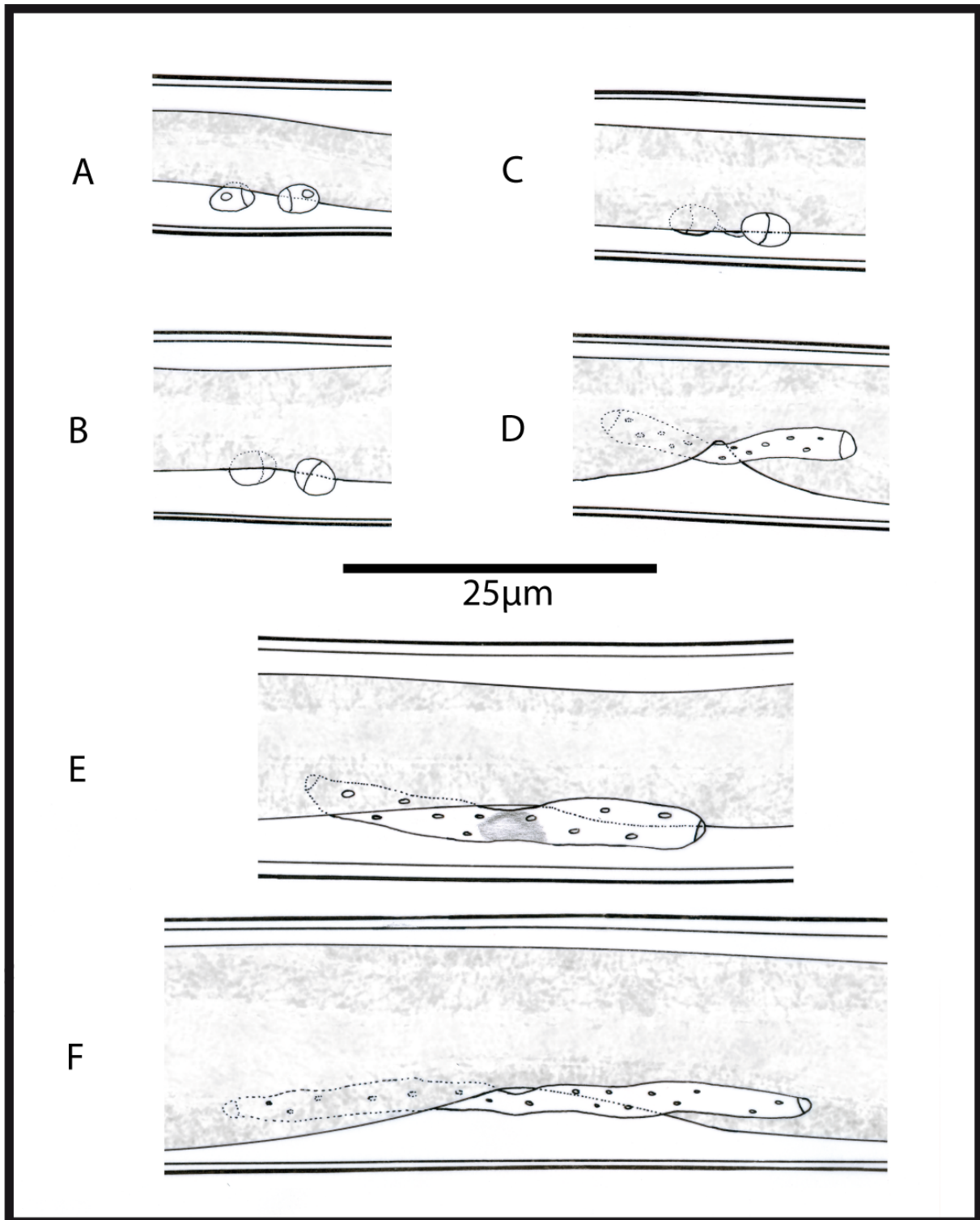


Abb. 4-6 Gonadenentwicklung bei *Plectus velox* A: Juvenil Stadium 1; B: frühes Juvenil Stadium 2; C: Juvenil Stadium 2; D. spätes Juvenil Stadium 2; E: Häutungsstadium von zweiten zum dritten Juvenil Stadium; F: Juvenil Stadium 3; Orientierung: anterior ist links, Lateralansicht

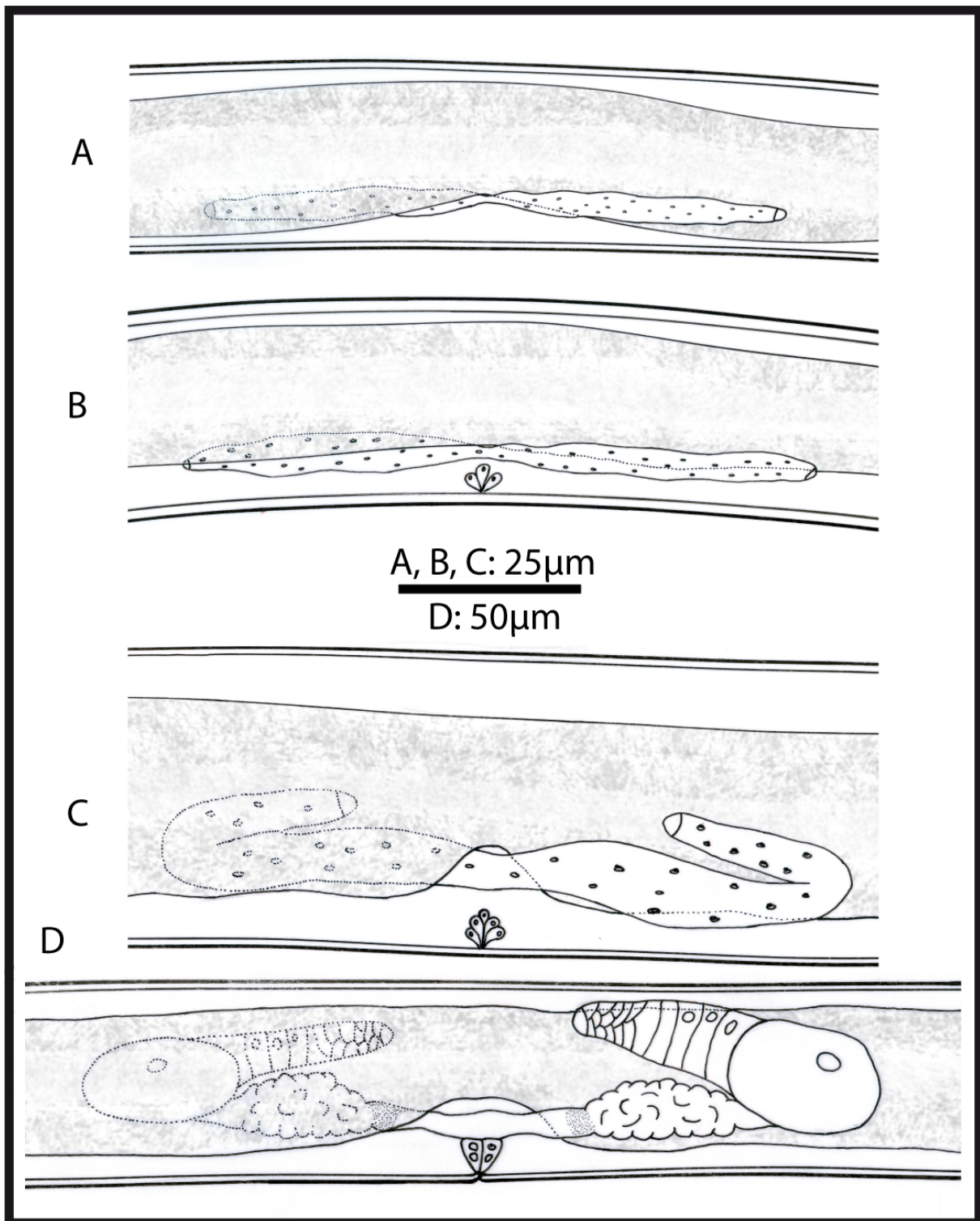


Abb. 4-7 Gonadenentwicklung bei *Plectus velox* A: Häutungsstadium von dritten zum vierten Juvenilstadium; B, C: Entwicklungsstadien im Juvenilstadium 4; D: adultes Stadium; Maßstab: Orientierung: anterior ist links, Lateralansicht

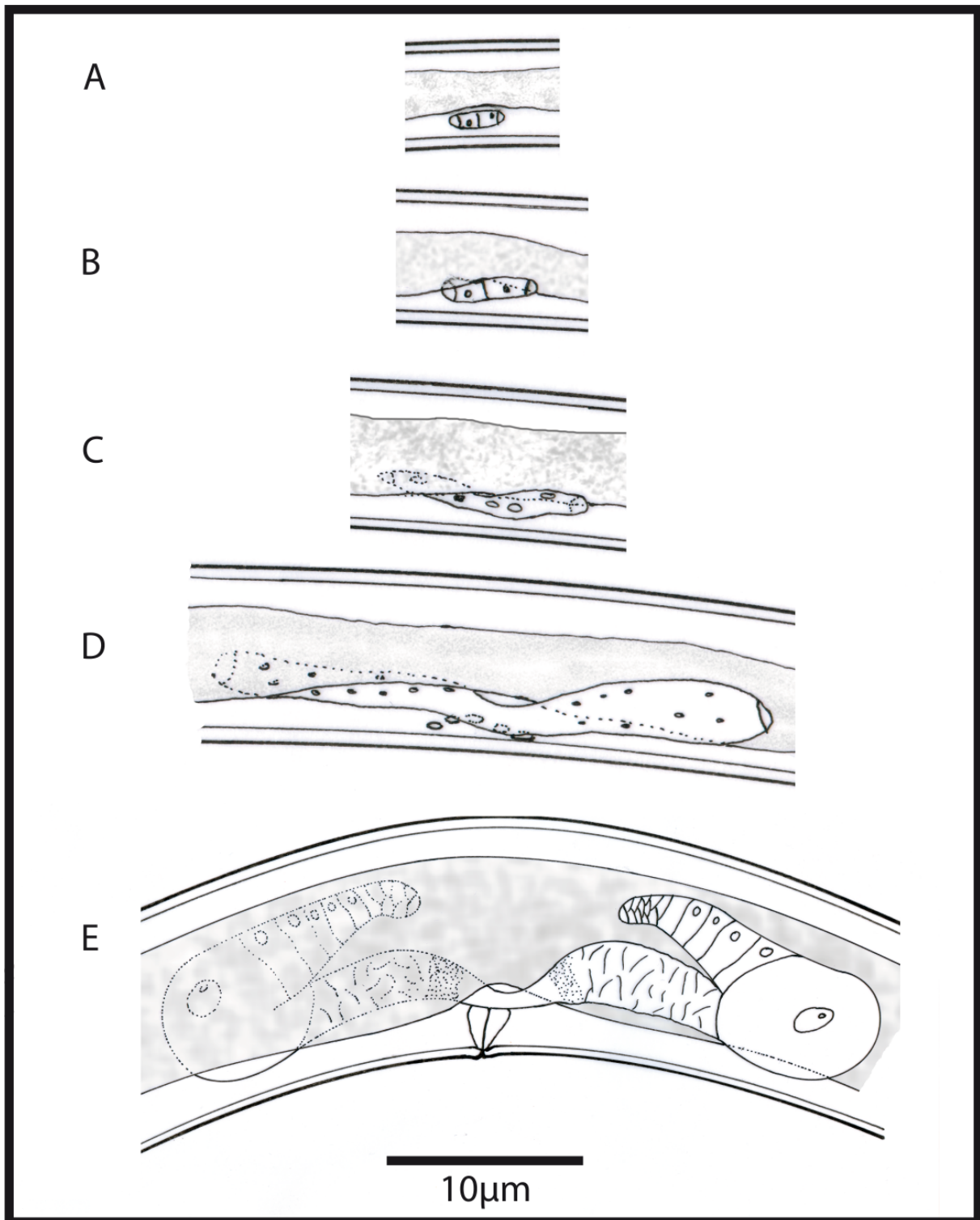


Abb. 4-8 Gonadenentwicklung bei *Plectus minimus* A: Juvenilstadium 1; B, C, D: Entwicklung ab Juvenilstadium 2 zum letzten Stadium vor dem Adultus; E: Adultus; Orientierung: anterior ist links, Lateralansicht

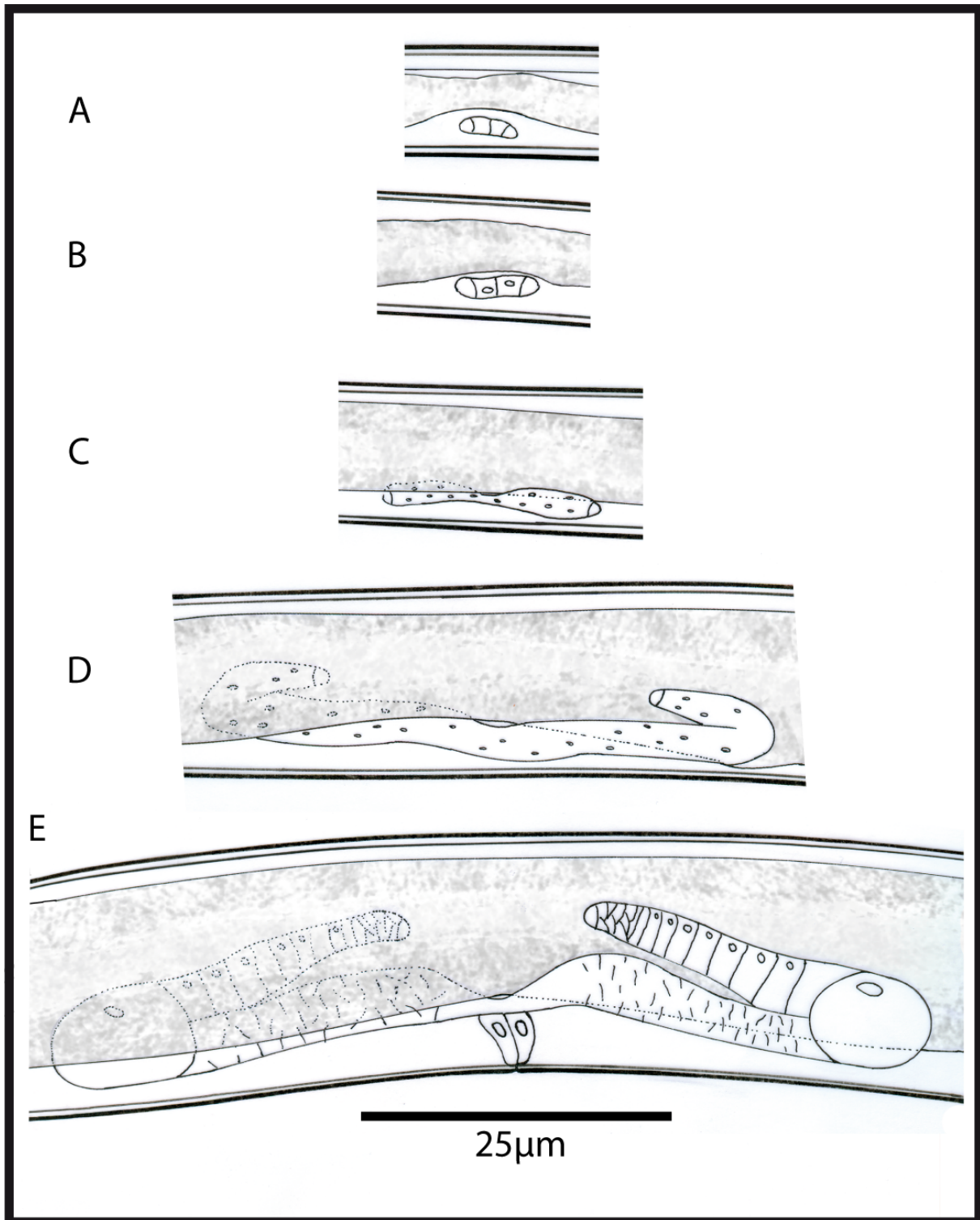


Abb. 4-9 Gonadenentwicklung bei *Plectus spec.* (RSB003) A: Juvenil stadium 1; B, C, D: Entwicklung ab dem Juvenil stadium 2; E: Gonade eines adulten Weibchens; Orientierung: anterior ist links, Lateralansicht

5 Induktion von Männchen durch Temperatur-Behandlung

5.1 Einführung

Innerhalb der Plectidae zeigt sich bei vielen Arten, dass die Reproduktion rein parthenogenetisch erfolgt (LAHL et al. 2003, Kapitel 2). HOLOVACHOV (2006) postuliert sogar die parthenogenetische Reproduktion als Apomorphie der gesamten Gruppe. Obwohl für diese Reproduktionsstrategie keine Männchen nötig sind, findet man in Freilandproben immer wieder Männchen. Bei *Plectus* treten die Männchen in den Proben, wenn überhaupt, nur in sehr geringer (ANDRÁSSY 1984, 1985; ZELL 1993), bei *Anaplectus* oder *Tylocephalus* dagegen in höhere Abundanz auf (ANDRÁSSY 1984, HOLOVACHOV et al. 2004a, 2004b).

Bei in Kultur gehaltenen Arten der Gattung *Plectus* gibt es keine Hinweise auf sporadisch auftretende Männchen. Selbst bei Arten mit einem recht hohen Anteil an Männchen, wie *Anaplectus* oder *Tylocephalus*, konnten in den Kulturen keine Männchen nachgewiesen werden (LAHL et al. 2003), auch wenn Männchen im Ursprungsisolat vorhanden gewesen sind (Kapitel 1).

Beobachtungen an dem hermaphroditischen *Caenorhabditis elegans* zeigen, dass in Kulturen der Männchenanteil bei 0,2% liegt. Es ist allerdings möglich, diesen Anteil im Nachwuchs auf bis zu 5% zu erhöhen, indem Weibchen im vierten Juvenilstadium für sechs Stunden bei 30°C inkubiert werden (SULSTON & HODGKIN 1988). Der auslösende Faktor ist die gesteigerte Wahrscheinlichkeit einer Fehlverteilung der X-Chromosomen. Bei *C. elegans* wird das Geschlecht durch die Verteilung der X-Chromosomen gesteuert, Weibchen oder Hermaphroditen werden durch XX und Männchen durch XO charakterisiert (HODGKIN 1988). Bei einer *Plectus*-Art wurde ebenfalls schon versucht, über die Temperatur-Methode von SULSTON & HODGKIN (1988) Männchen zu induzieren, aber ohne Erfolg (LAHL et al. 2006).

5.2 Material und Methode

Für den Versuch zur Induktion von Männchen wurden folgende Arten verwendet:

Plectus australis (RSB006), *Plectus acuminatus* (RSB007), *Plectus cirratus* (RSB005), *Plectus velox* (RSB010), *Plectus aquatilis* (RSB008), *Plectus minimus* (RSB020), *Plectus parvus* (RSB012), *Plectus* spec. (RSB003), *Plectus* spec. (RSB017) und *Anaplectus* spec. (RSB004)

Von jeder Art wurden Kulturen mit sämtlichen Entwicklungsstadien den Temperaturen -18°C, 0°C, 10°C, 20°C, 30°C, 35°C und 40°C ausgesetzt. Als Kontrolle (K) wurden die

Kulturen bei 20°C gewählt, welches der Raumtemperatur (RT) entspricht. Die Kulturen wurden den Temperaturen -18°C, 0°C und 30°C für 14 Tage (14d) ausgesetzt, die Zeit bei 35°C und 40°C betrug 1 Stunde (1h), bei 10°C und 20°C wurde kein Zeitlimit (o.Z.) gewählt. Die Kulturen wurden kontinuierlich bei diesen Temperaturen gehalten (Tab. 5-1). Die 30°C-Kulturen wurden alle zwei Tage angefeuchtet, damit sie nicht austrocknen, ansonsten wurden sie wöchentlich versorgt.

Nach der Inkubationszeit wurden alle Kulturen bei RT gehalten. Für mindestens fünf Monate wurden die Kulturen im wöchentlichen Rhythmus nach Männchen durchgesehen.

Männchen wurden möglichst lebend mikroskopiert und vermessen.

