

Mit dem bloßen Auge nicht zu erkennen: *Synchaeta pectinata* – Drachenrädertier.
Invisible to the naked eye: *Synchaeta pectinata*.

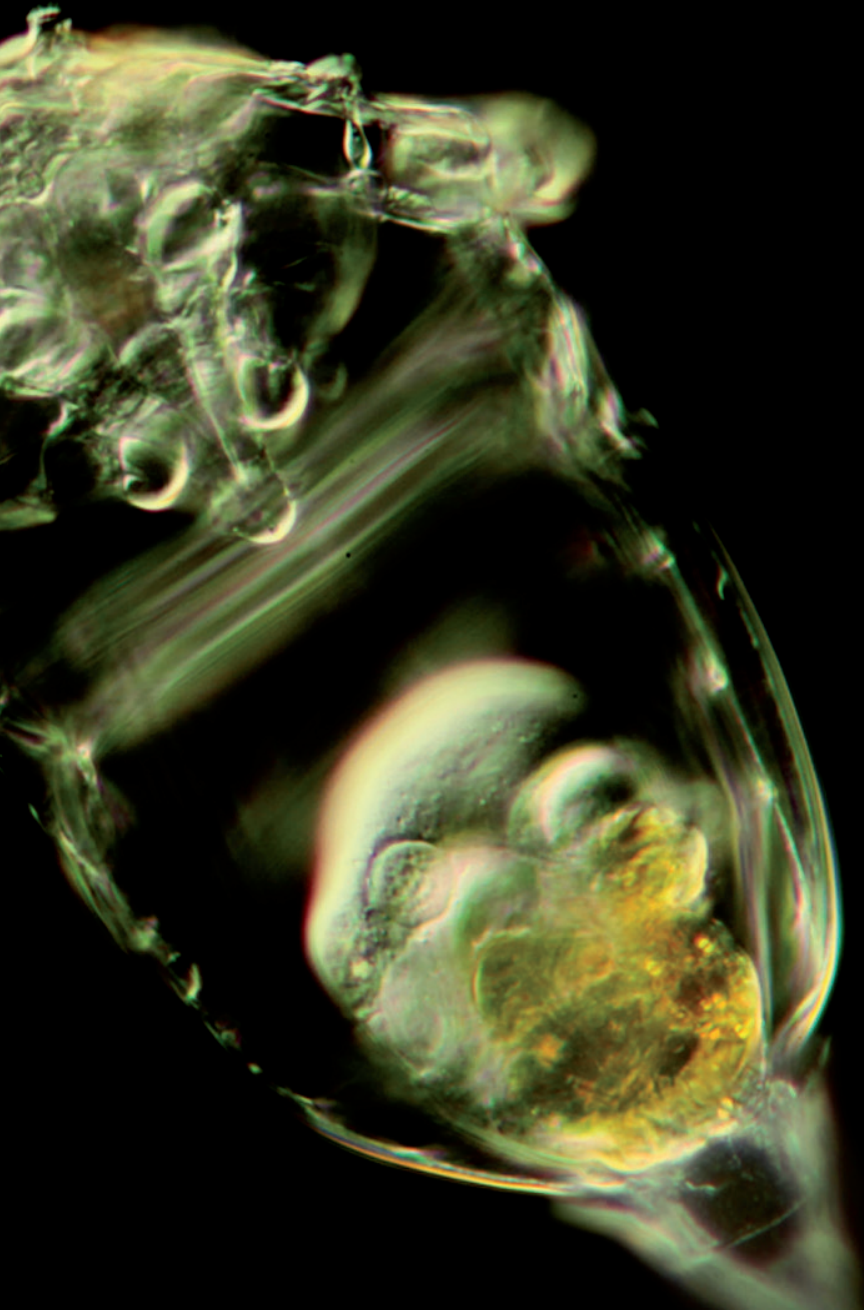
Das Rätsel Rädertiere

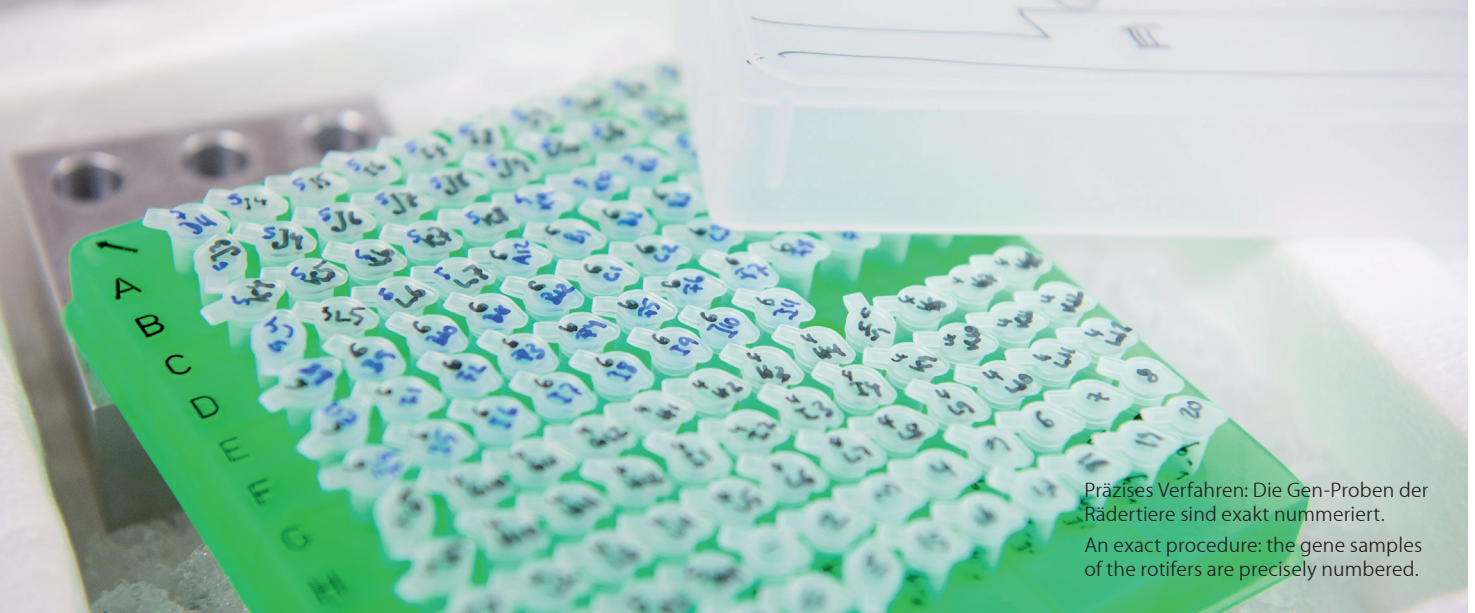
The Rotifer Riddle

Olaf R.P. Bininda-Emonds, Dorothea Kimpel

Überall, wo sich Wasser auf dem Globus ansammelt, fühlen sie sich zuhause: Drachen-Rädertiere der Art *Synchaeta pectinata*. Die Arbeitsgruppe des Evolutionsbiologen Olaf R.P. Bininda-Emonds untersucht die Genetik dieser faszinierenden Gruppe von Tieren und enthüllt einige Paradoxien.

Wherever water collects on the globe, the rotifer species *Synchaeta pectinata* feels at home. The research group led by evolutionary biologist Olaf R.P. Bininda-Emonds studies the genetics of this fascinating group of animals, and is uncovering some paradoxes.





Präzises Verfahren: Die Gen-Proben der Rädertiere sind exakt nummeriert.

An exact procedure: the gene samples of the rotifers are precisely numbered.

