Freie Universität Berlin

Monobachelorstudiengang Biologie

BACHELORARBEIT

Reduziert Inzucht die Attraktivität?

- Eine Untersuchung am Brautwerbungsverhalten

von *Drosophila melanogaster* -

verfasst von

Madeleine-Marie Gilles

(41 66 573)

angefertigt im

Institut für Biologie der Freien Universität Berlin

Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie

Institut für Neurobiologie

Erstgutachter

Dr. Björn Brembs

FB Biologie, Chemie, Pharmazie

Institut für Biologie

Neurobiologie

Königin-Luise-Strasse 28-30

Zweitgutachter

Prof. Dr. Hans-Joachim Pflüger

FB Biologie, Chemie, Pharmazie

Institut für Biologie

Neurobiologie

Königin-Luise-Strasse 28-30

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, Madeleine-Marie Gilles, geboren am 16.12.1984 in Hamburg, an eidesstatt, dass ich diese Bachelorarbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet habe.

Ort, Datum Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung 5
2. Einleitung 6
3. Material und Methoden 13
   3.1 *Herstellung des Aufzuchtmediums* 13
   3.2 *Auswahl der Versuchstiere* 14
   3.3 Behandlung der Versuchstiere 16
   3.4 *Versuchsdurchführung* 17
   3.5 *Statistische Analyse der Daten* 18
4. Ergebnisse 19
5. Diskussion 25
6. Referenzen 28

1. Zusammenfassung

In dieser Arbeit werden anhand des Brautwerbungsverhaltens von *Drosophila melanogaster* die möglichen Auswirkungen einer langandauernden Inzucht in den Laboren auf die Attraktivität der männlichen Fliegen untersucht. Eine oft verwendete Möglichkeit zur Erfassung der Attraktivität der männlichen Fliegen und der Präferenz der Weibchen ist die Aufnahme der Kopulationslatenz. Zusätzlich wurde die Kopulationsfrequenz ermittelt, da diese beiden Parameter zusammen den Kopulationserfolg widerspiegeln.

Für das Experiment wurden ein ingezüchteter Wildtyp (Canton S) und eine in drei verschiedenen Haushalten in Berlin wildgefangene *Drosophila melanogaster*-Linie (KitchenS) verwendet. Die Männchen der beiden Wildtypen wurden in sogenannten „courtship wheels“ auf ihre Brautwerbungsqualitäten getestet.

Die Untersuchung ergab, dass es keinen signifikanten Unterschied der beiden Wildtypen in der Latenz gibt. Bei der Frequenz konnte eine leicht positive Tendenz, d.h. ein häufigerer Zugang des Männchens zum Weibchen, des wildgefangenen Wildtyps gegenüber dem ingezüchteten Wildtyp ermittelt werden.

2. Einleitung

Das Bestreben einen adäquaten Paarungspartner zu finden, um möglichst widerstandsfähige und leistungsstarke Nachkommen zu produzieren, haben sich sexuell vermehrende Tiere gemeinsam. Zur Verwirklichung dieses Interesses wurden im Tierreich verschiedene Strategien evolviert.

Um einen geeigneten, d.h. weiblichen, rezeptiven und der gleichen Art angehörigen, Paarungspartner zu finden, nutzen männliche Fliegen in erster Linie chemische Signale (Manning, 1959).

Zu dieser speziellen chemischen Kommunikation zwischen Fliegen werden Pheromone verwendet (Dickson, 2008). Es handelt sich hierbei um langkettige Kohlenwasserstoffe, die von der Kutikula sezerniert und entweder auf sehr kurze Distanzen oder bei direktem Kontakt wahrgenommen werden können (Antony, Davis, Carlson, Pechine & Jallon, 1985; Amrein, 2004). Für die Wahrnehmung dieser Pheromone sind im Allgemeinen spezielle sensorische Zellen verantwortlich. Im Gegensatz zu den meisten Vertebraten, die hierfür ein spezielles Organ besitzen, sind diese speziellen Zellen bei *Drosophila* im chemosensorischen Erkennungssystem für Geruch und Geschmack integriert. Das olfaktorische System ist in den Antennen und in den Maxilarpalpen lokalisiert und detektiert volantile chemische Signale. Das Labellum, der anteriore Flügelrand und die Borsten an den Vorderbeinen enthalten die gustatorischen Sinneszellen, die für Perzeption der nicht-volantilen chemischen Signale verantwortlich sind. Die Borsten an den Vorderbeinen werden direkt mit der männlichen Pheromonperzeption in Verbindung gebracht, da die hierfür erforderlichen Rezeptoren nicht an den Beinen der weiblichen Fliegen ausgebildet werden (Amrein, 2004). Die Perzeption dieser Pheromone findet bei der sogenannten Brautwerbung des Männchens statt. Im zweiten Schritt der Brautwerbung (in der Abbildung 1 als *Klopfen* bezeichnet) wird ein weibliches Pheromon vom Männchen über seine Borsten an den Vorderbeinen durch das Beklopfen des weiblichen Abdomens aufgenommen. Das Lecken an den weiblichen Genitalien im vierten Schritt dient dazu, den weiblichen Duft zu komplettieren (Amrein, 2004).