5.3 Ergebnis

Die Untersuchung des Temperatureinflusses zeigt, dass bei 30°C bei den Arten *Plectus acuminatus*, *P. cirratus*, *P. velox* und *P. aquatilis* Männchen in den Kulturen gefunden wurden (Tab. 5-1). Bei keiner anderen Temperatur traten Männchen auf. Neben der Induktion der Männchen ist die Erkenntnis über die Kälte- und Frosttoleranz einiger Arten ein wichtiges Ergebnis (Tab. 5-1).

Tab. 5-1 Untersuchte Arten bei den entsprechenden Temperaturbereichen, der jeweiligen Inkubationsdauer und der Temperaturtoleranz; +: funktionelle Kulturen nach der Inkubationszeit, ---: keine funktionellen Individuen nach der Inkubationszeit, (XX): Anzahl der insgesamt aufgetretenen Männchen, (K): Kontrolle, o.Z.: ohne Zeitbegrenzung.

Temperatur	-18°C	0°C	10°C	30°C	35°C	40°C	20°C (K)
<i>Plectus australis</i> (RSB002)	---	---	+	---	---	---	+
<i>Plectus acuminatus</i> (RSB007)	+	+	+	+(23)	---	---	+
<i>Plectus cirratus</i> (RSB005)	+	+	+	+(3)	---	---	+
<i>Plectus velox</i> (RSB010)	---	+	+	+(1)	---	---	+
<i>Plectus aquatilis</i> (RSB008)	+	+	+	+(1)	---	---	+
<i>Plectus minimus</i> (RSB020)	---	+	+	---	---	---	+
<i>Plectus parvus</i> (RSB012)	---	+	+	---	---	---	+
<i>Plectus spec.</i> (RSB003)	---	+	+	+	---	---	+
<i>Plectus spec.</i> (RSB017)	---	---	+	---	---	---	+
<i>Anaplectus spec.</i> (RSB004)	+	+	+	---	---	---	+
Zeit	14d	14d	o.Z.	14d	1h	1h	o.Z.

Plectus acuminatus (RSB007)

In den Kulturen wurden insgesamt vier Intersexe, Individuen mit männlichen und weiblichen Geschlechtsmerkmalen, und 23 Männchen gefunden.

Von den insgesamt 23 gefundenen Männchen wurden zehn Individuen lebend vermessen. Ihre Körpermaße entsprechen denen der Weibchen (Tab. 5-2). Die Geschlechtsstrukturen sind bei allen Individuen voll entwickelt. Es gibt zwei Testis-Äste, der anteriore Ast ist gerade gestreckt, der posteriore ist zu zweidrittel umgeschlagen (Abb. 5-2 A, B). Der gemeinsame Samenleiter erweitert sich auf Höhe des ersten oder zweiten Präcloakalorgans in einen breiten, sehr sekretreichen Abschnitt, bevor er in der Cloake mündet (Abb. 5-1 B, C, D). Die Präcloakalorgane sind alle röhrenförmig aufgebaut, der ventrale Bereich ist in der Kutikula verankert. An der Außenseite erscheinen sie als eine runde Struktur, welche in ihrer Mitte eine kleine, porenartige Öffnung aufweist (Abb. 5-1 G). Der Habitus der Präcloakalorgane ist sehr variabel. Die Anzahl der Präcloakalorgane zeigt individuelle Unterschiede. Es wurden zwei Individuen mit einem Präcloakalorgan gefunden (Abb. 5-1 B), 16 mit zwei (Abb. 5-1 C) und fünf Tiere mit drei (Abb. 5-1 D). Alle Männchen haben paarige Spicula und ein Gubernakulum. Der Schwanz ist stark und unregelmäßig beborstet. Vom Schwanzende aus gesehen kommen zuerst zwei dorsolaterale Borsten, gefolgt von zwei ventrolateralen. Anschließend folgen bei den meisten Individuen ventral zwei eng aneinander stehende Borsten (Abb. 5-1 F).

Die vier Intersex-Individuen wurden lebend mikroskopiert. Ihre Körpermaße entsprechen denen „normaler“ Weibchen (Tab. 5-2). Sie besitzen jeweils zwei Präcloakalorgane (Abb. 5-1 A), Der weibliche Geschlechtsapparat besteht aus der Vulva und einer paarigen Gonade. Spicula oder ein Gubernakulum wurden nicht gefunden, ebenso weist die Beborstung am Schwanz keine Doppelborsten auf, wie sie bei Männchen gefunden wurden. Die dorso- und ventrolateralen Terminalborsten sind vorhanden.

Tab. 5-2 Körpermaße *Plectus acuminatus*

	<i>Plectus acuminatus</i> Männchen	<i>Plectus acuminatus</i> Intersex
N	10	4
Gesamtlänge (µm)	793 (691-928)	851 (653-1023)
max. Breite (µm)	37 (32-43)	36 (35-38)
Pharynxlänge (µm)	197 (175-217)	199 (175-231)
Vulva (µm)	—————	439 (358-513)
Anus (µm)	715 (621-842)	760 (576-911)
Analbreite (µm)	33 (27-39)	33 (32-34)
Schwanzlänge (µm)	78 (69-86)	92 (77-112)
a	21,34 (18,44-23,16)	23,57 (18,66-26,92)
b	4,03 (3,76-4,28)	4,26 (3,73-4,47)
c	10,13 (8,89-10,99)	9,29 (8,48-10,17)
c'	2,40 (2,05-2,81)	2,79 (2,41-3,29)
V	—————	51,81 (48,91-54,82)
terminale dorsolaterale Borste vor Schwanzende (µm)	11 (8-14)	12 (9-14)
2. dorsolaterale Borste vor Schwanzende (µm)	16 (12-18)	16 (13-19)
terminale ventrolaterale Borste vor Schwanzende (µm)	21 (17-23)	21 (19-22)
2. ventrolaterale Borste vor Schwanzende (µm)	26 (23-29)	28 (25-31)
ventrales Borstenpaar vor Schwanzende (µm)	33 (24-41)	—————
Spiculalänge (µm)	36 (30-44)	—————
Präcloacalorgan 1 (µm vor Anus)	56 (45-65)	60 (54-68)
Präcloacalorgan 2 (µm vor Anus)	84 (73-90)	90 (79-105)
Präcloacalorgan 3 (µm vor Anus)	100 (93-112)	—————

Plectus aquatilis (RSB006)

Von dieser Art wurde ein Männchen nach der Temperatur-Behandlung gefunden. Leider war es tot, und die nicht kutikularisierten Strukturen hatten sich bereits zersetzt. Die ermittelten Körpermaße entsprechen denen der Weibchen (Tab. 5-3). Das Tier hatte vier Präcloacalorgane, welche sich alle in ihrem Habitus ähneln. Die Spicula sind paarig, des Weiteren ist ein Gubernakulum vorhanden (Abb. 5-2 D). Der Schwanz des Männchen war stärker beborstet als der der Weibchen. Vom Schwanzende aus gesehen kommen zuerst auf

jeder Körperseite eine dorsolaterale und anschließend eine ventrolaterale Borsten. Hinter diesen Borsten befinden sich ventral zwei sehr eng stehende Borsten, außerdem gibt es auf jeder Körperseite fünf weitere Schwanzborsten.

Plectus cirratus (RSB005)

In den Kulturen, die bei 30°C behandelt wurden, wurden insgesamt drei Männchen gefunden, deren Körpermaße denen der Weibchen entsprechen (Tab. 5-3). Die Geschlechtsstrukturen waren alle vollständig ausgebildet. Sie bestehen aus zwei Testis-Ästen, ein Ast ist nach anterior gestreckt, der zweite Ast ist nach posterior umgeschlagen. Der gemeinsame Samenleiter erweitert sich ungefähr auf Höhe der Präcloakalorgane in einen sehr sekretreichen Abschnitt, bevor er in die Cloake mündet. Alle Individuen zeichneten sich durch zwei Präcloakalorgane aus (Abb. 5-1 E). Paarige Spicula und ein Gubernakulum finden sich bei allen Individuen. Terminal befinden sich auf jeder Körperseite eine dorso- und ventrolaterale Borste und ein ventrales Borstenpaar.

Plectus velox (RSB010)

Es wurde nach der Temperatur-Behandlung ein Männchen gefunden. Die Körpermaße entsprechen denen der Weibchen (Tab. 5-3). Das Männchen wies paarige Testis auf, ein Testis-Ast ist anterior gestreckt, der zweite nach posterior umgeschlagen. Vor der Cloake befindet sich eine sekretreiche Anschwellung des Samenleiters. Das Tier besaß außerdem sechs Präcloakalorgane in zwei unterschiedlichen Ausprägungen (Abb. 5-2 C). Das dritte und sechste Präcloakalorgan besitzt eine kleine gedrungene Form, die Länge entspricht weniger als der doppelten Breite. Die anderen vier Präcloakalorgane besitzen eine deutlich schlankere Form und sind ein Vielfaches länger als breit. Paarige Spicula und ein Gubernakulum sind vorhanden. Bei den terminalen Schwanzborsten sind nur eine dorsolaterale Borste und das ventrale Borstenpaar vorhanden. Von letzterem bis zum Anus ist der Schwanz unregelmäßig beborstet.

Tab. 5-3 Messwerte für *Plectus aquatilis*, *Plectus cirratus* und *Plectus velox*

	<i>Plectus aquatilis</i>	<i>Plectus cirratus</i>	<i>Plectus velox</i>
N	1	3	1
Gesamtlänge (µm)	1397	1176 (1150-1214)	1047
max. Breite (µm)	60	49 (48-52)	61
Pharynxlänge (µm)	—————	272 (254-284)	258
Anus (µm)	1275	1079 (1055-1109)	957
Analbreite (µm)	49	26 (25-28)	49
Schwanzlänge (µm)	122	97 (90-105)	90
a	23,28	23,84 (23,35-24,23)	17,16
b	—————	4,33 (4,14-4,58)	4,06
c	11,45	12,20 (11,56-12,92)	11,63
c'	2,49	3,67 (3,46-3,80)	1,84
terminale dorsolaterale Borste vor Schwanzende (µm)	11	6 (4-7)	19
2. dorsolaterale Borste vor Schwanzende (µm)	18	10 (9-12)	—————
terminale ventrolaterale Borste vor Schwanzende (µm)	28	17 (15-19)	—————
2. ventrolaterale Borste vor Schwanzende (µm)	35	23 (20-24)	—————
ventrales Borstenpaar vor Schwanzende (µm)	44	33 (28-35)	35
Spiculalänge (µm)	46	22 (20-25)	51
Präcloacalorgan 1 (µm vor Anus)	71	34 (30-38)	56
Präcloacalorgan 2 (µm vor Anus)	118	59 (52-69)	84
Präcloacalorgan 3 (µm vor Anus)	148	—————	118
Präcloacalorgan 4 (µm vor Anus)	183	—————	136
Präcloacalorgan 5 (µm vor Anus)	—————	—————	174
Präcloacalorgan 6 (µm vor Anus)	—————	—————	195

5.4 Diskussion

Der Versuch der Induktion von Männchen über eine Temperaturänderung weist bei vier von zehn Arten ein positives Ergebnis auf. Es zeigt, dass es auch bei einigen Plectiden generell möglich ist, Männchen zu induzieren. Dass dieses bei allen Arten immer nur bei 30°C erfolgreich gewesen ist, kann als Hinweis gedeutet werden, dass es sich bei den Männchen um eine inkorrekte Verteilung der Geschlechtschromosomen handelt. Die hohen Temperaturen erhöhen die Wahrscheinlichkeit einer Fehlverteilung.

Die untersuchten Temperaturbereiche geben zwar keinen Aufschluss über das Temperaturoptimum der einzelnen Arten, aber es zeigt, dass alle Arten im Bereich von 10°C-20°C kultiviert werden können. Die meisten Arten haben keine Probleme Temperaturen um den Gefrierpunkt zu überleben. Entwicklung oder Reproduktion konnte während dieser Zeit nicht festgestellt werden. *Plectus cirratus*, *P. velox* und *Anaplectus spec.* zeigten allerdings eine hohe Mobilität, so dass Reproduktion und Entwicklung nicht ausgeschlossen werden kann. Vier Arten überleben sogar ein temporäres Einfrieren. Diese breite Temperaturtoleranz zeigt deutlich, warum einige Arten eine weltweite Verbreitung über unterschiedlichste Klimazonen aufweisen können (ANDRÁSSY 1984, ZELL 1993).

Bei den Männchen von *Plectus acuminatus* zeigt sich, dass die Anzahl der Präcloakalorgane innerhalb dieser Art variabel ist. Bis jetzt gab es Hinweise auf intraspezifische Unterschiede bei der Anzahl dieser Strukturen, allerdings handelt es sich meistens um Einzelfunde aus unterschiedlichen Proben (ZELL 1993).

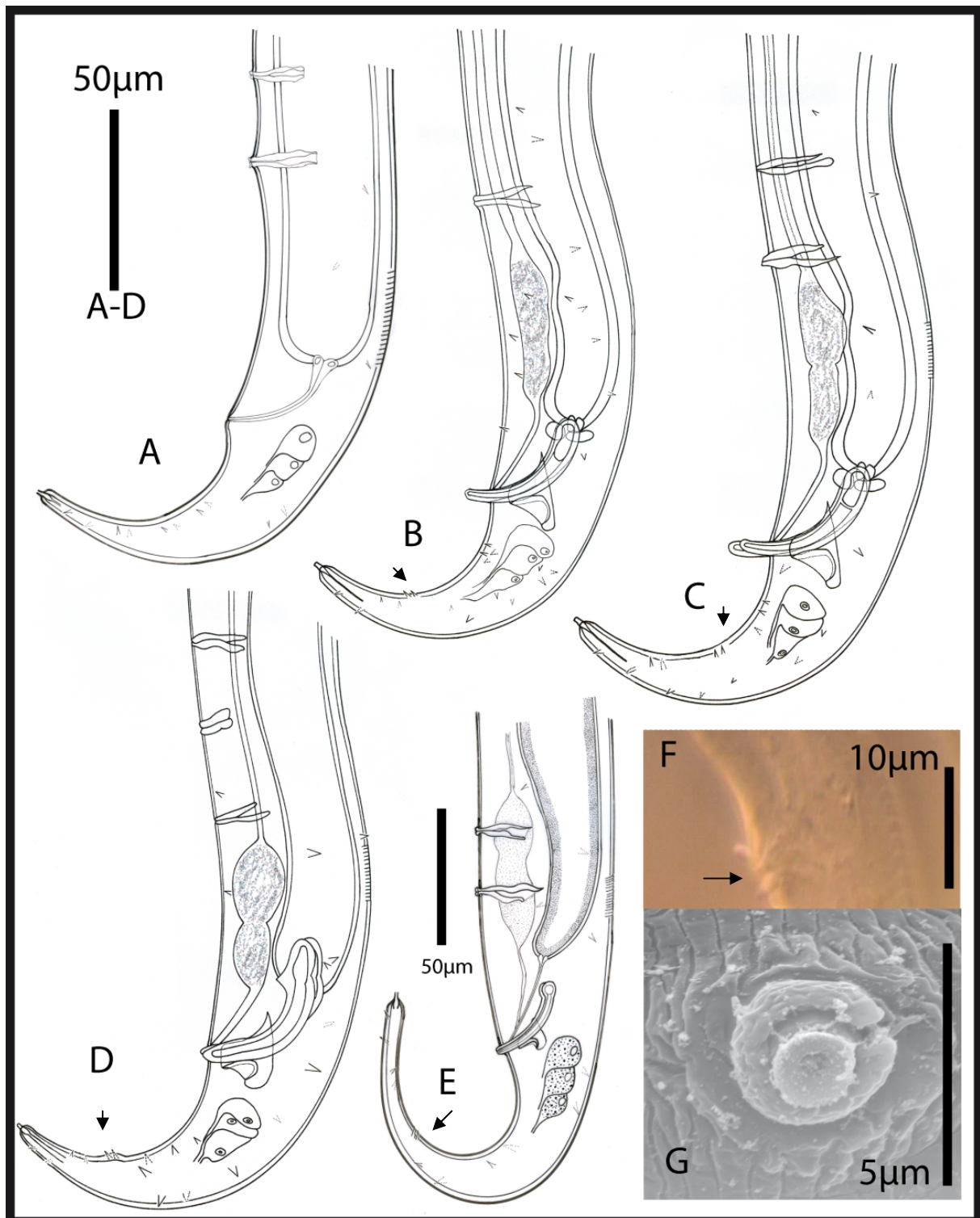


Abb. 5-1 *Plectus acuminatus* A, B, C, D, F, G; *Plectus cirratus* E; A: Intersex; Männchen mit unterschiedlicher Anzahl an Präcloakalorganen (B, C, D); F: ventrale Doppelborsten; G: Präcloakalorgan; Pfeil: Doppelborste

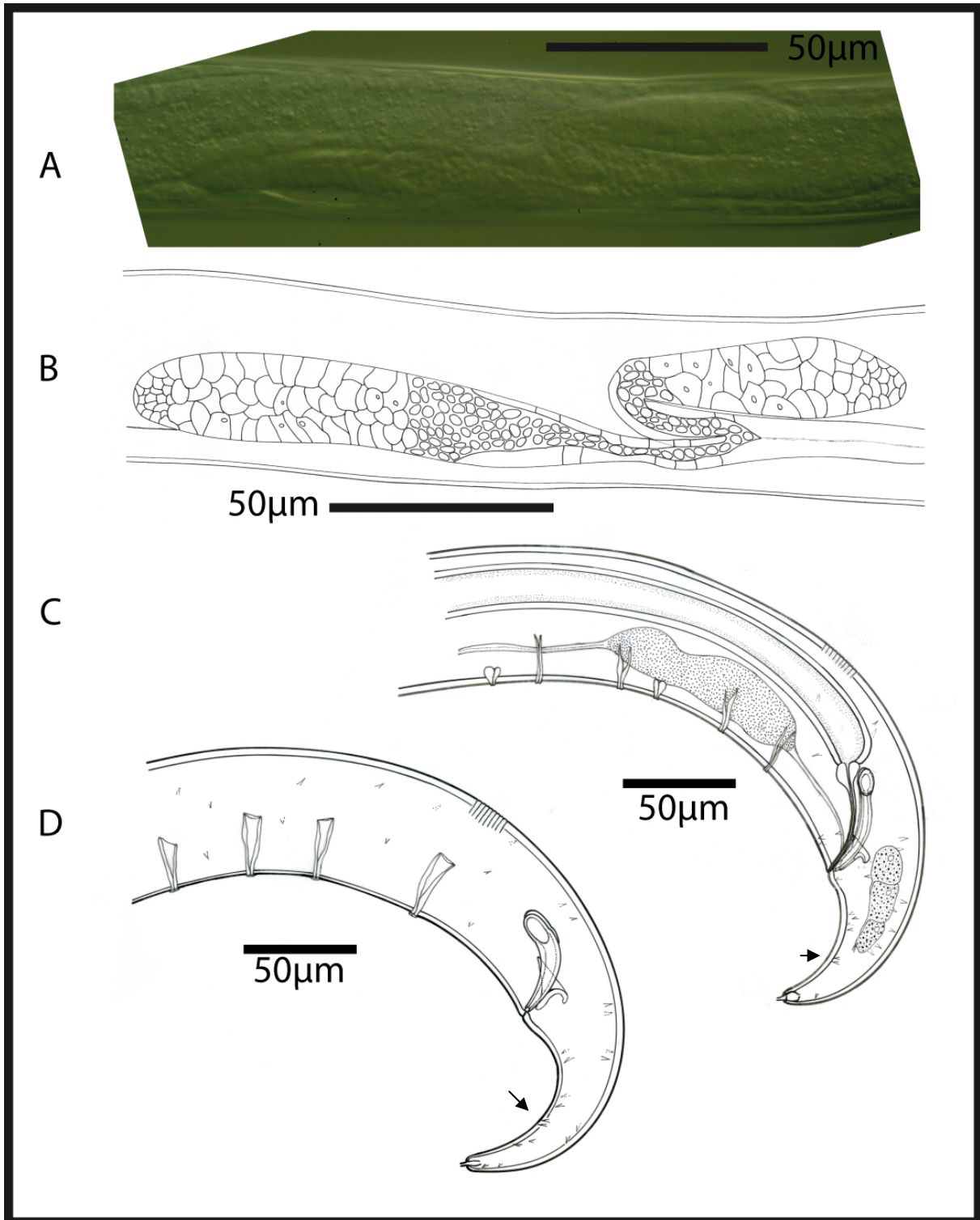


Abb. 5-2 *Plectus acuminatus* A Testes; B Testes; C *Plectus velox* ♂; D *Plectus aquatilis* ♂; Pfeil Doppelborste; Lateralansicht; anterior ist links

6 Fertilität von *Plectus*-Männchen und Intersex-Individuen

6.1 Einführung

In der Gattung *Plectus* werden immer wieder Männchen in Proben aus dem Freiland gefunden (ZELL 1993; ANDRÁSSY 1998; HOLOVACHOV 2006). Bei den untersuchten Arten treten in den Kulturen keine Männchen auf (Kapitel 1), aber es ist möglich, bei einigen Arten Männchen über eine Temperaturänderung auf 30°C zu induzieren (Kapitel 5). Dabei entstehen auch Intersex-Individuen, welche weibliche und männliche Merkmale aufweisen. Da es sich bei den Männchen und den intersexuellen Individuen vermutlich, wie bei *Caenorhabditis elegans* (HODGKIN 1988), um chromosomale Verteilungsfehler in der Reproduktion handelt, ist ihre Funktion unklar. Die Reproduktion aller untersuchten Arten ist parthenogenetisch.