Menschen sind auf der ganzen Welt anzutreffen. Sie sind überaus anpassungsfähig und nicht erst dank Flugzeug und Schiff sehr mobil. Aber es gibt auch kleine, dem menschlichen Auge verborgene Tiere, die geographisch sehr weit verbreitet sind. Das Phänomen formulierte der niederländische Botaniker und Mikrobiologe Lourens Baas-Becking 1934 gemeinsam mit seinem Kollegen Martinus Beijerinck: „Everything is everywhere, but the environment selects“ („Alles ist überall, aber die Umwelt selektiert“). Diese so genannte Baas-Becking-Hypothese wenden Wissenschaftler seither auf eine Vielzahl von Mikroorganismen und auch auf die Mikrofauna an.

Zwar gibt es etliche Ausnahmen von der Regel, doch generell hat die Wissenschaft die Hypothese akzeptiert und arbeitet erfolgreich mit ihr. Wichtig ist vor allem der zweite Teil der Hypothese, nach dem die Lebensräume und Standortbedingungen für die Verbreitung

entscheidend sind. Menschen beispielsweise sind kosmopolitisch verbreitet, aber auf dem Boden der Ozeane könnten sie nicht leben.

Dauereier als Ruhestadium

Wie aber kann es sein, dass etwas so Winziges wie ein Mikroorganismus überall existieren kann? Mikroorganismen besitzen ein hohes Ausbreitungspotenzial. Wasser, Wind und Tiere können sie über weite Strecken verteilen. Doch das reicht zur Beantwortung der Frage nicht aus. Damit eine Art global auftreten kann, muss Genfluss, also der Austausch von Genen zwischen verschiedenen Populationen einer Art, stattfinden. Ist dies nicht der Fall, spaltet sich die Art auf.

Vor einigen Jahren, als sie eine erste genetische Studie an der bekannten Rädertierart *Keratella quadrata* im Raum Oldenburg durchführten, stießen die WissenschaftlerInnen der Arbeitsgruppe „Systematik und Evolutionsbiologie“ unter der Leitung des Evolutionsgenetikers Prof. Dr. Olaf Bininda-Emonds auf die Baas-Becking-Hypothese. Rädertiere (Rotiferen) sind aquatische Tiere, die 50 bis 2.000 Mikrometer (0,005 bis zwei Millimeter) groß sind. Sie sind mit bloßen Auge nicht zu erkennen. Die Gruppe der Rädertiere umfasst etwa 2.000 Arten. Immer wieder entdecken Wissenschaftler neue Arten. Erst 2006 fand Dr. Claus Fischer, damals Diplomstudent der Arbeitsgruppe, in einem Tümpel auf dem Campus Wechloy der Universität die bis dahin unbekannte Rädertierart *Cephalodella ungulata*. Rädertiere sind weltweit in sämtlichen aquatischen Lebensräumen zu finden – seien es Süßgewässer wie

Seen oder Flüssen, Brackwasser oder der marine Bereich von Küstengebieten und die Tiefsee. Überall, wo sich Wasser ansammelt, kommen Rädertiere vor: in Pfützen, in Überschwemmungsgebieten, aber auch in Moosen oder Kannenpflanzen. Rädertiere sind global verbreitet. Das gilt nicht nur für die Gruppe, sondern auch für einzelne Arten – beispielsweise die Art *Keratella quadrata*, mit der sich die Arbeitsgruppe in ihrer ersten Studie beschäftigt hat. Die WissenschaftlerInnen entnahmen einzelne Individuen der *Keratella quadrata*-Populationen aus Seen im Oldenburger Raum und charakterisierten sie genetisch mit dem „Barcode-Gen“ COI. Das „Barcode-Gen“ COI ist ein bestimmter, etwa 650 Nukleotide langer DNA-Abschnitt. Vergleichbar mit einem Barcode im Supermarkt enthält er spezifische Informationen. Sie ermöglichen eine schnelle und einfache Identifizierung der Arten. Feinste Unterschiede in den Codes erlauben es zudem, Populationen innerhalb einer Art voneinander abzugrenzen.