Die Brautwerbung von *Drosophila melanogaster* ist ein komplexes Verhalten, welches verschiedene sensorische Fähigkeiten verlangt. Die Fliegen müssen nicht nur die Pheromone, sondern visuelle, akustische und taktile Signale wahrnehmen können. Die Dauer der Werbung kann von einigen Sekunden bis hin zu mehreren

Stunden anhalten (Bastock & Manning, 1955). In der Abbildung 1 werden die sechs wichtigen Schritte dieser Werbung deutlich.

Die Brautwerbung beginnt mit der *Orientierung* des Männchens in Richtung einer anderen Fliege. Auf diese Fliege wurde das Männchen durch einen visuellen Reiz, wie zum Beispiel ein vergleichsweise heller gefärbtes Abdomen aufmerksam. Das Männchen fixiert visuell die ihn interessierende Fliege und fängt an mit seinem Vorderbein auf das Abdomen der anderen Fliege zu *klopfen*. Als nächstes streckt das Männchen einen seiner Flügel in der Nähe des weiblichen Kopfes aus (Spieth, 1974), stellt ihn im rechten Winkel zu seiner Körperachse auf und beginnt durch Schwingungen Vibrationen im Flügel zu erzeugen. Diese von ihm erzeugten Vibrationen werden auch als *Singen* bezeichnet (Arthur, Ewing & Bennet-Clark, 1968). Danach öffnet und schließt das Männchen mit schnellen Bewegungen seine Flügel. Nach diesen Eröffnungsphasen umkreist das werbende Männchen das Weibchen und läuft diesem nach, während es alternierend die Flügel öffnet und schließt oder Vibrationen erzeugt. Diese Reihe an erzeugten kleinen Impulsen erfolgt in einem Abstand von ca. 35 ms (Bennet-Clark & Ewing, 1967; Ewing & Bennet-Clark, 1968; Shorey, 1962). In entstehenden Pausen streckt das Männchen seinen Proboscis heraus und stimuliert das Weibchen durch *Lecken* ihrer Genitalien. Nach Absolvierung dieses Musters schiebt die männliche Fliege mehrfach ihr Abdomen nach vorn und unternimmt den *Versuch* auf das Weibchen aufzusteigen, um die *Kopulation* einzuleiten (Sturtevant, 1915). Bei einer erfolgreichen Kopulation überträgt das Männchen sein Sperma auf das Weibchen. Dieser Vorgang stimuliert die Freisetzung der Eizellen (Heifetz et al., 2000) und reduziert gleichzeitig die weibliche Empfänglichkeit für andere Männchen (Clark et al., 1995; Wolfner et al., 1997).

Die verschiedenen Schritte der Brautwerbung dienen somit der Identifizierung des geeigneten Paarungspartners und gleichermaßen der Stimulierung des Weibchens.