Bei dem Hermaphroditen *Caenorhabditis elegans* sind sporadisch auftretende oder induzierte Männchen fertil, halten sich aber nicht selbständig in der Kultur (SULSTON & HODGKIN 1988). Bei den Plectiden gibt es zur Fertilität keine Information, auch Hinweise auf funktionelle Männchen durch inseminierte Weibchen finden sich nicht. Es gibt eine Beobachtung von HOLOVACHOV (2001) zur Paarung von *Plectus paracuminatus*. Das Weibchen wies nach der Paarung eine unbestimmte Anzahl an Spermien auf. Die Fertilität wurde nicht getestet.

Ein Test auf Fertilität kann über eine molekulargenetische Analyse erfolgen, aber auch über einen Vergleich von Phänotypen. In diesem Fall wurde ein Vergleich der Phänotypen versucht, wobei das Männchen als phänotypische Ausprägung angesehen wurde.

6.2 Material und Methode

Bei diesem Test wurde mit den temperaturinduzierten Männchen (Kapitel 5) der Art *Plectus acuminatus* (RSB007) gearbeitet. Es wurden zwei Versuchsansätze mit jeweiligern Kontrollen durchgeführt. In jedem Versuchsansatz und den Kontrollen wurde ein jungfräuliches Weibchen (j4-Stadium in Häutung) auf einer Agarplatte aus 1,8%igen Wasseragar kultiviert. Die Individuen für Ansatz 1 und Kontrolle 1 stammten aus der *P. acuminatus*-Kultur, in welcher Männchen induziert wurden (RSB007), die Weibchen für Ansatz 2 und Kontrolle 2 kamen aus einem *P. acuminatus*-Stamm, in welchem keine Männchen vorhanden waren (RSB015). Zu den Ansätzen 1 und 2 wurde jeweils ein adultes Männchen hinzugegeben (Tab. 6-1). Von jedem Ansatz und jeder Kontrolle wurden parallel neun Ansätze durchgeführt. Alle Kulturen wurden einmal pro Woche angefeuchtet.

Tab. 6-1 Versuchsansätze zum Fertilitätstest von Männchen bei *Plectus acuminatus*.

Kultur RSB007		Kultur RSB015	
Ansatz 1	Kontrolle 1	Ansatz 2	Kontrolle 2
1 ♀	1 ♀	1 ♀	1 ♀
1 ♂	-	1 ♂	-
je 9 Replikate			
Dauer des Versuches ca. 5 Monate bei 20°C			

Im Weiteren wurde in einem Tropfen Wasser (N=24) versucht, das Paarungsverhalten und die Anzahl der übertragenen Spermien zu ermitteln. Dazu wurde jeweils ein junges Männchen mit fünf Weibchen in einem Tropfen Wasser für 24h gehalten. Anschließend wurden die Gonaden auf das Vorhandensein von Spermien überprüft. Um das Paarungsverhalten zu charakterisieren, wurden die Tiere mit der Stereolupe beobachtet. Die Anzahl der Spermien wurde an einem Zeiss Axioplan Mikroskop bestimmt.

Die Fertilität der vier Intersex-Individuen wurde getestet, indem sie einzeln auf Agarplatten aus 1,8%igen Agar kultiviert wurden.

6.3 Ergebnisse

Nach fünf Monaten wurden in den Kulturansätzen insgesamt 49 Männchen in der Nachkommenschaft gefunden. Alle Männchen kamen in den Ansätzen 1 und 2 vor. In den Kontrollen konnten keine Männchen nachgewiesen werden (Tab. 6-2). Weibchen mit Präcloakalstrukturen wurden nicht gefunden.

Tab. 6-2 Fertilitätstest von Männchen bei *Plectus acuminatus*, es wurden nur adulte Tiere gezählt

Kultur	Ansatz 1		Kontrolle 1	Ansatz 2		Kontrolle 2
	♀ + ♂	♀	♀	♀ + ♂	♀	♀
1	-	75 ♀	63 ♀	-	10 ♀	56 ♀
2	-	48 ♀	58 ♀	-	25 ♀	51 ♀
3	-	36 ♀	38 ♀	1 ♂ tot	29 ♀	44 ♀
4	-	35 ♀	31 ♀	1 ♂ tot	61 ♀	42 ♀
5	-	25 ♀	26 ♀	3 ♂	16 ♀	36 ♀
6	2 ♂	55 ♀	25 ♀	3 ♂	16 ♀	32 ♀
7	3 ♂	52 ♀	22 ♀	3 ♂	21 ♀	32 ♀
8	5 ♂	38 ♀	21 ♀	6 ♂	20 ♀	31 ♀
9	9 ♂	8 ♀	16 ♀	13 ♂	56 ♀	26 ♀

Die Männchen besaßen paarige Spicula mit Gubernakulum und zwei vollständig ausgebildete Testis-Äste, wiesen aber eine Variabilität in der Anzahl der Präcloakalstrukturen auf. Die Anzahl schwankte zwischen null und vier Präcloakalstrukturen (Abb. 6-2). Eine kombinierte Darstellung der Variabilität der Anzahl der Präcloakalstrukturen aller Männchen

(Temperaturinduktion (Kapitel 5) und Fertilitätstest) (Abb. 6-1) wies eine Gauß-Verteilung mit dem Maximum bei zwei Strukturen auf. Nicht nur die Anzahl sondern auch die Form ist sehr variabel. Die unterschiedlichen Formen treten auch bei gleicher Anzahl der Präcloakalstrukturen auf (Abb. 6-3).

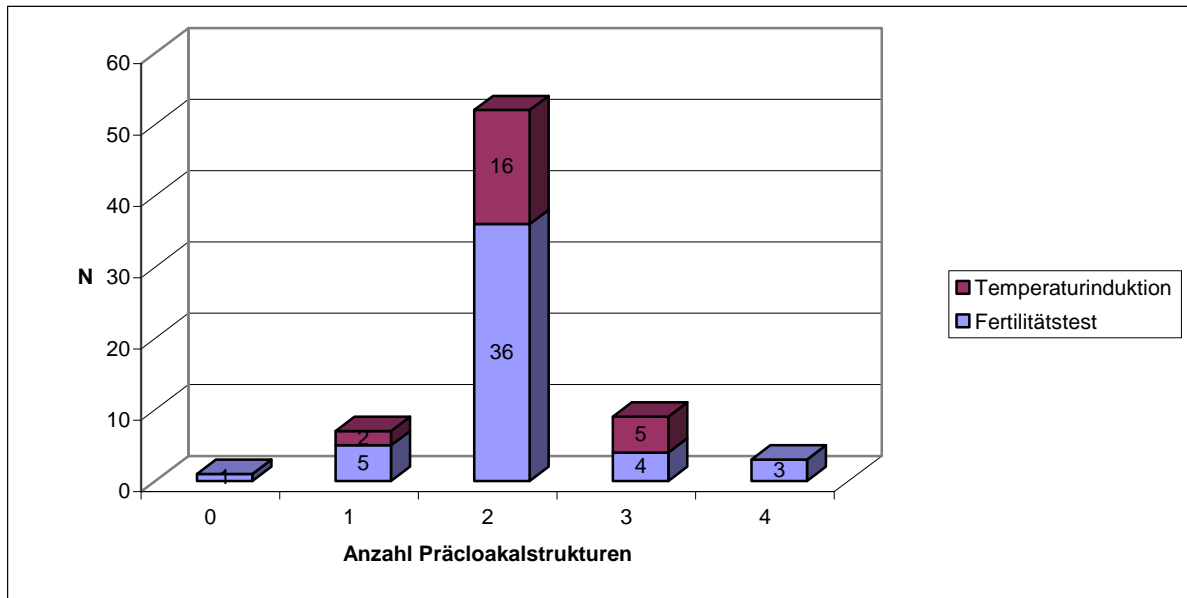


Abb. 6-1 Kombinierte Darstellung der Anzahl der Präcloakalstrukturen aus dem Fertilitätstest und der Temperaturinduktion (Kapitel 5).

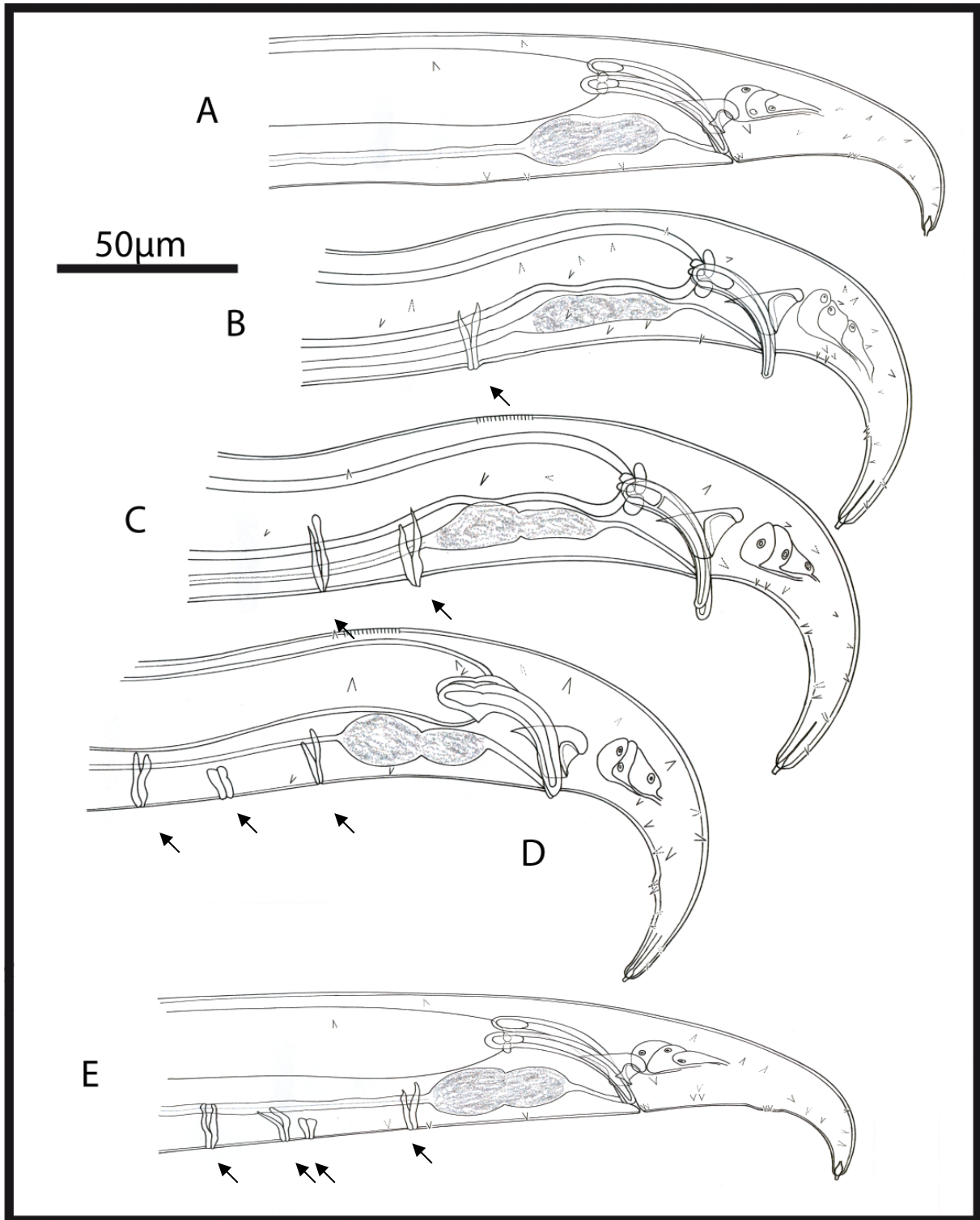


Abb. 6-2 *Plectus acuminatus* Männchen mit unterschiedlicher Anzahl an Präcloakalstrukturen; Pfeil: Präcloakalstruktur.

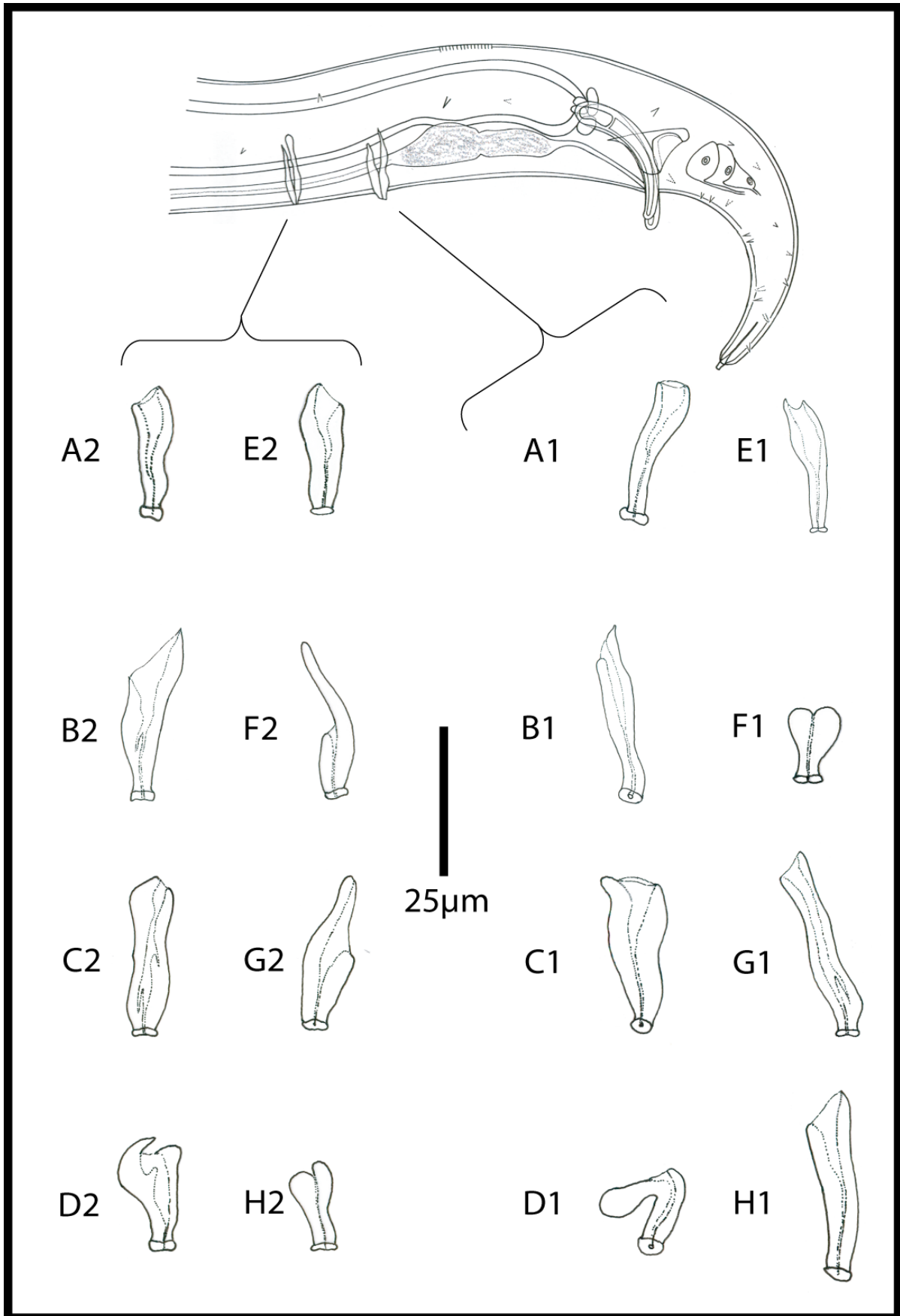


Abb. 6-3 Präcloakalstrukturen: Vergleich der beiden Präcloakalstrukturen bei acht Individuen mit nur zwei Präcloakalstrukturen. Die Strukturen eines Individuums haben den gleichen Buchstaben.

Eine Paarung mit Spermienübertragung wurde nicht beobachtet. Das am ehesten kopulationsartigste Verhalten glich einer spiraligen Paarung, bei der sich die Cloake des Männchens auf Höhe der Vulva befand und der Schwanz um das Weibchen geschlungen war (Abb. 6-4). Nachdem das Männchen sich vom Weibchen gelöst hatte, zeigten sich im Weibchen keine Spermien.

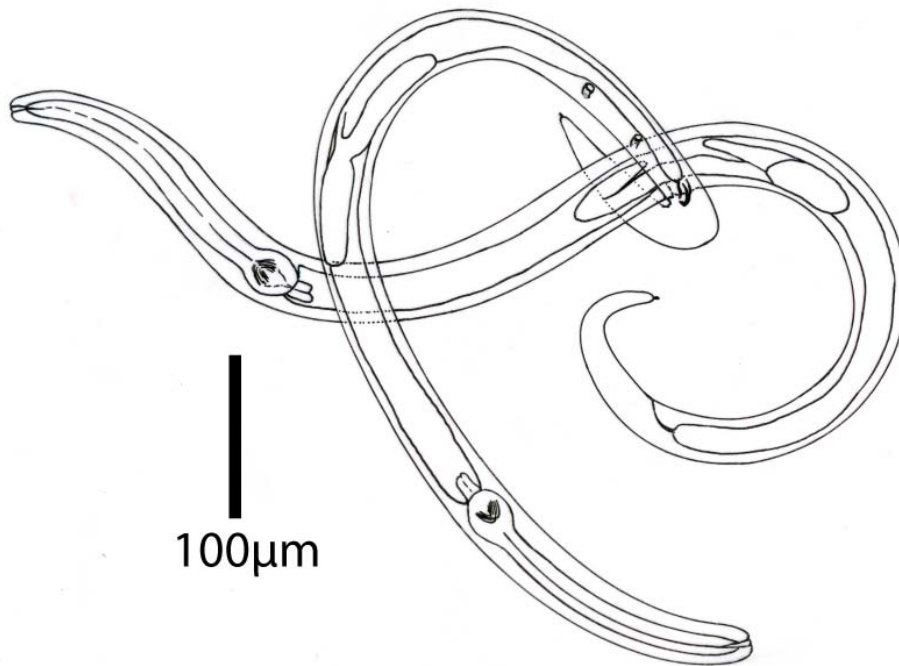


Abb. 6-4 Paarungsstellung bei *Plectus acuminatus*.

Bei den Weibchen (N=120) aus den Tropfenversuchen konnten in 13 Weibchen Spermien gefunden werden. Die Anzahl der Spermien im Uterus jeden Weibchens betrug maximal 7 (\bar{X} 4) (Abb. 6-5 A, B). In einem Ansatz hatte ein Männchen zwei Weibchen innerhalb der 24stündigen Inkubationszeit begattet und inseminiert, dabei wurden einmal zwei und einmal drei Spermien übertragen.

In allen Ansätzen haben sich Intersex-Individuen reproduziert. Die Nachkommen waren alles Weibchen, intersexuelle Charakteristika waren nicht aufgetreten.

Von den Kulturen mit lebenden männlichen Nachkommen konnten nach sechs bis acht Monaten nur in zwei Kulturen noch Männchen gefunden werden, einmal eines und einmal drei.