Nachdem die Oldenburger Biologen die COI-Charakterisierung bei *Keratella quadrata* im Raum Oldenburg vorgenommen hatten, verglichen sie ihre Ergebnisse mit den Daten von WissenschaftlerInnen, die *Keratella quadrata* in anderen Habitaten erforschten. Dabei stellten sie fest, dass die Individuen der Kaiserteich-Population in Oldenburg auf genetischer Ebene eine nähere Verwandtschaft mit einer Population aus Alberta in Kanada aufwiesen als mit einer Population eines Tümpels, der sich in Oldenburg auf dem Campus Wechloy befindet. Ein erstaunliches Ergebnis: Schließlich liegen zwischen Oldenburg und Alberta eine Distanz von 6.400 Kilometern, der Kaiserteich auf der Dobbenwiese ist dagegen lediglich drei Kilometer entfernt vom Campus-Tümpel. Alles scheint wirklich überall zu sein. Aber wie ist das möglich?

Dieser Frage ist die Arbeitsgruppe gemeinsam mit der Oldenburger Evolutionsbiologin Prof. Dr. Gabriele Gerlach, Leiterin der Arbeitsgruppe „Biodiversität und Evolution der Tiere“, im vergangenen Jahr am Beispiel der Rädertierart *Synchaeta pectianta* nachgegangen. Das Drachen-Rädertier *Synchaeta pectianta* ist ein häufiger Vertreter des Zooplanktons in Seen. Es kommt auf der ganzen Welt vor, auch in Oldenburger Gewässern. Für ihre Studie entnahm die Arbeitsgruppe Proben von Populationen aus drei Oldenburger Seen sowie aus einem See bei Wilhelmshaven. Diese analysierten sie mithilfe des „Barcode-Gens“ COI. Die Ergebnisse glichen denen der ersten Studie: Obwohl

That humans have a worldwide distribution is perhaps not surprising. We're relatively mobile (even without planes or boats), and also highly adaptable. More surprising is that smaller species invisible to the human eye also occur at such huge geographic scales. This phenomenon was neatly summarized for microbes in 1934 by the Dutch botanist and microbiologist Lourens Baas Becking, in collaboration with his colleague Martinus Beijerinck, as "Everything is everywhere, but the environment selects". Known as the Baas-Becking hypothesis, it has since been more broadly applied to a wide variety of microorganisms, including microscopic animals.

Although many exceptions to the "everything-is-everywhere" rule exist, the hypothesis still seems to be generally accepted and widely applied by the scientific community. However, the second part of the statement, which limits the distributions to suitable habitats, is crucial. Humans, for instance, have a worldwide distribution, but still aren't found at the bottom of the ocean. But how can it be that something as tiny as a microorganism can exist everywhere in the world? Even though microorganisms have high dispersal capabilities through water, wind or animal transport, dispersal only represents part of the equation. For a single species to be distributed across the globe, gene flow, the exchange of genes across the different populations of a species, also needs to occur. Otherwise the species will break apart.

A few years ago, a preliminary genetic analysis for *Keratella quadrata*, a common and very widely distributed species of rotifer that is also found in the Oldenburg region, drove home the paradox of the Baas-Becking hypothesis for the "Systematics and Evolution Biology" working group led by Prof. Dr. Olaf R.P. Bininda-Emonds, an evolutionary biologist. Rotifers, commonly called wheel animals, are a phylum of microscopic aquatic animals, most of which are too small to

be seen with the naked eye, typically ranging in size from 50 to 2000 μm (i.e., 0.005 to 2 mm). As a group, rotifers com-

"The resting eggs" as an overwintering stage

prise approximately 2000 species, and scientists are constantly discovering new ones. As recently as 2006, Dr. Claus Fischer, at the time a Diploma student in the working group, discovered and described a previously unknown species of rotifer, *Cephalodella unguolata*, in a temporary pond on Oldenburg University's Wechloy Campus. Rotifers can be found across the globe in all types of aquatic habitat, including lakes, rivers, brackish water deltas, coastal areas and even in the deep sea. In fact, they can even be found anywhere where water collects, including puddles and flooded areas, as well as moss banks and pitcher plants.