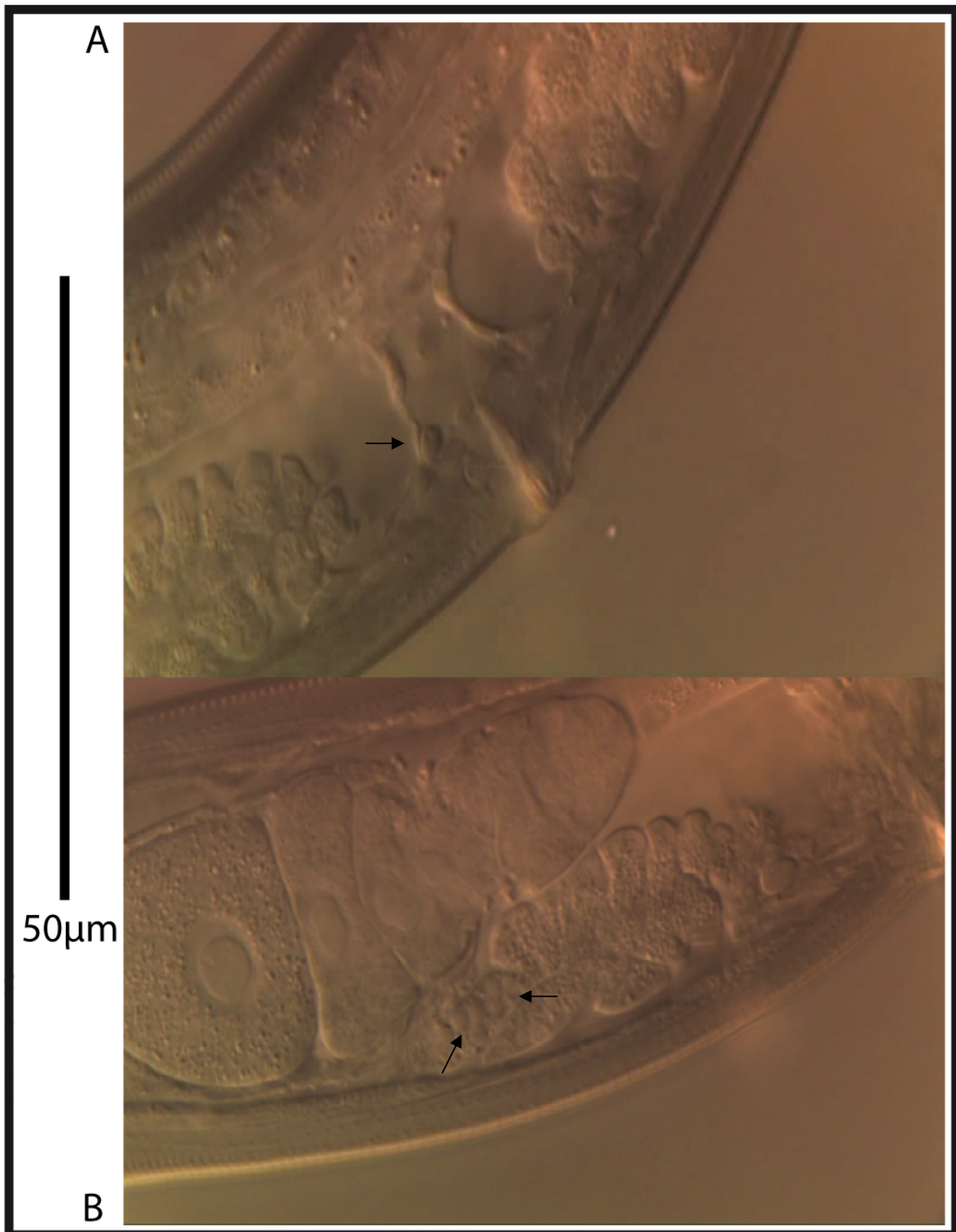


Abb. 6-5 Spermien im Uterus bei *Plectus acuminatus* A: Spermium im Vulva-Bereich; B: Spermien im Bereich vor dem Ovar.

6.4 Diskussion

Bei dieser Untersuchung zeigte sich, dass mindestens 61% der eingesetzten Männchen fertil waren und sich reproduzieren konnten. Der geringe Anteil der Männchen in den Kulturen zeigte aber auch, dass sie für die Reproduktion nur eine untergeordnete Rolle spielen. Für diese Tatsache spricht vor allem auch, dass der Männchenanteil in den Ansätzen immer weiter gesunken ist. SULSTON & HODGKIN (1988) konnten für *Caenorhabditis elegans* zeigen, dass sich der Männchenanteil durch Zusammensetzen von Männchen und Weibchen in den Nachkommen auf bis zu 50% erhöht. Ohne diese Maßnahme pendelt sich der Männchenanteil wieder auf ca. 0,2% ein, welches der spontanen Bildungsrate für Männchen entspricht. Dasselbe kann auch für *Plectus acuminatus* angenommen werden, ohne das Zusammensetzen von Männchen und Weibchen sinkt der Männchenanteil in den nachfolgenden Generationen auf nahezu 0%. Dieses zeigt, dass die parthenogenetische Reproduktion bei gleich bleibenden Bedingungen gegenüber der sexuellen Fortpflanzung vorteilhafter ist und sich durchsetzt. Erst bei veränderten Bedingungen, wie sie durch regelmäßiges Umsetzen auf neue Agarplatten entstehen, haben die Männchen eine Chance sich in der Population zu halten.

Unter konstanten Bedingungen wird sich der Männchenanteil auf die spontane Bildung von Männchen beschränken, welche aber keinen längerfristigen Einfluss auf die Population nehmen. Dieses wird sicherlich auch durch die geringe Zahl an übertragenen Spermien begünstigt.

Ein weiteres Ergebnis des Fertilitätstestes ist die unterschiedliche Anzahl der Präcloakalstrukturen. Wie in Kapitel 5 gezeigt, ist die Anzahl innerhalb einer Art nicht konstant. Ein Grund dafür könnte eine mögliche Chromosomenfehlverteilung sein. Einen weiteren Hinweis auf Fehler liefern die Intersexe. Bei den über Kreuzung erzeugten Nachkommen treten solche Individuen nicht auf, trotzdem existiert eine Variabilität in der Anzahl der Präcloakalstrukturen der Männchen. Dieses bestätigt die Vermutung, dass es sich bei den Intersex-Individuen um Fehler handelt, man könnte sie auf Grund ihrer Fertilität auch als Weibchen bezeichnen, die auf Grund eines Fehlers die Präcloakalstrukturen ausbilden. Die hohe Variabilität in der Anzahl der Präcloakalstrukturen der männlichen Nachkommen weist darauf hin, dass die Anzahl nicht artspezifisch ist und damit auch nicht als Unterscheidungskriterium dienen kann.

Die Präcloakalstrukturen unterscheiden sich aber nicht nur in ihrer Anzahl, sondern auch in ihrer Form. Der Vergleich der Formen bei nur zwei vorhandenen Präcloakalstrukturen zeigt, dass alle Strukturen eine tubenförmige Grundstruktur aufweisen, in ihrer sonstigen Form aber

sehr unterschiedlich sein können. Durch die Formvariabilität ist eine Homologisierung einer bestimmten Form und einer Position nicht möglich.

Diese Ergebnisse zeigen aber deutlich, dass es möglich sein könnte, bei parthenogenetischen Arten wieder eine sexuelle Reproduktion zu aktivieren. Bei Milben wurde dieses als „reevolution of sexuality“ (DOMES et al. 2007) bezeichnet. Nach der postulierten phylogenetischen Beziehung in Kapitel 4 (Abb. 4-1), könnte diese „reevolution of sexuality“ auch bei Nematoden stattgefunden haben. Die paraphyletische Gattung *Plectus* pflanzt sich generell parthenogenetisch fort, während bei den Secernentea die gonochoristische Reproduktion verbreitet ist. Es wäre allerdings besser von einer Rückkehr zur gonochoristischen Reproduktion zu sprechen, da sie, wenn auch nicht praktiziert, auch bei parthenogenetischen Arten möglich scheint.

Eine andere mögliche Interpretation dieser „reevolution of sexuality“ ist, nicht die gonochoristische Reproduktion entstand neu oder besser entstand wieder, sondern die Parthenogenese ist mehrfach innerhalb der Plectidae entstanden.

Welche dieser Hypothesen wahrscheinlicher ist, lässt sich mit den vorliegenden Daten allerdings nicht klären, da beide Hypothesen große Änderungen in Reproduktion voraussetzen.

7 Reproduktionsstrategien

7.1 Einleitung

Bei frei lebenden Nematoden werden oft viele verschiedene Aspekte untersucht. Reproduziert die Art parthenogenetisch, hermaphroditisch oder gonochoristisch, wie läuft die Embryonal- oder Juvenilentwicklung ab, Abfolge der Zellentstehung oder auch die molekularen Enzymkaskaden? Grundlegende Punkte, wie die Lebensweise oder Reproduktionsraten werden meistens nicht untersucht. Es gibt nur wenige Untersuchungen zur z.B. Reproduktionsleitung und Dauer (MAUPAS 1900; SUDHAUS 1976; BÄRMANN 2007;) da diese sehr zeitaufwendig und arbeitsintensiv sind.

BÄRMANN (2007) zeigte bei verschiedenen *Myolaimus*-Arten, dass die Nachkommen in ihrer Anzahl stark unterschiedlich sein können, aber der Reproduktionsmodus trotzdem gleich ist. Die Reproduktion folgt einer Sättigungskurve, welche ihren größten Anstieg in den ersten Tagen hat und anschließend abflacht, bis keine Reproduktion mehr stattfindet. Sie zeigt auch, dass die Arten nach der reproduktiven Phase noch weiterleben.

Mit solchen Daten kann man im Vergleich anschließend auch eine spezifische Strategie für jede Art postulieren. Dabei handelt es sich um eine Einteilung in die r- und K-Strategie. r-Strategen reproduzieren viel, investieren wenig in das Überleben eines Nachkommens und leben oft in schnell veränderlichen Habitaten. K-Strategen reproduzieren weniger, investieren mehr Energie in das Überleben eines Nachkommens und leben in konstanteren Habitaten (BEGON et al. 1996). Diese Einteilung ist allerdings nur im direkten Vergleich der Arten sinnvoll, da der Übergang von r- nach K-Strategen kontinuierlich ist.

Bei den Plectiden gibt es zur Reproduktionsleistung keinerlei Erkenntnisse.

7.2 Material und Methode

Die Überprüfung der Reproduktionsstrategien an Hand der Eiablage rate wurde an sieben Plectus-Arten aus acht Isoalaten durchgeführt: *P. minimus* (RSB020), *P. geophilus* (RSB025), *P. acuminatus* (RSB007 & RSB015), *P. aquatilis* (RSB008), *P. cirratus* (RSB005), *P. velox* (RSB010) und *P. spec.* (RSB003). Des Weiteren wurde ein *Anaplectus spec.* (RSB004) auf sein Reproduktionsverhalten hin untersucht (Tab. 7-1).

Für die Testreihe wurde mit Weibchen gearbeitet, welche sich in der Häutung vom j4-Stadium zum adulten Tier befanden. Bei der Untersuchung wurden drei verschiedene Methoden angewendet.

Methode 1: Die Weibchen wurden einzeln in mit NGM angereicherten Wassertropfen kultiviert. Die adulten Individuen wurden bis zu ihrem Tode täglich in einen neuen Tropfen überführt. Die alten Tropfen wurden täglich nach Eiern und Juvenilen durchgesehen.

Methode 2: Jedes Individuum wurde einzeln auf eine Agarplatte aus 1,8%igen Wasseragar mit einem Durchmesser von 5 cm kultiviert. Die Nährstoffzugabe erfolgte einmalig zu Beginn über ein Stückchen NGM-Agar. Die Kulturen wurden bei 20°C (\pm 2°C) gehalten. Die Kulturen wurden im wöchentlichen Rhythmus nach Eiern und Juvenilen durchgesehen, welche der Kultur entnommen und anderweitig kultiviert wurden.

Methode 3: Jeweils ein Weibchen wurde mit vier bis fünf Männchen auf einer Agarplatte aus 1,8%igen Wasseragar kultiviert. Die Kulturen wurden bei 20°C (\pm 2°C) gehalten. Die Kulturen wurden im wöchentlichen Rhythmus nach Eiern und Juvenilen durchgesehen, welche der Kultur entnommen und anderweitig kultiviert wurden. Verstorbene Männchen wurden durch lebende ersetzt.

Für die Zuordnung der Art zur gewählten Methode und Anzahl der Ansätze siehe Tab. 7-1.

Tab. 7-1 Übersicht über die Arten und die entsprechend angewendete Methode

Art	Isolat	Methode	N Ansätze
<i>Plectus spec.</i>	(RSB003)	1	11
<i>Plectus minimus</i>	(RSB020)	1	13
<i>Plectus geophilus</i>	(RSB025)	1	11
<i>Plectus velox</i>	(RSB010)	2	14
<i>Plectus cirratus</i>	(RSB005)	2	12
<i>Plectus aquatilis</i>	(RSB008)	2	11
<i>Plectus acuminatus</i>	(RSB007)	2	17
<i>Plectus acuminatus</i>	(RSB007)	3	9
<i>Anaplectus spec.</i>	(RSB004)	2	17

7.3 Ergebnisse

Tab. 7-2 Übersicht der innerartlichen Variation bei verschiedenen Arten bezüglich der A: Lebensdauer nach der letzten Häutung; B: reproduktiven Phase; C: Anzahl an Nachkommen und D: Durchschnittliche Anzahl an produzierten Nachkommen pro Individuum und Tag bzw. Woche; (Ø) Durchschnittswerte

	Lebensdauer der ♀ in Tagen (Ø)	reprod. Tage (Ø)	Nachkommen (Ø)	Nachkommen pro reprod. Tage (T) / Woche (W) (Ø)
<i>Plectus spec.</i> RSB003	11-36 (29,2)	11-31 (22,9)	121-288 (200)	6,1-11,0 (8,5) T
<i>Plectus minimus</i>	15-31 (22,7)	10-17 (13,2)	44-80 (60)	3,6-5,3 (4,6) T
<i>Plectus geophilus</i>	21-35 (28,5)	11-23 (17,5)	25-55 (44)	2,3-2,9 (2,5) T
<i>Plectus velox</i>	63-238 (149,6)	63-168 (112,5)	8-46 (24)	0,9-2,0 (1,5) W
<i>Plectus cirratus</i>	77-224 (141,2)	77-161 (103,3)	12-55 (30)	0,8-3,1 (2,0) W

<i>Plectus aquatilis</i>	70-231 (140,6)	49-175 (116,5)	10-60 (38)	0,9-3,5 (2,4) W
<i>P. acuminatus</i>	35-133 (87,7)	28-84 (56,4)	4-84 (54)	0,8-7,7 (5,0) W
<i>P. acuminatus</i> ♂	42-112 (77,0)	42-77 (57,6)	21-73 (47)	2,3-8,0 (5,7) W
<i>Anaplectus spec.</i>	56-210 (137,9)	56-154 (113,2)	3-22 (10)	0,3-1,1 (0,6) W

Plectus spec. RSB003 (Abb. 7-1; Tab. 7-2)

Bei dieser Art leben die Adulten noch bis zu 36 Tage in den Tropfen, wonach durchschnittlich an 22,9 Tagen eine Reproduktion stattfindet, es gibt bis zu 288 (\bar{O} 200) Nachkommen. Alle Individuen besitzen eine recht gleichmäßige Tagesreproduktionsrate (\bar{O} 8,5), welche erst kurz vor Ende der Reproduktionsphase langsam abnimmt. Nach der Reproduktionsphase leben die meisten Individuen noch mehrere Tage.

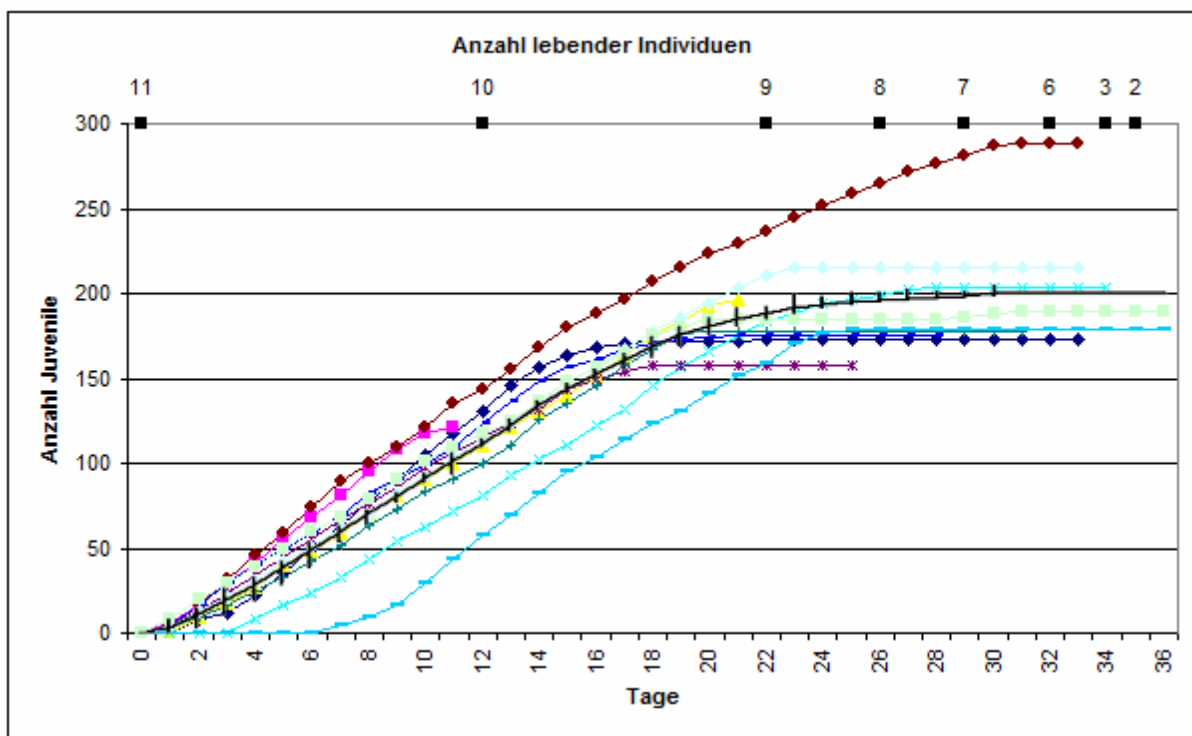


Abb. 7-1 -Ablageverhalten *Plectus spec.* RSB003: farbig: individuelle Eiablage rate jedes Individuums; schwarz: durchschnittliche Eiablage rate mit Variation pro Tag.

Plectus minimus (Abb. 7-2; Tab. 7-2)

Adulte Individuen besitzen durchschnittlich eine 13tägige reproduktive Phase. Nach Abschluss der Reproduktion leben die meisten Individuen noch einige Tage (15-31 Tage). Die Tagesreproduktionsrate liegt bei durchschnittlich 4,6 Juvenilen, die durchschnittliche Gesamtnachkommenschaft liegt bei 60 (44-80) Individuen.