Rotifers have a worldwide distribution. This is true not only of the group as a whole, but also of many individual species like *Keratella quadrata*, which was the subject of the working group's preliminary study. In its study, the working group took samples of individuals from different populations of *Keratella quadrata* found in several lakes in and around Oldenburg and characterized them genetically using the so-called "barcoding gene" COI. Similar to a supermarket barcode, the DNA se-

quence information contained in an approximately 650-nucleotide-long segment of COI is often species specific, and so can be used to identify and distinguish different species quickly and easily on a genetic basis. Moreover, minor variations in the barcodes can also help distinguish between different populations within a species. After performing a COI characterization of *Keratella quadrata* gathered in the Oldenburg area, the Oldenburg biologists compared their data to that gathered by researchers studying *Keratella quadrata* in other habitats. They were astounded to find that individuals from a population in the Kaiserteich in Oldenburg were more similar genetically to those from a population in Alberta, Canada (a distance of some 6400 km) than to those from a more or less permanent pond on the university's Wechloy campus, a mere three kilometers away. Everything did indeed appear to be everywhere, but how?

Gene flow over time and space

In the past year, together with Prof. Dr. Gabriele Gerlach of the working group "Biodiversity and Evolution of Animals", a group of researchers led by Prof. Dr. Bininda-Emonds has tackled this question in greater depth using another rotifer species, *Synchaeta pectinata*. This very common rotifer is part of the zooplankton often found in standing waters and has a worldwide distribution that includes the Oldenburg region. For its study, the working group took samples from three

Die Autoren: Olaf R.P. Bininda-Emonds (l.) und Dorothea Kimpel.

The authors of the article: Olaf R.P. Bininda-Emonds (left) and Dorothea Kimpel.





Den Verwandtschaftsverhältnissen der Rädertiere auf der Spur: Biologin Dorothea Kimpel bereitet die Polymerasekettenreaktion vor, um das „Barcode-Gen“ COI zu vervielfältigen.

Tracking down how the connections between the different rotifer species: biologist Dorothea Kimpel prepares the polymerase chain reaction for amplifying the "barcode gene" COI.

Genfluss über geographische Distanz

alle vier Populationen einer Art angehören, erwiesen sie sich als genetisch extrem unterschiedlich. Auch die Oldenburger Populationen, die nur drei bis elf Kilometer entfernt voneinander existieren, wiesen diese genetischen Differenzen auf. Mit

einer molekularen Uhr konnten die WissenschaftlerInnen sogar den Zeitpunkt der genetischen Populationstrennung der Olden-

burger und Wilhelmshavener Populationen grob bestimmen: Er liegt etwa bei einem Minimum von circa 700.000 Jahren. Das bedeutet, dass die Populationen sich noch vor den jüngsten europäischen Eiszeiten herausgebildet haben. In einem zweiten Schritt verglichen die WissenschaftlerInnen nun ihre Analyseergebnisse mit COI-Daten, die bei *Synchaeta pectinata* in der Gegend von Trient in Südtirol gewonnen wurden. Ähnlich wie bei *Keratella quadrata* fanden sie heraus, dass mehr genetische Ähnlichkeiten und somit auch ein größerer Genfluss zwischen den italienischen und den deutschen Populationen bestand als innerhalb der deutschen. Und das trotz einer Distanz von 750 Kilometern.

Die erstaunliche Tatsache lässt sich zum Teil mit der eigentümlichen Fortpflanzung vieler Rädertierarten erklären. Bei ihnen wechseln Phasen asexueller mit Phasen sexueller Reproduktion. Eine Strategie, die auch *Keratella quadrata* und *Synchaeta pectinata* einsetzen: Unter günstigen Umweltbedingungen vermehren sich die weiblichen Rädertiere vornehmlich asexuell und produzieren identische Kopien von sich. Dadurch können sie die Habitate schnell und erfolgreich besiedeln. Binnen weniger Tage kann ein Weibchen so eine Population von einer Millionen Individuen produzieren. Verschlechtern sich die Bedingungen etwa durch ein verringertes Nahrungsangebot, Fressfeinde oder den Wechsel von Temperatur oder Sauerstoffgehalt, dann wechseln die Weibchen zur Produktion von männlichem Nachwuchs über. Dazu begeben sie sich in die Phase der sexuellen Fortpflanzung, die die Produktion so genannter Dauereier umfasst. Diese Dauereier liegen auf dem Gewässergrund in einer Art Ruhestadium. Dort „warten“ sie, bis sie unter günstigeren Bedingungen eine Population gründen