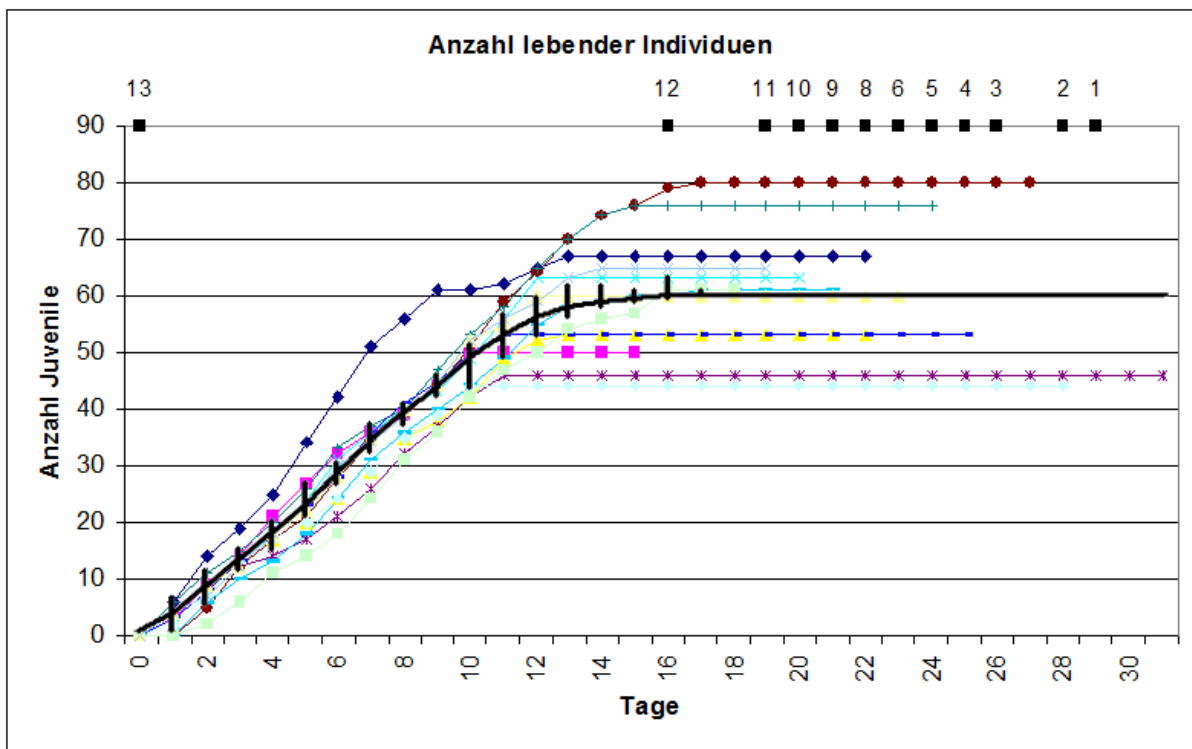


Abb. 7-2 Ei-Ablageverhalten *Plectus minimus*: farbig: individuelle Eiablage rate jedes Individuums; schwarz: durchschnittliche Eiablage rate mit Variation pro Tag.

Plectus geophilus (Abb. 7-3; Tab. 7-2)

Die Lebensdauer nach der letzten Häutung beträgt bei dieser Art 21-35 Tage, wovon an den ersten 11-23 Tagen eine Reproduktion stattfindet. Die Tagesreproduktionsrate liegt bei allen Individuen zwischen zwei und drei Juvenilen pro Tag, die gesamte Reproduktion liegt zwischen 25-55 Nachkommen.

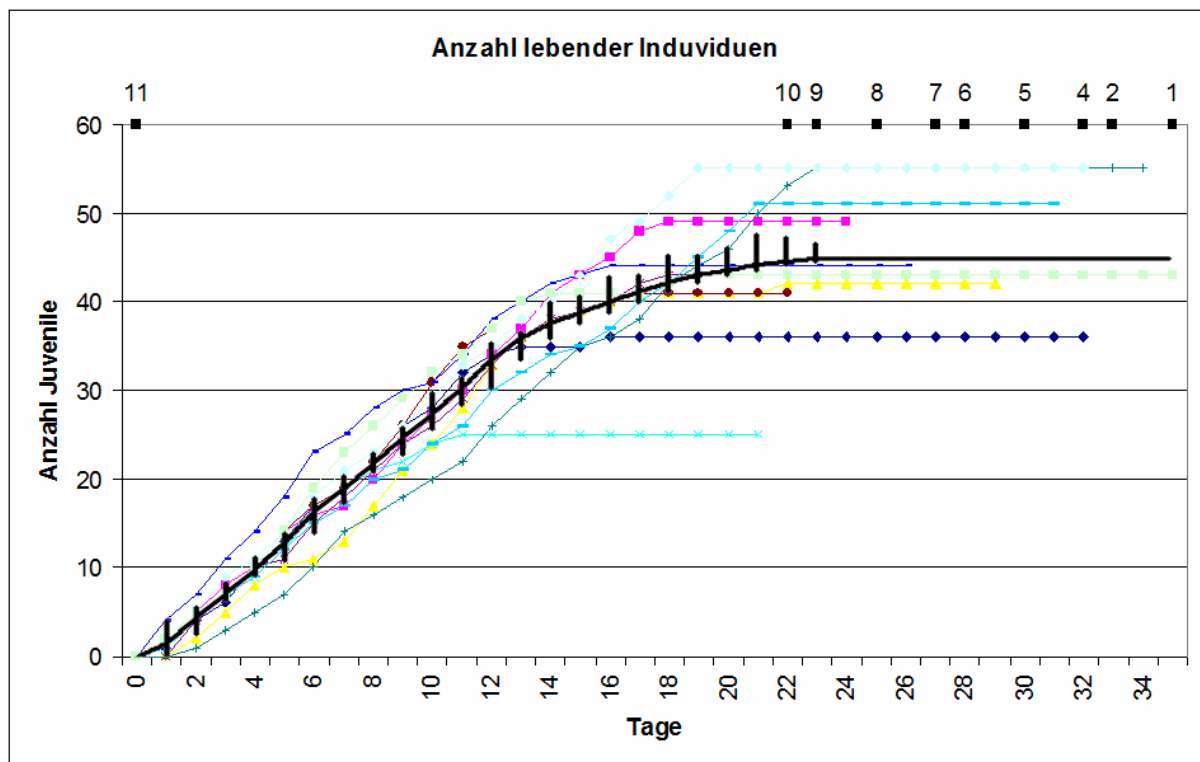


Abb. 7-3 Ei-Ablageverhalten *Plectus geophilus*: farbig: individuelle Eiablage rate jedes Individuums; schwarz: durchschnittliche Eiablage rate mit Variation pro Tag.

Plectus velox (Abb. 7-4; Tab. 7-2)

Die Individuen leben nach der letzten Häutung bis zu 238 Tage. Die Nachkommenzahl beträgt im Durchschnitt 24 Tiere, welche über einen Zeitraum von 63-168 Tagen produziert werden. Die wöchentliche Reproduktionsrate liegt bei maximal zwei Individuen.

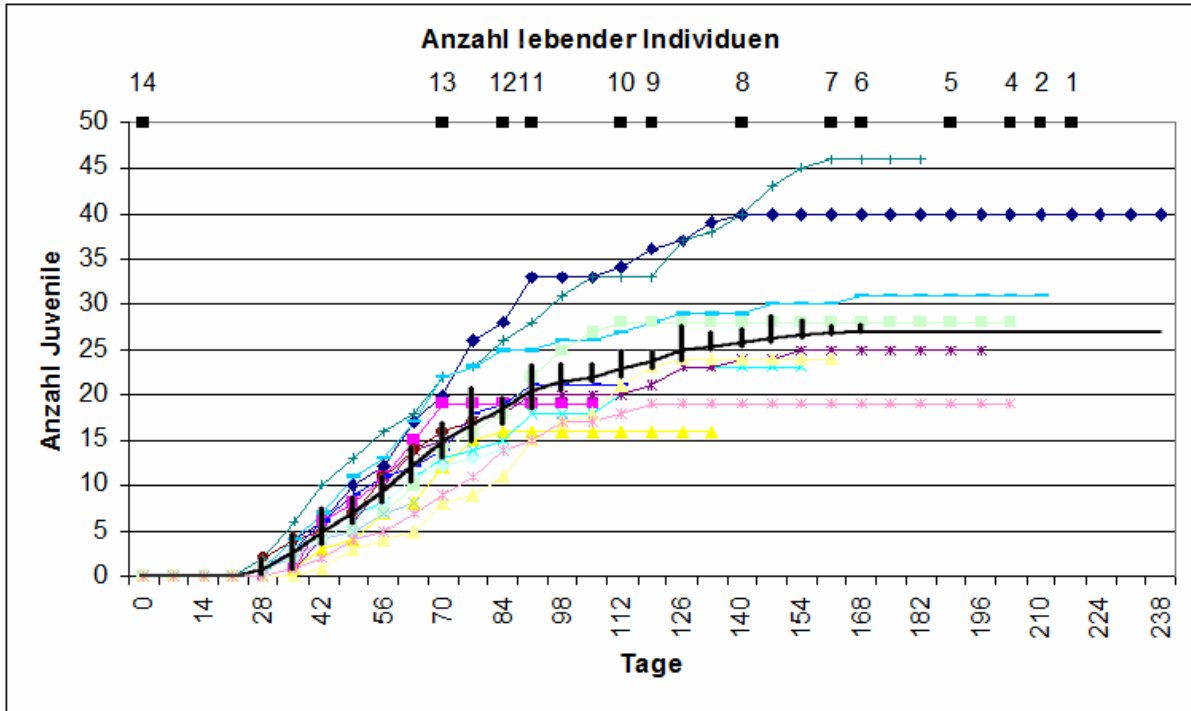


Abb. 7-4 Ei-Ablageverhalten *Plectus velox*: farbig: individuelle Eiablage rate jedes Individuums; schwarz: durchschnittliche Eiablage rate mit Variation pro Tag.

Plectus cirratus (Abb. 7-5; Tab. 7-2)

Die Individuen leben nach der letzten Häutung noch 77-224 Tage und produzieren in 77-161 reproductiven Tagen zwischen 12-55 Nachkommen, welches durchschnittlich zwei Individuen in der Woche entspricht.

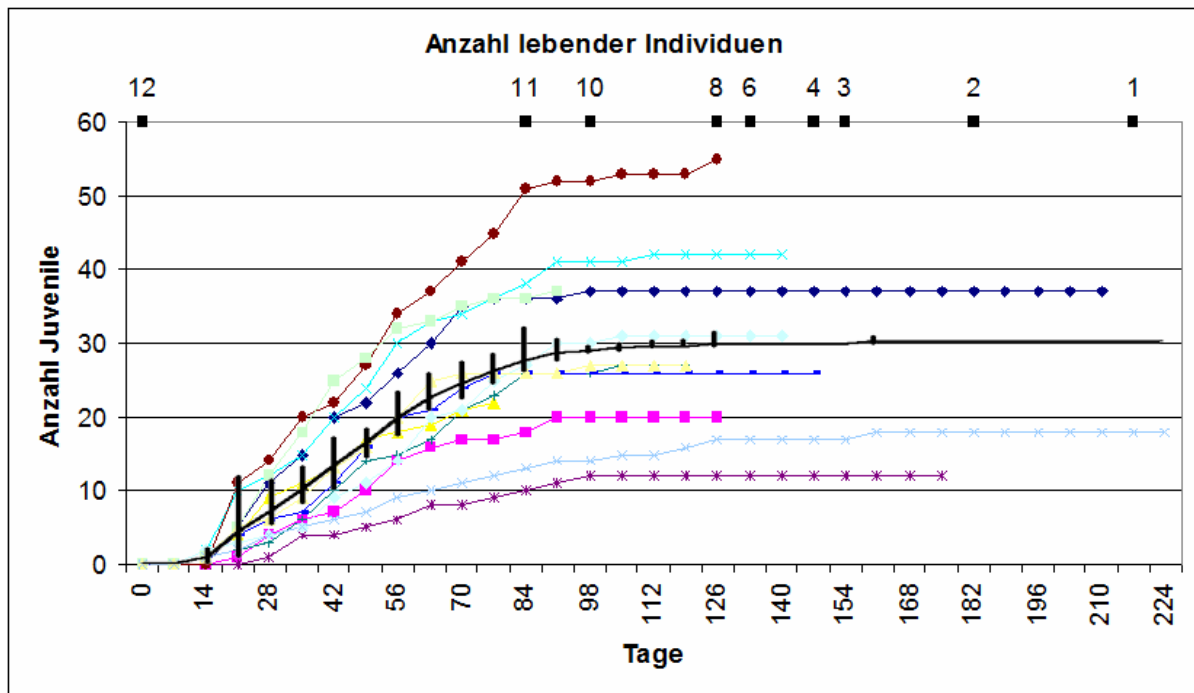


Abb. 7-5 Ei-Ablageverhalten *Plectus cirratus*: farbig: individuelle Eiablage rate jedes Individuums; schwarz: durchschnittliche Eiablage rate mit Variation pro Tag.

Plectus aquatilis (Abb. 7-6; Tab. 7-2)

Die adulten Individuen leben nach der letzten Häutung noch bis zu 231 Tage, wovon 49-175 Tage für die Reproduktion genutzt werden. Die Nachkommenzahl liegt zwischen 4 und 84 Tieren, das sind ungefähr vier Nachkommen pro Woche sind

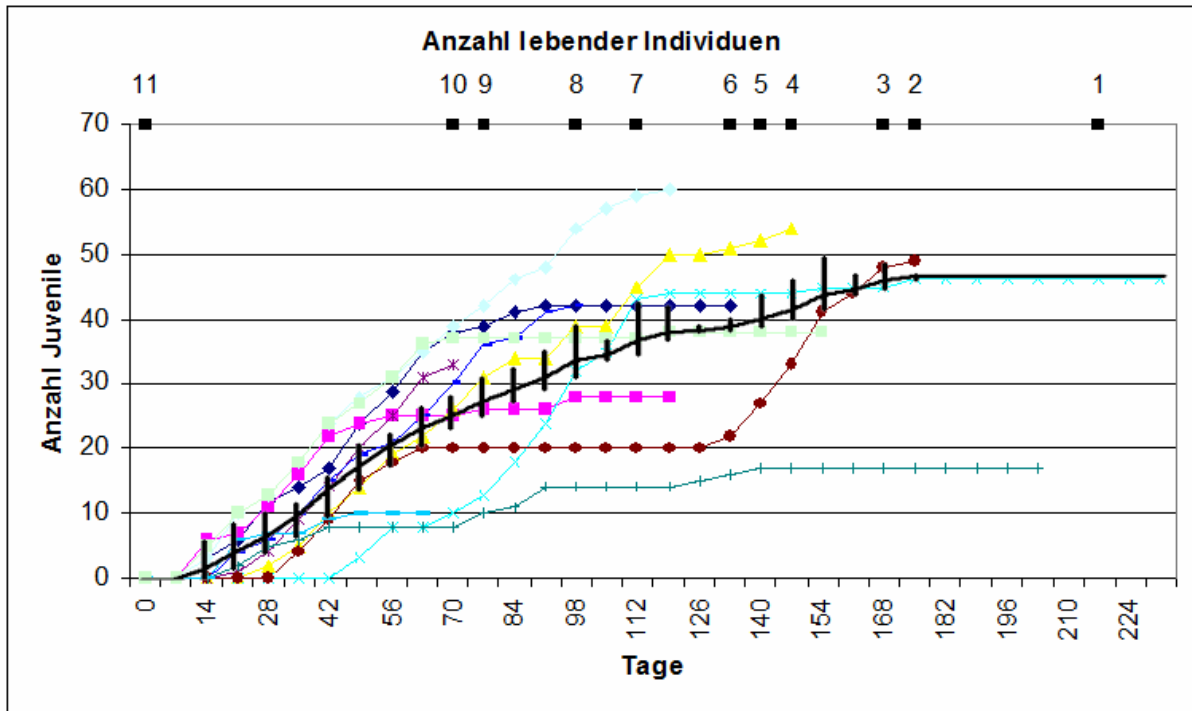


Abb. 7-6 Ei-Ablageverhalten *Plectus aquatilis*: farbig: individuelle Eiablage rate jedes Individuums; schwarz: durchschnittliche Eiablage rate mit Variation pro Tag.

Plectus acuminatus (Abb. 7-7; Tab. 7-2)

Die Weibchen dieser Art zeigen bei einer rein parthenogenetischen Fortpflanzung eine Überlebenszeit nach der letzten Häutung von maximal 133 Tagen, durchschnittlich 87,7 Tagen. In der reproduktiven Phase, sie dauert zwischen 28-84 Tage, werden wöchentlich durchschnittlich fünf Nachkommen produziert. Es wurden maximal 84 (\bar{O} 56,4) Nachkommen produziert.

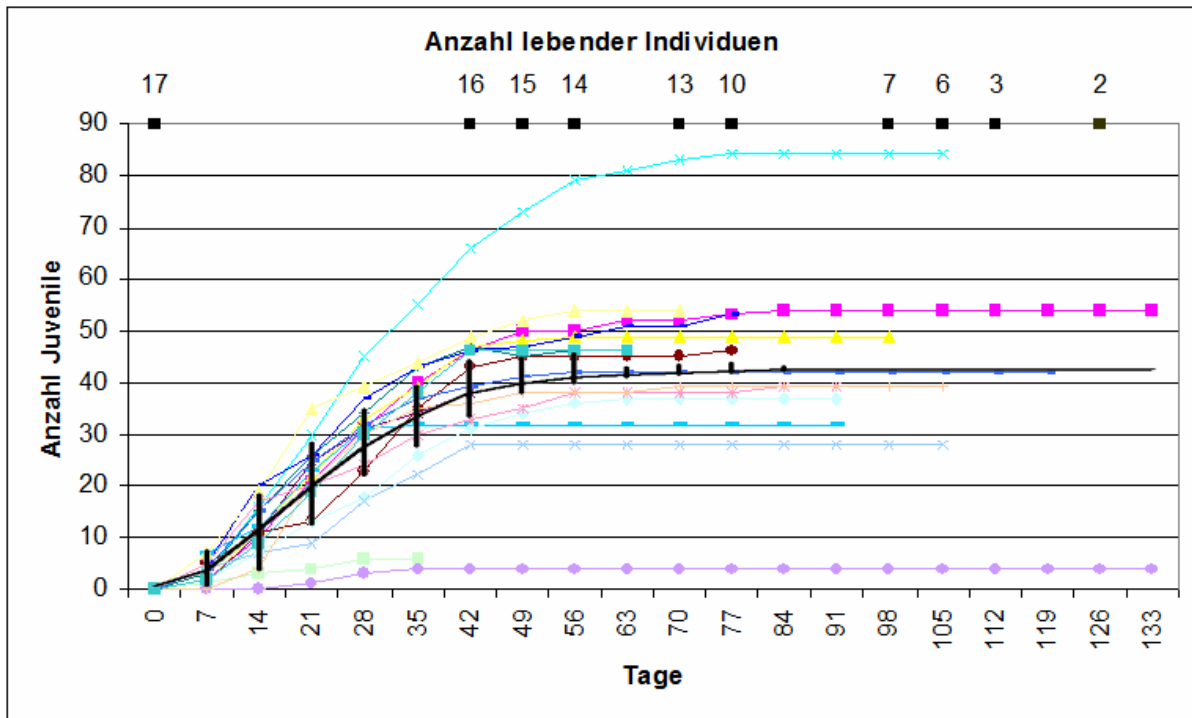


Abb. 7-7 Ei-Ablageverhalten *Plectus acuminatus*: farbig: individuelle Eiablage rate jedes Individuums; schwarz: durchschnittliche Eiablage rate mit Variation pro Tag.

Plectus acuminatus ♂ (Abb. 7-8; Tab. 7-2)

Die Art zeigt bei einer Kombination aus parthenogenetischer und gonochoristischer (Männchen in der Nachkommenschaft) Fortpflanzung eine Lebensdauer der Weibchen nach der Adulthäutung von bis zu 112 Tagen. In der bis zu 77tägigen Reproduktionsphase werden bis zu 73 Nachkommen produziert.

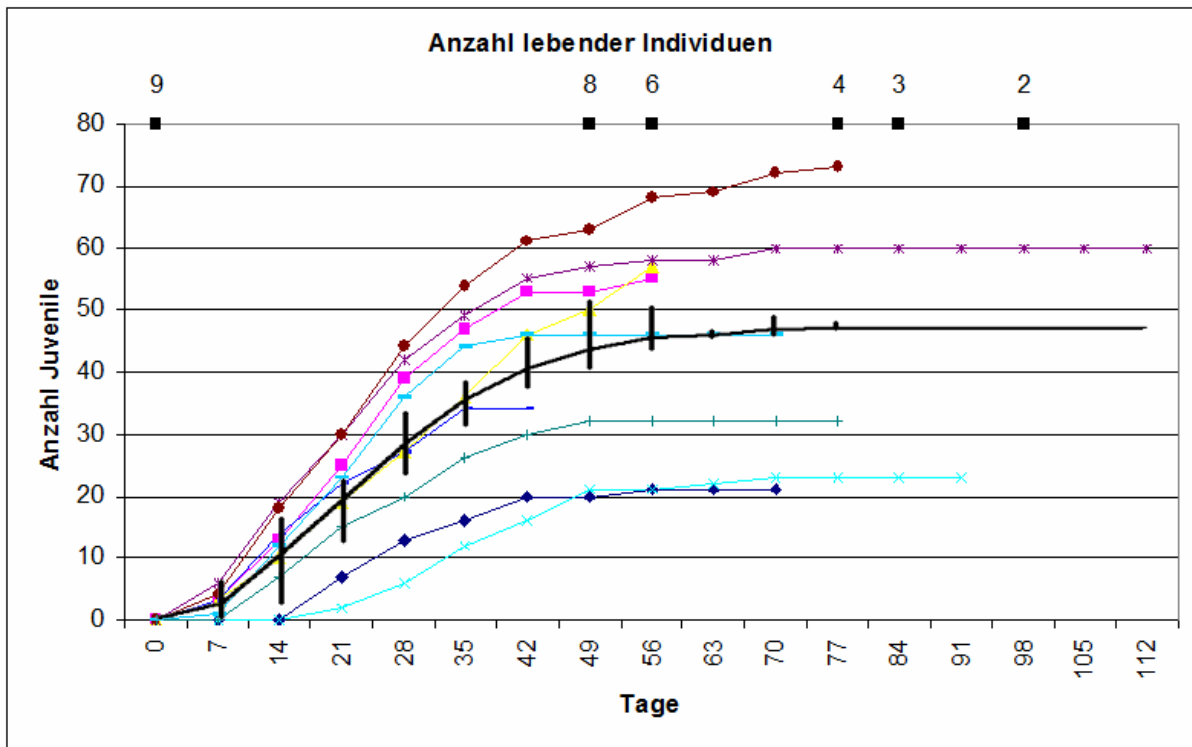


Abb. 7-8 Ei-Ablageverhalten *Plectus acuminatus* ♂: farbig: individuelle Eiablage rate jedes Individuums; schwarz: durchschnittliche Eiablage rate mit Variation pro Tag.

Anaplectus spec. (Abb. 7-9; Tab. 7-2)

Die Weibchen dieser Art hatten nach der Adulthäutung eine durchschnittliche Lebensdauer von 138 Tage mit 113 reproductiven Tagen. In dieser Zeit erzeugen sie durchschnittlich alle 1-2 Wochen einen Nachkommen. Die durchschnittliche Anzahl an Nachkommen liegt bei 10, das ermittelte Maximum bei 22.

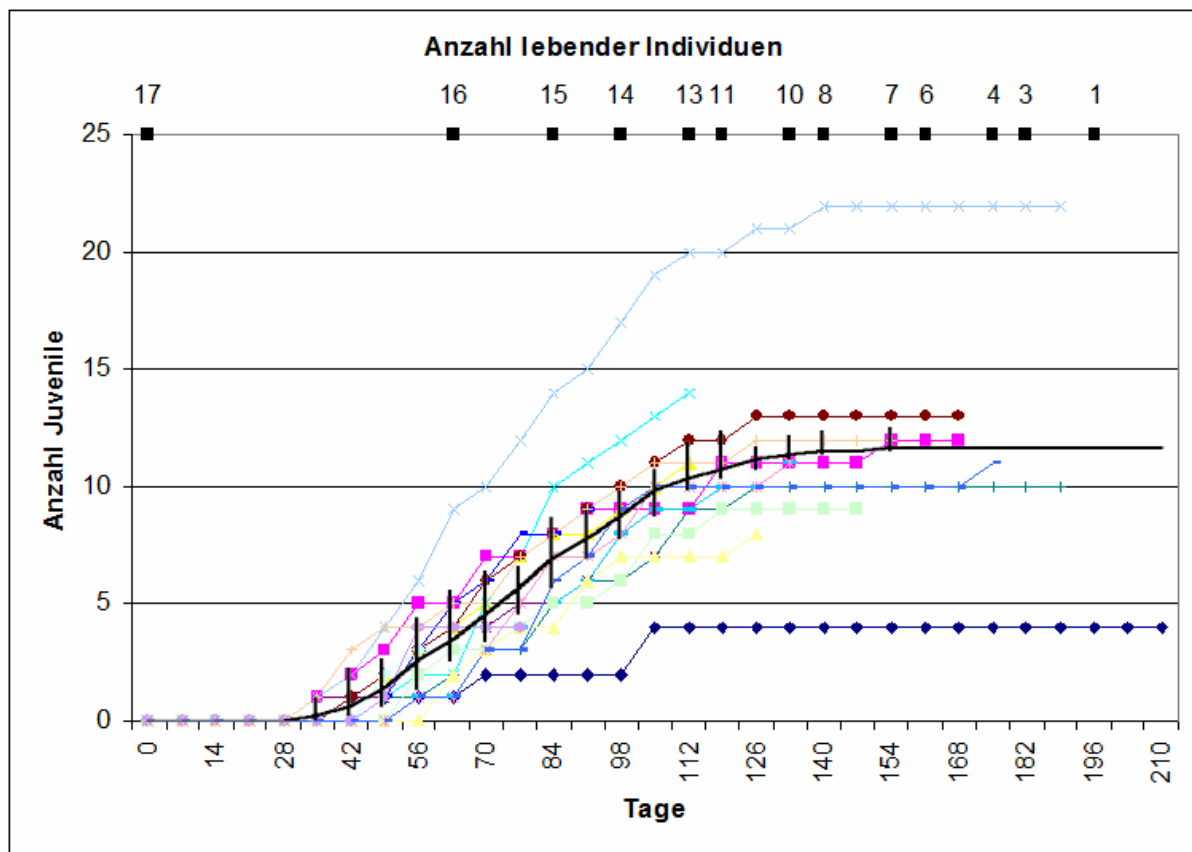


Abb. 7-9 Ei-Ablageverhalten *Anaplectus spec.*: farbig: individuelle Eiablagerrate jedes Individuums; schwarz: durchschnittliche Eiablagerrate mit Variation pro Tag.

7.4 Diskussion

Ein Vergleich der durchschnittlichen Reproduktion aller untersuchten Arten weist unter den gegebenen Bedingungen auf unterschiedliche Reproduktionsstrategien hin (Abb. 7-10). Es gibt Arten, welche eine r-Strategie verfolgen, während andere Arten der K-Strategie zuzuordnen sind. Ein Vertreter der r-Strategie wäre *Plectus spec.*, welcher eine recht kurze Lebensdauer im adulten Stadium zeigt, aber die höchste Anzahl an Nachkommen produziert. Zu Vertretern der r-Strategie können auch *Plectus minimus* und *P. geophilus* gerechnet werden. Als K-Strategen sind die Arten *Plectus cirratus*, *P. aquatilis*, und *P. velox* zu nennen. Sie produzieren quantitative zwar nicht viel weniger Nachkommen als *P. geophilus*,

allerdings ist die durchschnittliche Lebensdauer im adulten Stadium mehr als viermal so lange. *Anaplectus spec.* ist eine weitere Art, welche von den untersuchten Arten, eindeutig den K-Strategen zuzuordnen ist. Die Dauer des adulten Stadiums ist im Verhältnis sehr lang, und mit durchschnittlich nur 10 Nachkommen ist die Reproduktionsrate sehr niedrig. Die einzige nicht einzuordnende Art ist *P. acuminatus*. Ihre Lebensdauer im adulten Stadium, ebenso wie die Reproduktionsrate, liegt bei beiden Ansätzen zwischen den als K- und r-Strategen klassifizierten Arten.

Ein Vergleich der Art *P. acuminatus* bei den unterschiedlichen Methoden weist keine Unterschiede auf. Die Männchen scheinen keinen Einfluss auf die reproduktive Phase oder die Nachkommenzahl zu haben.

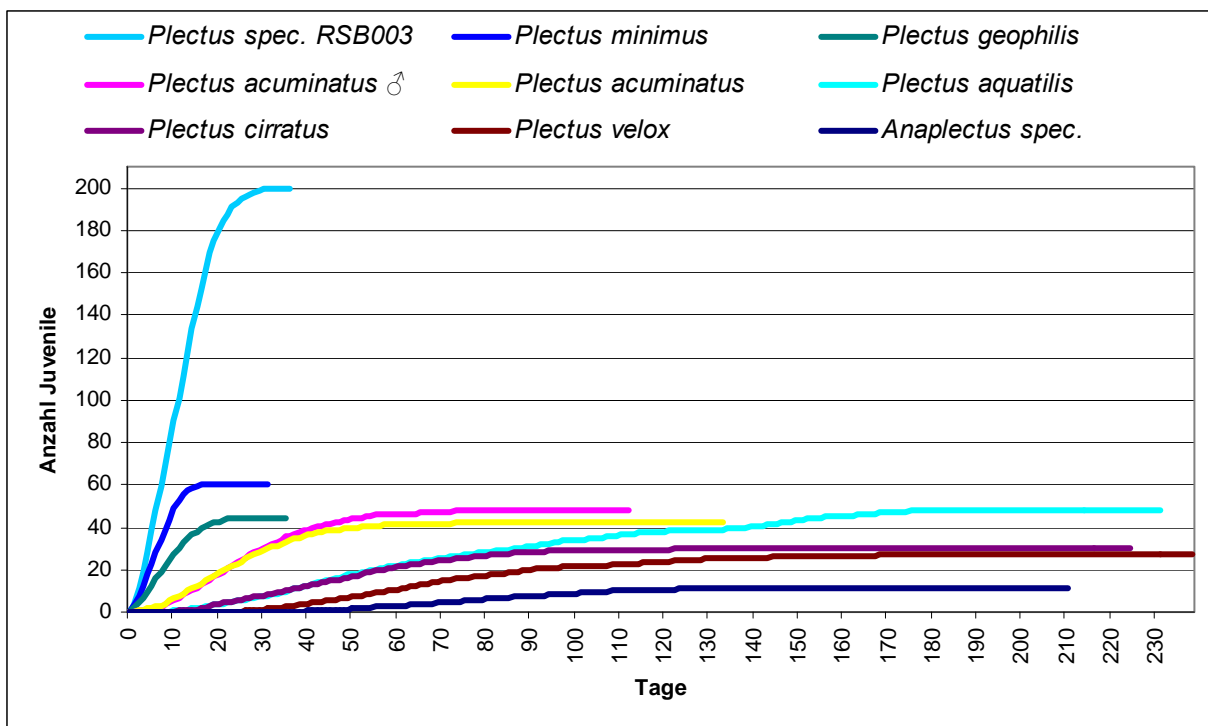


Abb. 7-10 Durchschnittliche Eiablagen aller untersuchten Arten.

Eine Zuordnung der Arten zu bestimmten Reproduktionsstrategien ist natürlich nur im Vergleich der hier untersuchten Arten bei den gegebenen Bedingungen möglich. Es ist deshalb nicht auszuschließen, dass für einige Arten optimale Bedingungen geherrscht haben, für andere nicht und auf Grund dessen eine nicht optimale Reproduktionsrate ermittelt wurde. Da allerdings alle Arten nach der reproduktiven Phase noch gelebt haben, könnte dieses als Hinweis gedeutet werden, dass die maximale Reproduktion erfolgt ist und es zumindest dafür akzeptable bis optimale Bedingungen waren.

Bei der Annahme optimaler Bedingungen zeigt der Vergleich, dass ein Zusammenhang zwischen der Strategie mit der Körperlänge bestehen könnte. Bei den r-Strategen sind die

adulten Individuen im Durchschnitt kleiner als 500µm, bei den K-Strategen über 1000µm. Die Art *P. acuminatus*, welche zwischen beiden Strategien steht, liegt auch mit ihrer Körperlänge von durchschnittlich ~850µm zwischen beiden Gruppen.

Eine Erklärung für eine höhere Reproduktionsrate kleiner *Plectus*-Arten könnte sein, dass diese eher und in größerer Anzahl gefressen werden. BOLLY (2001) zeigte unter Laborbedingungen an *Dugesia gonocephala*, dass diese, bei gleicher zeitlicher und mengenmäßiger Verfügbarkeit, fast doppelt so viele juvenile wie adulte *Caenorhabditis elegans* gefressen haben.

Neben den Größenunterschieden gibt es auch noch eine weitere Investition der größeren Arten in die Nachkommenschaft. Die Eier der K-Strategen besitzen alle Oberflächenstrukturen, welche als Fraßschutz dienen könnten (Kapitel 2).

Bei den Plectiden lässt sich mit diesen Ergebnissen zumindest feststellen, dass Unterschiede in der maximalen Reproduktionleistung existieren, die aber nicht sehr deutlich sind. Ein viel gravierender Unterschied ist die Geschwindigkeit, mit der produziert wird. Die r-Strategen produzieren in 24h mehr Nachkommen, als die K-Strategen in 168h (1Woche) (Tab. 7-2). Dieses macht deutlich, dass unterschiedliche Strategien im Überleben verfolgt werden.

8 Phylogenetische Analyse

8.1 Einleitung

Bei Untersuchungen zur Phylogenie von Nematoden zeigen sich viele unterschiedliche und teilweise widersprüchliche Ergebnisse in Bezug auf *Plectus* und die Plectidae. Dieses hat sicherlich den Grund, dass noch nicht einmal ein Konsensus herrscht, ob *Plectus* oder die Plectidae überhaupt eine monophyletische Einheit bilden.

Viele Autoren (ZELL 1993; BLAXTER et al. 1998; BLAXTER 2001; HOLTERMAN 2004 (Tagungsbeitrag und persönlich); HOLTERMAN et al. 2006; HOLOVACHOV 2006) sehen die Plectidae als eine monophyletische Gruppe. Dabei ist allerdings zu beachten, dass die Grundvoraussetzungen zu dieser Aussage sehr unterschiedlich sind. BLAXTER et al (1998) und BLAXTER (2001) beziehen sich in ihrer molekularen Analyse auf nur zwei morphologisch ähnliche *Plectus*-Arten (*P. aquatilis* und *P. acuminatus*). ZELL (1993) und HOLOVACHOV (2006) vergleichen zwar morphologisch unterschiedliche Plectidae, nehmen allerdings keinen Bezug auf mögliche Außen- oder Innengruppenvertreter. Nur HOLTERMAN (2004) vergleicht molekular verschiedenste Vertreter der Plectidae in einem Stammbaum der Nematoda und findet eine monophyletische Gruppe.

Bei der Phylogenie von *Plectus* gibt es bei den Verfechtern der monophyletischen Plectidae aber auch keinen Konsens. ZELL (1993) und HOLTERMAN (2004) sehen „*Plectus*“ als paraphyletisch, die Wilsonematinae, als Innengruppe. ZELL (1993) stellt noch *Ceratoplectus* als Schwestertaxon zu den Wilsonematinae. Holovachov (2006) kommt in der Computerkladistik ebenfalls zu Stammbäumen mit einem paraphyletischen „*Plectus*“. Die Innengruppe besteht bei ihm aus *Ceratoplectus* und den Wilsonematinae. Allerdings verwirft er diese Analysen und postuliert *Plectus* als Monophylum mit einem Schwestertaxon aus *Ceratoplectus* und Wilsonematinae.

Für eine Paraphylie der Plectidae und „*Plectus*“ spricht sich FÜRST VON LIEVEN (2003) aus. Er postuliert auf Grund des Baus und der Funktion des Klappenapparates eine Paraphylie, mit den Secernentea als Innengruppe.

8.2 Material und Methode

Die phylogenetische Analyse der Merkmalsmatrix mit 21 Taxa und 32 Merkmalen wurde mit den Programmen Nona und Paup 4 beta 10 durchgeführt.

Bei allen Analysen sind die Merkmale gleich gewichtet.

Die verwendeten Merkmale und deren Merkmalszuständen sind in Tab. 8-1 aufgeführt.

Tab. 8-1 Verwendete Merkmale und ihre verschiedenen Ausprägungen.

- 1 Seitenfeld: 0 = nicht vorhanden, 1 = vorhanden;
- 2 Seitenfeld besteht aus: 0 = zwei, 1 = drei Längsleisten;
- 3 Subepidermaldrüsen 0 = nicht vorhanden, 1 = vorhanden;
- 4 Subepidermaldrüsen: 0 = bei vereinzelt Individuen auftretend, 1 = immer vorhanden;
- 5 Cephalic setae borstenartig vorhanden: 0 = nein, 1 = ja;
- 6 Körperborsten vorhanden: 0 = nein 1 = ja;
- 7 nur Schwanzborsten vorhanden: 0 = nein 1 = ja;
- 8 Lippenstruktur: 0 = einfach, 1 = kronenförmig;
- 9 Cervicallflügel vorhanden: 0 = nein, 1 = ja;
- 10 Seitenorgan: 0 = rund, 1 = quer, schlitzförmig, 2=ösenförmig;
- 11 Sensille (Deriden) hinter Amphid: 0 = nein 1 = ja;
- 12 Endbulbus vorhanden: 0 = nein, 1 = ja;
- 13 Mittelbulbus vorhanden,: 0 = nein, 1 = ja;
- 14 Lange Cardia: 0 = nein, 1 = ja;
- 15 Cardia: 0 = geschlossen, 1 = offen;
- 16 Vaginale Ringstruktur: 0 = nicht vorhanden 1 = einer, 2=zwei;
- 17 Epiphygmata vorhanden: 0 = nein, 1 = ja;
- 18 Klappenapparat vorhanden: 0 = nein 1 = ja;
- 19 Klappenapparat: 0 = rhabditisartig, 1 = parietinusartig;
- 20 Ei-Kutikula: 0 = glatt, 1 = ornamentiert;
- 21 Ei-Stacheln arkadenartig verschmolzen: 0 = nein, 1 = ja;
- 22 Phasmiden vorhanden: 0 = nein, 1 = ja;
- 23 Derid vorhanden: 0 = nein, 1 = ja;
- 24 Derid borstenartig: 0 = nein, 1 = ja;
- 25 Postderid vorhanden: 0 = nein, 1 = ja;
- 26 Exkretionskanal mit Schleife: 0 = nein, 1 = ja;
- 27 Exkretionsgangschleife: 0 = einfach, 1 = doppelt;
- 28 Klappenapparat j1: 0 = endgültige Form, 1 = Zwischenform;
- 29 Parthenogenetische Fortpflanzung: 0 = nein, 1 = ja;
- 30 Gonadenanlage: 0 = einfach, 1 = doppelt;
- 31 Schwanzdrüsen vorhanden: 0 = nein, 1 = ja;
- 32 Drüsenausführgang vorhanden: 0 = nein, 1 = ja;

8.3 Ergebnis

Die phylogenetische Analyse mit Nona ergibt fünf gleich sparsame Bäume. Der daraus resultierende Strikt-Konsensus-Baum ist in Abb. 8-1 dargestellt.