können. Oft sind sie fähig, auch noch nach Jahrzehnten im Ruhestadium zu schlüpfen. Die Dauereier sind sehr stabil – ein immenser Vorteil bei der Ausbreitung der Rädertiere durch Wind oder Tiere.

Eine Hypothese zur Verbreitung der Rädertiere besagt, dass die meisten Gewässer eine Art Lager für Dauereier sind, in denen sich Dauereier nicht nur der letzten Saison, sondern der letzten Jahrzehnte ansammeln. Welches dieser Dauereier schlüpft, ist weitgehend vom Zufall abhängig. Wichtig ist für die Rädertiere, dass sie zu geeigneter Zeit als Erste schlüpfen, um auf dem Weg der asexuellen Vermehrung die Population mit ihren Klonen zu dominieren. Es ist ein Ziel der Oldenburger Arbeitsgruppe, diese Hypothese genetisch zu überprüfen. Dazu beprobt sie die Seen der vorangegangenen Studie und weitere Gewässer im Oldenburger Raum regelmäßig.

Die WissenschaftlerInnen erwarten, dass die innerhalb eines Sees lebenden Rädertierpopulationen aufgrund des zufälligen Schlüpfens von Dauereiern sowie der doppelten Vermehrungsstrategie auch auf zeitlicher Ebene genetische Unterschiede aufweisen.

Momentan beschäftigt sich die Arbeitsgruppe noch hauptsächlich mit den im Wasser aktiven Individuen. In Zukunft wollen sie die Lager von Dauereiern auf dem Grund der Gewässer untersuchen. Denn eine zusammenhängende, weltweite Verbreitung von einzelnen Rädertierarten und dem benötigten Genfluss ist wahrscheinlich nur über die Ausbreitung der Dauereier gegeben. Die aktiven Individuen und Populationen stellen dagegen eine Momentaufnahme dar, die das wirkliche Bild der Diversität jeder einzelnen Rädertierart innerhalb von Gewässern eher verschleiert. Welche Ausbreitungsmechanismen gewährleisten die globale Verbreitung? Wind, Wasser und Vögel werden zwar häufig bemüht, aber sind sie ausreichend, um den Genfluss in mitteleuropäischem oder globalem Maßstab aufrecht zu halten? Ist das geschätzte Alter der Populationen mit etwa einer Millionen Jahre realistisch? Wie konnten sie die Eiszeiten überleben? Fragen über Fragen, die die Arbeitsgruppe noch Jahre beschäftigen werden.

Doppelte Fortpflanzungsstrategie

lakes in and around Oldenburg and one in Wilhelmshaven, and again analyzed them using the barcoding gene COI. The results were similar to those of the first study, revealing that although the four populations belonged to the same species, they were genetically distinct and effectively genetically isolated from one another. This was true even among the Oldenburg populations, which were separated from each other by distances of just three to eleven kilometers. Using a very crude molecular clock, the researchers were also able to roughly estimate the point in time when the Wilhelmshaven and Oldenburg populations diverged genetically: a minimum of 700,000 years ago, meaning that these populations formed before many of the recent European glaciation events. In a second step, the researchers then compared their COI data with those obtained by other researchers for *Synchaeta pectinata* in the Trento region of South Tyrol in Italy. As with *Keratella quadrata* the researchers found more genetic similarities and consequently greater gene flow between the Italian and German populations, despite them being separated by at least 750 km, than among the German ones.