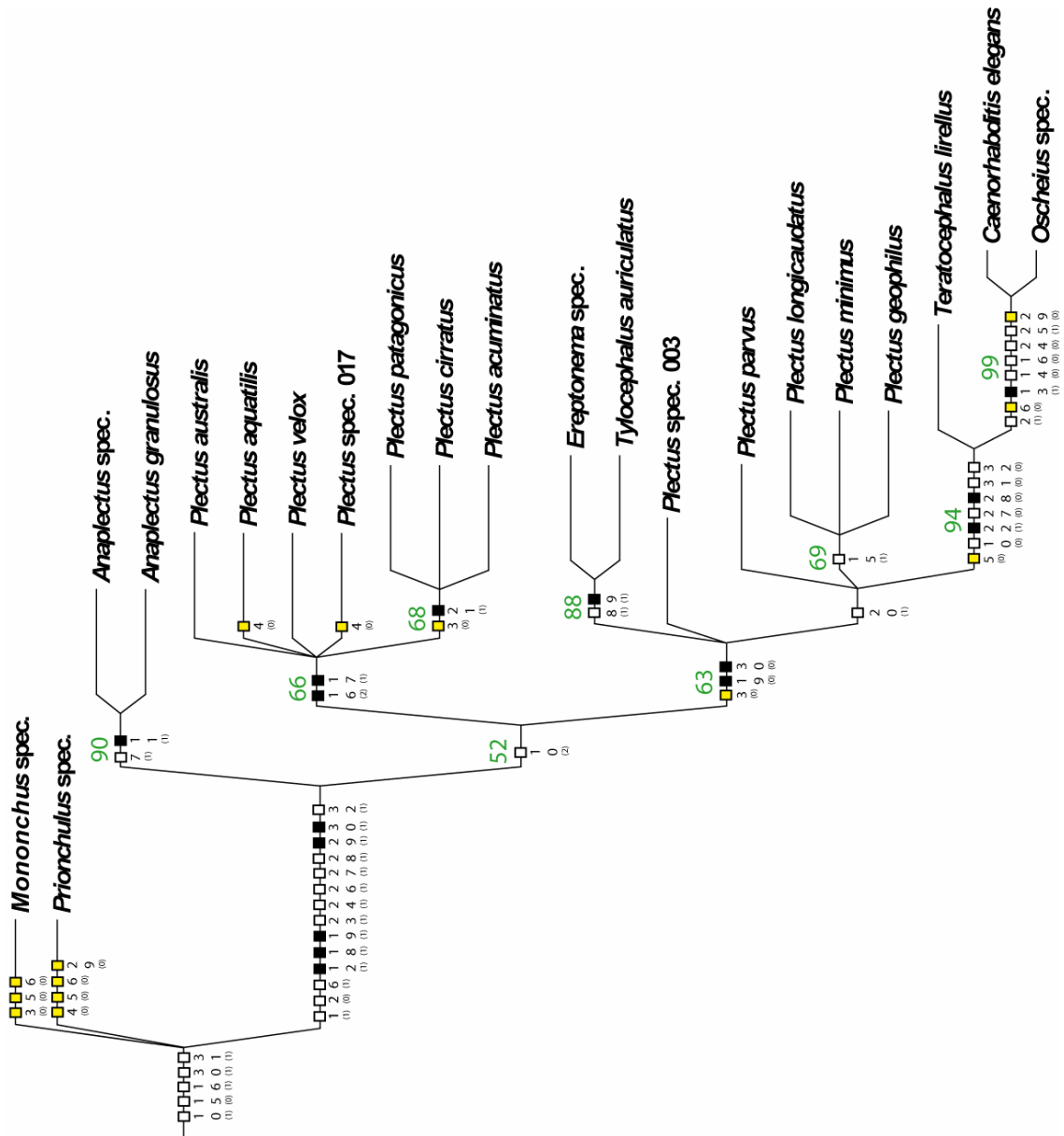


Abb. 8-1 Strict-Konsensus-Baum der phylogenetischen Analyse mit eingetragenen Merkmalen = □ (Füllung schwarz = Apomorphie, Füllung gelb = Merkmalszustand tritt unabhängig von einander auf), Zahlen unterhalb der Merkmale □ geben die Merkmalsnummer an (zweistellige Zahlen sind untereinander geschrieben), Zahlen in Klammern den Merkmalszustand, grüne Zahlen den Bootstrap-Wert; 1 Seitenfeld: 0 = nicht vorhanden, 1 = vorhanden; 2 Seitenfeld besteht aus: 0 = zwei, 1 = drei Längsleisten; 3 Subepidermaldrüsen 0 = nicht vorhanden 1 = vorhanden; 4 Subepidermaldrüsen: 0 = bei vereinzelt Individuen auftretend, 1 = immer vorhanden; 5 Cephalic setae borstenartig vorhanden: 0 = nein, 1 = ja; 6 Körperborsten vorhanden: 0 = nein 1=ja; 7 nur Schwanzborsten vorhanden: 0 = nein 1=ja; 8 Lippenstruktur: 0 = einfach, 1 = kronenförmig; 9 Cervicalflügel vorhanden: 0 = nein, 1 = ja; 10 Seitenorgan: 0 = rund, 1 = quer, schlitzförmig, 2=ösenförmig; 11 Sensille (Deriden) hinter Amphid: 0 = nein 1=ja; 12 Endbulbus vorhanden: 0 = nein, 1 = ja; 13 Mittelbulbus vorhanden.; 0 = nein, 1 = ja; 14 Lange Cardia: 0 = nein, 1 = ja; 15 Cardia: 0 = geschlossen, 1 = offen; 16 Vaginale Ringstruktur: 0 = nicht vorhanden, 1= einer, 2 = zwei; 17 Epiphygmata vorhanden: 0 = nein, 1 = ja; 18 Klappenapparat vorhanden: 0 = nein 1 = ja; 19 Klappenapparat: 0 = rhabditisartig, 1 = parietinusartig; 20 Ei-Kutikula: 0 = glatt, 1 = ornamentiert; 21 Ei-Stacheln arkadenartig verschmolzen: 0 = nein, 1 = ja; 22 Phasmiden vorhanden: 0 = nein, 1 = ja; 23 Derid vorhanden: 0 = nein, 1 = ja; 24 Derid borstenartig: 0 = nein, 1 = ja; 25 Postderid vorhanden: 0 = nein, 1 = ja; 26 Exkretionskanal mit Schleife: 0 = nein,1=ja; 27 Exkretionsgangschleife: 0 = einfach, 1 = doppelt; 28 Klappenapparat j1: 0 = endgültige Form, 1 = Zwischenform; 29 Parthenogenetische Fortpflanzung: 0 = nein, 1 = ja; 30 Gonadenanlage: 0 = einfach, 1 = doppelt; 31 Schwanzdrüsen vorhanden: 0 = nein, 1 = ja; 32 Drüsenausführgang vorhanden: 0 = nein, 1 = ja.

8.4 Diskussion

Der erstellte Konsensus-Baum (Abb. 8-1) zeigt eindeutig eine Paraphylie innerhalb der Gattung *Plectus* auf und widerspricht auch der Annahme einer Monophylie der Plectidae. Der Baum unterstützt damit das Postulat von FÜRST VON LIEVEN (2003), dass „*Plectus*“ und die Plectidae paraphyletisch sind.

Diese Aussage wird vor allem durch vier Merkmale (Abb. 8-1 Merkmale 16, 17, 19, 32) gestützt.

Die Merkmale 16 und 17 sind Apomorphien für eine monophyletische Beziehung der *Plectus*-Arten mit parietinusartigen Klappen, die Merkmale 19 und 32 für ein Monophylum von *Plectus*-Arten mit rhabditisartigen Klappen, Wilsonematinæ und Secernentea.

Besonders aussagekräftig sind die Merkmale 19, in Verbindung mit Merkmal 28, und 32, da es sich bei dem Klappenapparat, inklusive dessen Entwicklung, und der Gonadenentwicklung um komplexe Strukturen und Vorgänge handelt.

Diese Struktur des Klappenapparates (19) ist deshalb so gut geeignet, da sie in verschiedenen Ausprägungen vorliegt und unterschiedliche Entwicklungen (28) durchläuft. Der Klappenapparat besteht in seiner „einfachsten“ Form aus kutikularisierten Längsleisten, wie sie bei *Chronogaster* zu finden sind. (Da keine lebenden Individuen dieser Gruppe für Untersuchungen zur Verfügung standen, ist es nicht möglich zu sagen, ab welchem Entwicklungsstand die Klappen auftreten oder ob eine Formveränderung während der Entwicklung stattfindet, im adulten Tier besteht der Klappenapparat auf jeden Fall aus gezähnten Längsleisten.) Bei den Plectidae treten insgesamt drei unterschiedlich gestaltete Klappenapparat-Typen auf. Alle untersuchten Plectidae besitzen im ersten Juvenilstadium gezähnte Längsleisten, welche denen adulter *Chronogaster* gleichen. Ihre Lage und mikroskopische Struktur entsprechen sich so genau, dass ein gemeinsamer Ursprung als sehr wahrscheinlich angenommen werden kann.

In der weiteren Individual-Entwicklung bilden sich bei den Plectidae anschließend zwei unterschiedliche Klappenapparat-Typen aus. Der erste Typ besteht aus den parietinusartigen Klappen, welche bei einigen *Plectus*-Arten und bei *Anaplectus* vorkommen. Neben diesem hat sich ein weiterer, rhabditisartiger Typ etabliert. Innerhalb der Plectidae tritt dieser zweite Typ bei den Wilsonematinæ und bei einigen Vertretern von *Plectus* auf.

Bei der Annahme einer monophyletischen Gattung *Plectus*, muss einer dieser beiden Klappen-Typen als Reversion wieder entstanden sein. Solch eine Annahme ist allerdings recht unwahrscheinlich. Es ist viel wahrscheinlicher, und auch phylogenetisch sparsamer, von einer

Paraphylie der Gattung „*Plectus*“ auszugehen, vor allem, da die rhabditisartigen Klappen ebenfalls bei den Secernentea auftreten.

Ein anderes wichtiges Merkmal ist die Gonadenentwicklung. In *Plectus* findet man zwei unterschiedliche Entwicklungen. Einige Arten besitzen zwei Primordien andere nur eine Primordium. Es zeigt sich, dass bei den in der Gonadenentwicklung untersuchten Arten, zwei Primordien bei Arten mit parietinusartigen Klappen auftraten, auch bei *Anaplectus*. Ein Primordium wurde bei *Plectus*-Arten mit rhabditisartigen Klappen gefunden, wie auch bei dem secernenten *C. elegans*. Diese Befunde sprechen ebenfalls gegen eine Monophylie von *Plectus*, da sonst auch hier ebenfalls eine Reversion zu einem der beiden Typen stattgefunden haben muss.

Zwei mögliche unabhängige Revisionen komplexer Merkmale innerhalb eines Monophylums sind als sehr unwahrscheinlich anzusehen, des Weiteren ist es phylogenetisch keine sparsame Erklärung. Die Monophylie von *Plectus* ist deshalb abzulehnen.

Die Apomorphien (Abb. 8-1 Merkmale 16 & 17) für das Monophylum der *Plectus*-Arten mit parietinusartigen Klappen sind nicht ganz so komplex und befinden sich alle in der Vulva. Die ausgebildeten Epiphygmata (16) und die zwei vaginalen Ringstrukturen (17) sind nur von diesen *Plectus*-Arten bekannt. Hinweise auf eine weitere Verbreitung bei den Plectidae finden sich nicht, weder durch eigene Beobachtung, noch in der Literatur. Alle anderen untersuchten Plectidae besitzen kein Epiphygmata und nur eine Ringstruktur in der Vulva. Bei den vorliegenden Secernentea findet sich weder ein Epiphygmata noch eine Ringstruktur, dasselbe trifft auch auf *Teratocephalus lirellus* zu.

Diese vier Merkmale (16, 17, 19 & 32) lassen nur den Schluss zu, dass die Plectidae als Monophylum nicht zu halten sind und nur eine Paraphylie in Frage kommen kann.

Es gibt allerdings auch Merkmale, welche auf eine nahe Verwandtschaft der *Plectus*-Arten mit rhabditidis- und parietinusartigen Klappen deuten. Zum einen das Exkretionssystem (27), zweitens die Entstehung des Klappenapparates aus gezähnten Längsleisten (28) im J1-Stadiums.

Der Aufbau des Exkretionssystems mit zwei Schleifen um den Pharynx ist nur von den Plectidae in dieser Form bekannt. Bei allen untersuchten Plectidae ist das Exkretionssystem gleich aufgebaut und lässt sich mikroskopisch nicht unterscheiden. Auch in der Literatur gibt es keine Hinweise auf unterschiedliche Exkretionssysteme. Dieses könnte als Argument für eine Monophylie-Hypothese angesehen werden.

Auch das zweite Merkmal, welches für eine Monophylie sprechen könnte, die leistenartigen Klappen nur im J1-Stadium, sie besitzen ab dem J2-Stadium eine andere Form (28), wurde bei allen untersuchten Plectidae gefunden. In der Literatur gibt es keinen Hinweis auf diese Vorstufe bei anderen Gruppen, allerdings sind die Daten zur Entwicklung sehr spärlich.

Ein direkter Vergleich der Argumente für und gegen die Monophylie zeigt sich, dass bei einer angenommenen Monophylie der Plectidae, aber bei Paraphylie von *Plectus*, im phylogenetischen sparsamsten Fall mindestens eine Reversion beim Primordium (4-zellig > zwei 2-zellig) stattgefunden haben muss (Abb. 8-2 A). Wenn nun noch die Monophylie von *Plectus* angenommen wird, wären im sparsamsten Ansatz noch zwei zusätzliche Reversionen nötig, einmal zwei 2-zellige Primordien wieder zu einem 4-zelligen Primordium und zum anderen parietinusartige Klappen zu rhabditisartigen (Abb. 8-2 B).

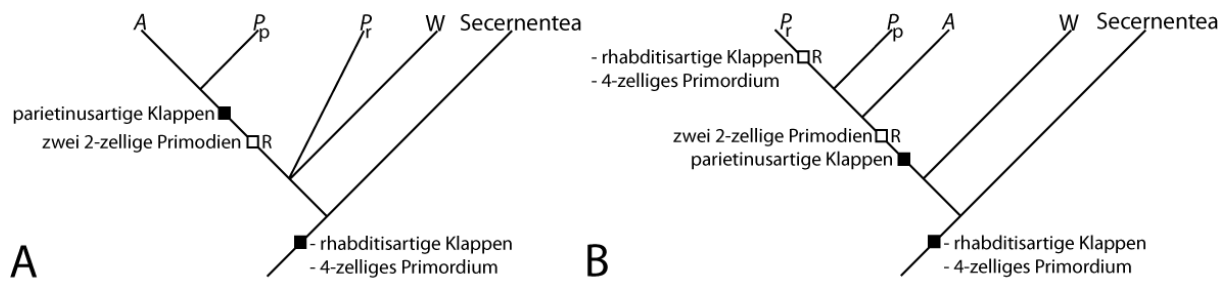


Abb. 8-2 Darstellung der sparsamsten Monophylie-Hypothesen A: Monophylie der Plectidae, Paraphylie von *Plectus*; B: Monophylie von Plectidae und *Plectus*; A = Anaplectus, P_p = *Plectus* mit parietinusartigen Klappen, P_r = *Plectus* mit rhabditisartige Klappen, W = Wilsonematinae, ■ = Apomorphie, □R = Reversion.

Bei einer Paraphylie von „*Plectus*“ und den „Plectidae“ sind keine Revisionen notwendig, zusätzlich ist dieses auch der phylogenetisch sparsamste Weg (Abb. 8-1).

Diese zeigt eindeutig, dass die Monophylie von *Plectus* und den Plectidae abzulehnen ist.

Das Merkmal des Klappenapparates ist auch besonders gut geeignet, die Lesrichtung der Analyse zu bestimmen. Bei der einfachen Annahme, dass die leistenartigen Klappen die einfachste Struktur darstellen, kann sich als logische Folge nur

ohne Klappe > leistenartige Klappen > parietinusartige (mit leistenartigen J1-) Klappen > rhabditisartige (mit leistenartigen J1-) Klappen > rhabditisartige (ohne leistenartige J1-) Klappen

ergeben. Die so ermittelte Lesrichtung stimmt mit den molekularen Lesrichtungen überein (BLAXTER et al. 1998; BLAXTER 2001; HOLTERMAN 2004 (Tagungsbeitrag und persönlich); HOLTERMAN et al. 2006).

Abschließend kann gesagt werden, dass FÜRST VON LIEVEN (2003) mit seiner Hypothese richtig liegt und es auch phylogenetisch (Abb. 8-2) gezeigt werden kann:

Die Plectidae sind paraphyletisch, die Secernentea, zusätzlich auch *Teratocephalus*, stammen aus einer Teilgruppe der Plectidae

9 Zusammenfassung - Summary

9.1 Zusammenfassung

Viele Arten und Gattungen wurden innerhalb der Plectidae Örley, 1880 beschrieben. Die zahlenmäßig größte Gattung ist *Plectus* Bastian, 1865 mit mindestens 123 beschriebenen, aber maximal 70 validen Arten.

Der Beginn befasst sich mit der taxonomischen Charakterisierung einiger Arten mit einer zeichnerischen Darstellung für den Vergleich und der positiven Synonymisierung von Arten.

Im nächsten Abschnitt wurde die Strukturierung der Ei-Oberfläche untersucht. Aus der sehr variablen, aber artspezifischen Oberfläche, welche glatt, gestachelt oder komplex arkadenartig aufgebaut sein kann, lassen sich Rückschlüsse auf eine mögliche Funktion, wie zum Beispiel Schutz vor Prädation postulieren.

Im Weiteren wird auf die juvenile Entwicklung eingegangen. Die Charakterisierung der Juvenilstadien bei *Plectus* ist extrem schwierig, da sich die Stadien (bis auf das erste Stadium), nur in der Größe und der Entwicklung der Gonaden unterscheiden. Mit einer stark kutikularisierten Struktur in der Mundhöhle lassen sich allerdings eindeutig drei morphologisch nicht anders abgrenzbare Juvenilstadien nachweisen, wodurch sich eine Gesamtanzahl von vier verschiedenen juvenilen Entwicklungsstadien ergibt.

Der anschließende Abschnitt beschäftigt sich mit der Gonadenentwicklung nach dem Schlupf bis zur Adulthäutung. Es zeigt sich dabei, dass die Gonadenentwicklung zu Beginn nicht einheitlich ist. Einige Arten besitzen ein 4-zelliges Primordium, andere zwei 2-zellige Primordien. Dieses lässt sich mit unterschiedlichen Klappenapparatypen korrelieren.

In den nächsten beiden Kapiteln wird die Bedeutung von Männchen innerhalb von *Plectus* diskutiert. Die Reproduktion ist generell parthenogenetisch, es treten sehr selten, aber immer wieder in Freilandproben Männchen auf, in Kulturen hingegen nie. Bei der Induktion wurden vor allem Temperatureinflüsse untersucht und es wurden bei erhöhter Temperatur Männchen induziert. Eine Reproduktionsfähigkeit der induzierten Männchen konnte ebenfalls nachgewiesen werden.

Im letzten experimentellen Abschnitt wurde die Reproduktionsrate und -dauer verschiedener Arten bestimmt. Es zeigten sich im Vergleich deutlich unterscheidbare Reproduktionsstrategien.

Die abschließende phylogenetische Untersuchung kombiniert morphologische und entwicklungsbiologische Merkmale, die gegen einen monophyletischen Ursprung von „*Plectus*“ und sogar für eine Paraphylie der „Plectidae“ sprechen.

9.2 Summary

The Taxon Plectidae, Örley, 1880 is an early described taxon. This is one reason, that many species and genii were described and retracted again. In the taxon *Plectus* Bastian, 1865 are at least 123 species described, but not more than 70 valid. Although there are many studies concerning this group, development and ecology are hardly known. Most of these studies are taxonomic ones.

However, the monophyly of the genus "*Plectus*" is not very dismissed. There are some arguments for a monophyletic origin, but also evidence against this hypothesis.

Main points of this work are developmental, ecological aspects and a phylogenetic analysis on morphological characters.

The first part is about general morphology of *Plectus* and graphic descriptions of the *Plectus* and *Anaplectus* species in use.

The analysis of ecological aspects starts with the egg. Main points are the structures of the species-specific egg-surfaces, which can be plain, spiked or a kind of arcade-structures. With the extremely different surfaces hypothesis about the function, like defence against predation, could be made.

Next parts deal with the juvenile development. It is hard to differentiate the juvenile stages. Except the first one all stages differ only in length and gonad development. It is necessary to find a distinct parameter, that change only at defined development-points. In the oral cavity is a heavy cuticularised part, which only changes at moults. The comparison of the measurements of this part through the development after the first stage indicates two moults, these points to three different juvenile stages. With the first stage the total number of juvenile stages is four.

The second part about the juvenile stages is the development of the gonads. The development is very similar, but not identical. The arrangements of the primordial cells differ, some species have one Primordium with four cells, and others have two primordia with two cells each. The difference in the primordial arrangement corresponds with the different valve-types in the plectids. The distinction in these complex structures is a good reason to doubt the monophyly of the plectids.

The next chapters are about the males in *Plectus*. The reproduction in the normal term is parthenogenetic, but males are found seldom in samples but again and again, in cultures never. A first step is to find a factor for inducing these males. Temperature could be possible.

In cultures with a temperature treatment males were found. In a next step the fertility was successfully tested with a reproductive test.

The last experimental part is about the reproduction success and the reproductive period of different plectid-species. The comparison of these data indicates different mechanisms of reproduction.

The finale phylogenetic analysis, combined morphological and developmental characters indicates a paraphyly of “*Plectus*” and even the “Plectidae”.