Part of the answer to these unexpected results seems to lie with a reproductive strategy used by many rotifer species (including *Keratella quadrata* and *Synchaeta pectinata*), in which phases of asexual reproduction alternate with phases of sexual reproduction. When conditions are fa-

vourable, rotifer females tend to use asexual reproduction to produce clones of themselves and so rapidly populate a given habitat. In this way, a population can expand within the span of a few days from a single female to millions of individuals. However, when conditions deteriorate, for instance through a decrease in food levels, the presence of predators or changes

Dual reproduction strategy

in relevant environmental factors like temperature or oxygen levels, the females switch to producing males and enter a phase of sexual reproduction involving the production of so-called "resting eggs". These resting eggs lie in the sediment at the bottom of the body of water in a resting stage, where they "wait" for favourable conditions before they hatch and reestablish a new population. They are often capable of spending decades in this state before they hatch. The incredible robustness of resting eggs also represents an immense advantage for the dispersal of rotifers by wind or by animals.

One hypothesis regarding the distribution of rotifers is that most bodies of water function as a kind of storage room not only for the resting eggs of the previous season, but also those of seasons reaching back for perhaps decades. The question of which of these resting eggs will hatch, and when, is for the most part a matter of chance. What counts for the individual rotifers is being among the first to hatch at an appropriate time so they can use the asexual reproduction strategy to create clones of themselves and dominate the population. One goal of the working group at Oldenburg is to verify this hypothesis through genetic tests. To do this, it takes samples from the same lakes as in the initial study and other bodies of water on a regular basis. If the hypothesis proves to be correct, the scientists expect to find that the random timing of the hatching of the resting eggs, together with the dual reproductive strategy, ensure that different, temporally separated populations are also genetically distinct from each other despite living in the same body of water.

At present, the working group is still concentrating on individuals that are actively swimming around in the water. However, in the future, they plan to shift their focus to the stores of resting eggs in the sediments of the various bodies of water because the interconnected, worldwide distribution of individual rotifer species and the gene flow necessary for this process is probably driven by the dispersal of these resting eggs. By contrast, the active individuals provide only a limited and biased snapshot of the full diversity of each rotifer species present within a given body of water. What mechanisms of dispersal exist to ensure their worldwide distribution? Wind and water birds are commonly cited vectors, but are they sufficient to maintain gene flow on a Central-European or global scale? Are estimates that put the ages of the populations at around one million years realistic? And, if so, how have the different populations survived the many intervening glacial periods that have occurred over this time period? Questions upon questions that will keep the working group at Oldenburg busy for a good few years to come.

Prof. Dr. Olaf R.P. Bininda-Emonds

Prof. Dr. Olaf R.P. Bininda-Emonds ist seit 2008 Professor für Molekulare Systematik am Institut für Biologie und Umweltwissenschaften der Universität. Bevor der gebürtige Kanadier nach Oldenburg kam, war er Heisenberg-Stipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft an der Universität Jena. Bininda-Emonds studierte Zoologie an der University of Calgary (Kanada) und promovierte 1998 an der University of Oxford (England) mit einer Arbeit über die Evolutionsbiologie fleischfressender Säugetiere.

Prof. Dr. Olaf R.P. Bininda-Emonds has been Professor of Molecular Systematics at the University's Institute of Biology and Environmental Sciences since 2008. Canadian by birth, Bininda-Emonds was the holder of a German Research Foundation Heisenberg scholarship at the University of Jena before he came to Oldenburg. He studied zoology at the University of Calgary (Canada) and earned his DPhil at the University of Oxford with a dissertation on the evolutionary biology of carnivore mammals.

Dorothea Kimpel

Dorothea Kimpel studierte Biologie an der Universität Osnabrück. Seit 2012 ist sie Mitglied der Arbeitsgruppe „Systematik und Evolutionsbiologie“ von Prof. Dr. Olaf Bininda-Emonds und promoviert zum Thema „Population Genetics in Rotifera“.

Dorothea Kimpel studied biology at the University of Osnabrück. Since 2012 she has been a member of the working group "Systematics and Evolutionary Biology" led by Prof. Dr. Olaf Bininda-Emonds, and is writing her doctoral thesis on "Population Genetics in Rotifera"