10 Literatur

- AHMAD, N. & JAIRAJPURI, M. S. (1982) Observations on the development of juveniles and adults of *Parahadronchus shakili* (Jairajpuri, 1969) - *Revue Nématology* 5 (1), S. 79-91.
- ALLGÉN, C. (1949) Über einige südschwedische Brackwasser- und Erdnematoden. - *Kungl. Fysiografiska Sällskapets I Lund Förhandlingar* 19 (1), S. 3-19.
- ALLGÉN, C. (1952) Über einige freilebende Süßwasser-Nematoden von Mt. Menya (Brit. Ostafrika). Ein kleiner Beitrag zur Kenntnis tropischer Nematoden - *Arkiv för Zoologi* 3, S. 139-157.
- ALLGÉN, C. (1953) Terrestrial nematodes from Jan Mayen - *The Annals and Magazine of Natural History* 12 (69), S. 665-688.
- ALLGÉN, C. (1959) Freelifving marine nematodes - Further zoological results of the swedish antarctic expedition 1901-1903 5 (2), S. 1-293.
- ANDERSON, R. V. (1966) An emendation of the diagnosis of both the subfamily and two genera of Wilsonematinae and a new genus, *Ereptonema* n.g. (Plectidae: Nematoda) - *Canadian Journal of Zoology* 44, S. 923-935.
- ANDRÁSSY, I. (1952) Freilebende Nematoden aus dem Bükk-Gebirge - *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici* 2, S. 13-65.
- ANDRÁSSY, I. (1958) Erd- und Süßwassernematoden aus Bulgarien - *Acta Zoologica Hungarica* 4 (1-2), S. 1-88.
- ANDRÁSSY, I. (1963) The zoological results of Gy. Topál's Collectings in South Argentina - *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici* 55, S. 243-273.
- ANDRÁSSY, I. (1984) Klasse Nematoda - Akademie Verlag, Berlin S. 509.
- ANDRÁSSY, I. (1985) The genus *Plectus* Bastian, 1865 and its nearest relatives (Nematoda: Plectidae) - *Acta Zoologica Hungarica* 31, S. 1-52.
- ANDRÁSSY, I. (1986) Fifteen new nematode species from the southern hemisphere - *Acta Zoologica Hungarica* 32 (1-2), S. 1-33.
- ANDRÁSSY, I. (1989) Six new nematode species from South America - *Acta Zoologica Hungarica* 35 (1-2), S. 1-16.
- ANDRÁSSY, I. (1998) Nematodes in the sixth continent - *Journal of Nematode Morphology and Systematics* 2 (1), S. 107-186.
- ANDRÁSSY, I. (2005) Family. Plectidae Örley, 1880 - in *Free-living nematodes of Hungary I* 9, Budapest S. 156-203.
- BASIR, M. A. (1956) Oxyuroid parasites of Arthropoda. A monographic study - *Zoologica*, S. 1-79.
- BASTIAN, C. (1865) Monograph on the Anguillidae, or free nematoids, marine, land, and freshwater; with descriptions of 100 new species - *Trans.Linn.Soc.London* 25, S. 73-184.
- BEGON, M. E., HARPER, J. L., AND TOWNSEND, C. R. (1996) *Ökologie* - Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin S. 750.
- BLAXTER, M. L. (2001) Molecular analysis of nematode evolution - in *Parasitic Nematodes* 1, Kennedy, M. W. and Harnett, W. CAB International, S. 1-24.

- BLAXTER, M. L., DE LEY, P., GAREY, J. R., LIU, L. X., SCHELDAMAN, P., VIERSTRAETE, A., VANFLETEREN, J. R., MACKAY, L. Y., DORRIS, M., FRISSE, L. M., VIDA, J. T., & THOMAS, W. K. (1998) A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda - *Nature* 392, S. 71-75.
- BOLLEY, M. (2001) Experimente zu Räuber-Beutebeziehungen zwischen *Dugesia gonocephala* und Nematoden, S. 1-70.
- BONGERS, T. (1994) De Nematoden van Nederland - Stichting Uitgeverij van de Koninklijke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging, Utrecht S. 408.
- BRZESKI, M. W. (1961) Two new species of free-living nematodes from Poland - *Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences* 9 (2), S. 91-95.
- BÜTSCHLI, O. (1873) Beiträge zur Kenntnis der freilebenden Nematoden - KSl. Leop. - Carol. Deutschen Akademie der Naturforscher, Dresden S. 144.
- CHRISTENSON, R. O. (1950) Nemic ova - in *Introduction to Nematology* 12, Chitwood, B. G. and Chitwood, M. B. University Park Press, Baltimore, London, Tokyo S. 175-190.
- COBB, N. A. (1893) Australian free-living marine nematodes - *The Proceedings of the Linnean Society* 23 (3), S. 383-407.
- COBB, N. A. (1893) Nematodes, mostly Australian and Fijian - *The Macleay Memorial Volume*, S. 252-308.
- COBB, N. A. (1893) Plant diseases and their remedies - *The Agricultural Gazette of New South Wales* 4 (10), S. 777-833.
- COBB, N. A. (1898) Descriptions of some apparently common Australian nematodes found at Sydney or in Port Jackson - *The Proceedings of the Linnean Society* 13 (2), S. 171-171.
- COBB, N. A. (1906) Free living nematodes inhabiting the soil about the roots of cane, and their relation to root diseases - *Hawaiian Sugar Planters Assiation Pathological Series Bulletin* 5, S. 163-230.
- COBB, N. A. (1913) New nematode genera found inhabiting fresh water and non-brackish soils. - *Journal of the Washington Academy of Sciences* 3 (16), S. 432-444.
- COOMANS, A. V. & LIMA, M. B. (1965) Description of *Anatonchus amicilae* n.sp. (Nematoda: Mononchidae) with observations on its juvenile stages and anatomy - *Nematologica* 11, S. 413-431.
- VON DADAY, E. (1899) Új-guineai szabadon élő nematodok - *Mathematikal Természettudományi Értesítő* 17 (5), S. 557-572.
- VON DADAY, E. (1908) Adatok Nemet-Afrika Édesvízi Mikrofaunájának Ismeretéhez - *Mathematikal Természettudományi Értesítő* 26, S. 1-42.
- DE LEY, P. & COOMANS, A. V. (1994) Terrestrial Nematodes from the Galápagos Archipelago IV: The genus *Plectus* Bastian, 1865 with description of three new species (Leptolaimina: Plectidae) - *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences naturelles de Belgique - Biologie* 64, S. 43-70.
- DE LEY, P. & COOMANS, A. V. (1997) Terrestrial nematodes from the galápagos Archipelago. 7. Description of *Tylocephalus nimius* sp.n. and new data on the morphology, development and behaviour of *T. auriculatus* (Bütschli, 1873) Anderson, 1966 (Leptolaimina: Plectidae) - *Fundamental and Applied Nematology* 20 (3), S. 213-228.
- DOMES, K., NORTON, R. A., MARAUN, M., & SCHEU, S. (2007) Reevolution of sexuality breaks Dollo's law - *PNAS* 104 (17), S. 7139-7144.
- EBSARY, B.A. (1984) Two new species of *Plectus* with a redescription of *Plectus cancellatus* Zullini, 1978 (Nematoda: Plectidae) from Canada - *Canadian Journal of Zoology* 63, S. 2395-2400.

- FÉLIX, M.-A., HILL, R. J., SCHWARZ, H., STERNBERG, P. W., SUDHAUS, W., & SOMMER, R. J. (1999) *Pristionchus pacificus*, a nematode with only three juvenile stages, displays major heterochronic changes relative to *Caenorhabditis elegans* - Proceedings of the Royal Society B 266, S. 1617-1621.
- FILIPJEV, I. N. (1930) Les Nématodes libres de la baie de la Neva et de l'extrémité orientale du Golfe de Finlande (Teil 2) - Archiv für Hydrobiologie 21 (1), S. 1-64.
- FUCHS, G. (1930) Neue an Borken- und Rüsselkäfer gebundenen Nematoden, halbparasitische und Wohnungseinmieter. - Zoologische Jahrbücher - Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere 59, S. 505-646.
- FÜRST VON LIEVEN, A. (2003) Functional morphology and evolutionary origin of the three-part pharynx in nematodes - Zoology 106, S. 183-201.
- GAGARIN, V. G. (1971) New and rare species of nematodes from the Uchinsky and Dubossarsky Water Reservoirs - Zoologicheskoy Zhurnal 50 (4), S. 474-482.
- VON GUNHOLD, P. (1953) Drei neue Nematoden aus den Ostalpen - Zoologischer Anzeiger 150, S. 35-38.
- HERNANDEZ, M. A., IMAZ, A., & ARMENDARIZ, I. (1998) Description of a new species of *Plectus* Bastian, 1865 (Nematoda: Plectidae) and males of two other species from northern Spain - Nematologica 44, S. 631-642.
- HODGKIN, J. (1988) Sexual dimorphism and sex determination - in The Nematode *Caenorhabditis elegans*, Chapter 9, Wood, William Barry Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York S. 243-279.
- HOEPLI, R. J. C. & CHU, H. J. (1932) Free-living nematodes from hot springs in China and Formosa - The Hong Kong Naturalist - Supplement 1, S. 15-28.
- HOFMÄNNER, B. (1913) Contribution à l'étude des Nématodes libres du Lac Léman - Revue Suisse de Zoologie 21 (16), S. 589-658.
- HOLOVACHOV, O. (2006) Morphology and Systematics of the order Plectida Malakhov, 1982 (Nematoda), S. 1-246.
- HOLOVACHOV, O., BOSTRÖM, S., & MUNDO-OCAMPO, M. (2004) Description of three known and two new species of the genus *Tylocephalus* Crossman, 1933 with a revised taxonomy of the genus and key to species of the subfamily Wilsonematinae (Plectida) - Russian Journal of Nematology 12 (2), S. 115-130.
- HOLOVACHOV, O., BOSTRÖM, S., & SUSULOVSKY, A. (2001) Study of Plectidae (Nematoda) from Ukraine. Description of *Plectus paracuminatus* Zell, 1993 with observations of male sexual characters - J.Nem.Morph.Syst. 4 (1), S. 11-20.
- HOLOVACHOV, O., BOSTRÖM, S., WINISZEWSKA, G., & HÁNĚL, L. (2004) Description of two known and one new species of the genus *Anaplectus* DE CONINCK & SCHUURMANS STEKHOVEN, 1933 (Nematoda: Plectida) from Europe, and a revised taxonomy of the genus - Russian Journal of Nematology 12 (1), S. 45-58.
- HOLTERMAN, M. (2004) Complex and unequal rates of evolution within the phylum Nematoda - Vortrag & persönliche Mitteilung.
- HOLTERMAN, M., VAN DER WURFF, A., VAN DEN ELSEN, S., VAN MEGEN, H., BONGERS, T., HOLOVACHOV, O., BAKKER, J., & HELDER, J. (2006) Phylum-wide analysis of SSU rDNA reveals deep phylogenetic relationships among nematodes and accelerated evolution toward crown clade - Mol.Biol.Evol. 23, S. 1792-1800.
- JAIRAJPURI, D. S. (2002) Egg structure and life cycle patterns in animal nematodes - in Nematode Diversity Jairajpuri, M. Shamim S. 214-236.

- KHAN, S. H. & COOMANS, A. V. (1980) Observations on the juvenile stages of *Miconchus studeri* (Nematoda: Mononchina) - Biol.Jb.Dodonaea 48, S. 111-118.
- KHERA, S. (1972) Nematodes from the banks of still and running waters 12. Order Araeolaimida - Proceedings of the Zoological Society 25, S. 49-58.
- KIMBLE, J. AND WARD, S. (1988) Germ-line development and fertilization - in The Nematode *Caenorhabditis elegans*, Chapter 7, Wood, William Barry Cold Spring Harbor, New York S. 191-213.
- KIRJANOVA, E. S. (1958) Antarctic freshwater nematodes of the genus *Plectus* Bastian (Nematodes, Plectidae) 3, S. 101-103.
- KNIGHT, C. G., PATEL, M. N., AZEVEDO, R. B. R., & LEROI, A. M. (2002) A novel mode of ecdysozoan growth in *Caenorhabditis elegans* - Evolution & Development 4 (1), S. 16-27.
- KREIS, H. A. (1930) Freilebende terrestrische Nematoden aus der Umgebung von Peking (China) - Teil 2 - Zoologischer Anzeiger, S. 67-87.
- KUZMIN, L. L. (1979) Descriptions of a male and new subspecies of *Plectus acuminatus* Bastian, 1865 (Nematoda, Plectidae) - Zoologicheskoy Zhurnal 58 (3), S. 433-435.
- LAHL, V., HALAMA, C., & SCHIERENBERG, E. (2003) Comparative and experimental embryogenesis of Plectidae (Nematoda) - Developmental Genes and Evolution 213, S. 18-27.
- LAHL, V., SADLER, B., & SCHIERENBERG, E. (2006) Egg development in parthenogenetic nematodes: variations in meiosis and axis formation - Int.J.Dev.Biol. 50, S. 393-398.
- LORENZEN, S. (1981) Entwurf eines phylogenetischen Systems der freilebenden Nematoden – Kommissionsverlag Franz Leuwer, Bremen S.472.
- LORENZEN, S. (1996) Nematoda, Fadenwürmer - in Spezielle Zoologie - Teil 1 Einzeller und wirbellose Tiere Westheide, Wilfried and Rieger, Reinhard Gustav Fischer, Stuttgart, Jena, New York S. 692-710.
- MAGGENTI, A. R. (1961) Morphology and Biology of the Genus *Plectus* (Nematoda: Plectidae) - Proceedings of the Helminthological Society 28, S. 118-130.
- MAGGENTI, A. R. (1961) Revision of the Genus *Plectus* (Nematoda: Plectidae) - Proceedings of the Helminthological Society 28, S. 139-166.
- MALAKHOV, V. V. (1994) Nematodes - Structure, Development, Classification, and Phylogeny - Smithsonian Institution, S. 286.
- DE MAN, J. G. (1880) Die einheimischen, frei in der reinen Erde und im süßen Wasser lebende Nematoden - Tijdschrift der Nederlandsche Dierkundige Vereeniging 5, S. 1-104.
- DE MAN, J. G. (1904) Ein neuer freilebender Rundwurm aus Patagonien - Bericht der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft, S. 41-46.
- MASSEY, C. L. (1964) The nematode parasites and associates of the fir engraver beetle, *Scolytus ventralis* LeConte, in New Mexico - Journal of Insect Pathology 6, S. 133-155.
- MAUPAS, E. (1900) Modes et formes de reproduction des nematodes (Modes and forms of reproduction of nematodes - Translation Marie-Ann Felix) - Archives de Zoologie Experimentale et Generale 8, S. 463-624.
- MICOLETZKY, H. (1916) Ergebnisse einer botanischen Forschungsreise nach Deutsch-Ostafrika und Südafrika (Kapland, Natal und Rhodesien) - Denkschrift der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften 92, S. 149-171.
- MULK, M. M. & COOMANS, A. V. (1978) Freelifving nematodes from Mount Kenya. II. - Rev.Zool.afr. 92 (3), S. 593-608.

- NEUHAUS, B., BRESCIANI, J., & PETERS, W. (1997) Ultrastructure of the pharyngeal cuticle and lectin labelling with wheat germ agglutinin-gold conjugate indicating chitin in the pharyngeal cuticle of *Oesophagostomum dentatum* (Strongylida, Nematoda) - Acta Zool. 78, S. 205-213.
- NEUHAUS, B., KRISTENSEN, R. M., & LEMBURG, C. (1996) Ultrastructure of the cuticle of the Nematelminthes and electron microscopical localization of chitin - Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft 89 (1), S. 221-
- NOVIKOVA, S. I. & GAGARIN, V. G. (1971) A new species of the genus *Plectus* (Nematoda, Plectidae) - Zoologicheskoy Zhurnal 50 (7), S. 1097-1099.
- PRESTON, C. M. & JENKINS, T. (1984) *Trichuris muris*: structure and formation of egg-shell - Parasitology 89, S. 263-273.
- RÜHM, W. (1965) Die Nematoden der Ipiden - Parasitologische Schriftenreihe 6, S. 1-437.
- SCHEDL, T. (1997) Developmental genetics of the germ line - in *C. elegans* II, Chapter 10, Riddle, Donald L., Blumenthal, Thomas, Meyer, Barbara J., and Priess, James R. Cold Spring Harbor, New York S. 241-269.
- SCHNEIDER, W. (1938) Freilebende Nematoden der Deutschen Limnologischen Sundaexpedition nach Sumatra, Java und Bali - Archiv für Hydrobiologie - Supplement 15, S. 30-108.
- SCHUURMANS STEKHOVEN, J. H. JR. & MAWSON, P. M. (1955) Free-living nematodes, mostly from Asia - Arkiv för Zoologi 7 (18), S. 273-279.
- SOHLENIUS, B. (1973) Growth and reproduction of a nematode *Acrobeloides* sp. cultivated on agar - OIKOS 24 (1), S. 64-72.
- STEINER, G. (1916) Beiträge zur geographischen Verbreitung freilebender Nematoden - Zoologischer Anzeiger 46 (10/11), S. 311-355.
- STURHAN, D. (1963) Allometrische Untersuchungen an Longidoriden (Nematoda, Dorylaimidea) - Z.Morph.Ökol.Tiere 53, S. 39-60.
- SUDHAUS, W. (1976) Nachkommenzahl und Entwicklungsgeschwindigkeit - in Vergleichende Untersuchungen zur Phylogenie, Systematik, Ökologie, Biologie und Ethologie der Rhabditidae (Nematoda) 11, Biologisches Institut I, Universität in Freiburg, S. 158-160.
- SULSTON, J. AND HODGKIN, J. (1988) Methods - in The Nematode *Caenorhabditis elegans* Wood, William Barry Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York S. 587-606.
- TAHSEEN, Q. (2002) Comparative developmental biology of soil-inhabiting nematodes - in Nematode Diversity Jairajpuri, M. Shamim S. 138-194.
- TAHSEEN, Q., AHMAD, I., & JAIRAJPURI, M. S. (1992) Description and developmental biology of *Plectus zelli* n.sp. (Nematoda: Araeolaimida) - Fundamental and Applied Nematology 15 (6), S. 503-510.
- TAHSEEN, Q., AHMAD, I., & JAIRAJPURI, M.S. (1995) Two new species of Plectidae from India (Nematoda: Araeolaimida) - Fundamental and Applied Nematology 18 (5), S. 471-477.
- TAHSEEN, Q., BANIYAMUDDIN, M., HUSSAIN, A., & AHMAD, W. (2004) Description of two new species of Plectinae (Nematoda: Araeolaimida) from India - Nematology 6 (5), S. 755-764.
- TAHSEEN, Q. & JAIRAJPURI, M. S. (1988) Description and developmental biology of *Teratorhabditis andrassyi* n. sp. (Nematoda: Rhabditida) - Revue Nématology 11 (3), S. 333-342.
- TRUSKOVA, G. M. (1976) A new species of the genus *Plectus* (Nematoda, Plectidae) from Kamchatka - Zoologicheskii Zhurnal 55 (5), S. 762-763.

- TRUSKOVA, G. M. (1976) Six new species of the genus *Plectus* (Nematoda, Plectidae) from dark-coniferous forests of Far East - Zoologicheskii Zhurnal 55 (11), S. 1718-1723.
- TRUSKOVA, G. M. (1978) New species of the genus *Anaplectus* (Nematoda, Plectidae) from liter of spruce-fir forests of the far east maritime territory - Zoologicheskii Zhurnal 57 (1), S. 132-135.
- WANG, L. H. (1971) Embryology and Life Cycle of *Tylenchorhynchus claytoni* Steiner, 1937 (Nematoda: Tylenchoidea) - Journal of Nematology 3 (2), S. 101-107.
- WHARTON, D.A. (1980) Nematode egg-shells - Parasitology 81, S. 447-463.
- ZD'ÁRSKÁ, Z., HUFFMAN, D. G., MORAVEC, F., & NEBESÁROVA, J. (2001) Egg shell ultrastructure of the fish nematode *Huffmanella huffmanii* (Trichosomoididae) - Folia Parasitologica 48, S. 231-234.
- ZELL, H. (1993) Die Gattung *Plectus* Bastian, 1865 sensu lato (Nematoda, Plectidae) - Ein Beitrag zu Ökologie, Biogeographie, Phylogenie und Taxonomie der Plectidae - Staatliches Museum für Naturkunde, Karlsruhe S. 172.