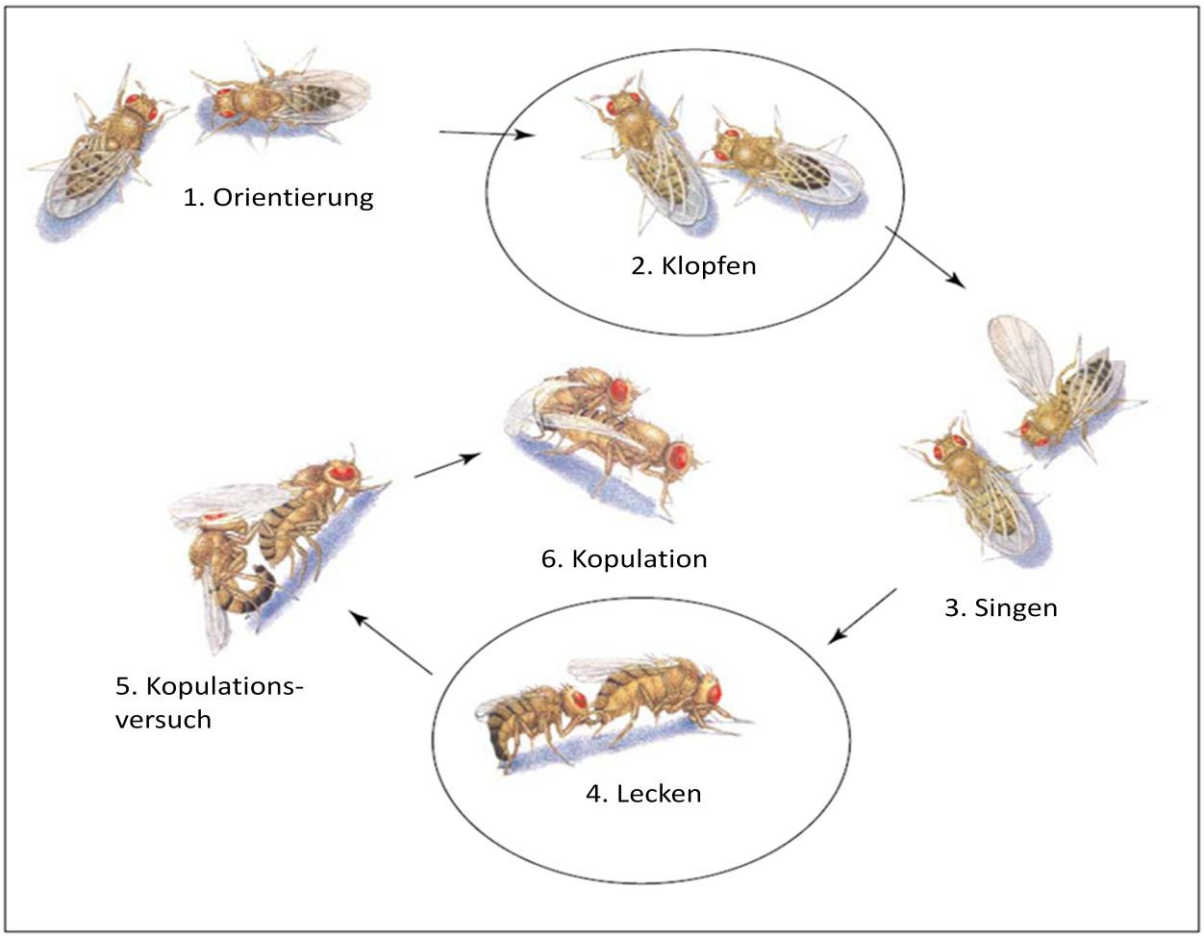

Abbildung 1

Dargestellt sind die sechs Schritte der Brautwerbung von *Drosophila melanogaster*. Im ersten Schritt bewegt sich das Männchen in Richtung einer anderen Fliege (*Orientierung*). Im zweiten Schritt beklopft das Männchen mit seinen Vorderbeinen das Abdomen des Weibchens (*Klopfen*). Der dritte Schritt besteht daraus, dass die männliche Fliege mit seinen Flügeln Vibrationen erzeugt, die als *Singen* bezeichnet werden. Darauf folgt das *Lecken* mit dem männlichen Proboscis an den weiblichen Genitalien (vierter Schritt). Die beiden letzten Schritte zeichnen sich dadurch aus, dass das Männchen wiederholt versucht auf das Weibchen aufzusteigen (*Kopulationsversuch*) bis es zur *Kopulation* kommt.

Eingekreist sind die Schritte, in denen zusätzlich Pheromone eine Rolle spielen, um einen geeigneten Paarungspartner zu finden. (Bild von Amrein, 2004; bearbeitet von Madeleine-Marie Gilles, 2011)

Interessant ist, dass das Männchen seinen kompletten Flügeltanz vollzogen haben kann und es dennoch nicht zur Kopulation kommen muss. Das Weibchen kann durch mehrere Verhaltensweisen ihre Abwehrhaltung gegenüber dem werbenden Männchen anzeigen. Die weibliche Fliege kann durch Weglaufen, Rennen oder Wegspringen die Werbung beenden, das Männchen mit kräftigen Tritten der Hinterbeine abwehren, während es versucht aufzusteigen, oder heftig mit den

Flügeln schlagen. Weitere Möglichkeiten des Weibchens die Kopulation zu verhindern, sind das Anheben oder Niederdrücken des Abdomens und der Flügelspitzen, so dass das Lecken der Genitalien für das Männchen unmöglich wird.
Nicht nur die Ablehnung eins werbenden Männchens, sondern auch die Zustimmung zur Kopulation wird vom Weibchen demonstriert. Um dem Männchen zu signalisieren, dass sie zur Paarung bereit ist, klappt das Weibchen beide Flügel immer wieder nach innen und außen auf. Leitet das Männchen die Kopulation ein, hält das Weibchen ihre Flügel geöffnet, damit das Männchen aufsteigen kann. Zusätzlich lässt die weibliche Fliege die Spitze ihres Abdomens herabhängen, extrudiert ihre Genitalien und schiebt die Vaginalplatten auseinander (Spieth, 1974). Die Herausforderung an das Männchen ist es also, das Weibchen durch seine Aufführungen dazu zubringen es nicht abzuwehren und schließlich ihre Vaginalplatten zur Kopulation zu öffnen (Taylor, Wedell & Hosken, 2007). Den limitierenden Faktor beim Paarungserfolg von *Drosophila melanogaster* stellt die weibliche Fliege dar. Sie entscheidet, ob es zur Kopulation kommt oder nicht. Dies ermöglicht indirekt die Bestimmung der Attraktivität des Männchens. Eine oft verwendete Möglichkeit zur Erfassung der Attraktivität der *Drosophila*-Männchen und der Präferenz der Weibchen, ist die Aufnahme der Kopulationslatenz (Taylor, Wedell & Hosken, 2007).
Wissenschaftler, die an *Drosophila* und deren Paarungsverhalten gearbeitet haben, beobachteten in vielen Fällen verschiedene Zeitspanne bis zur Kopulation der Tiere (Manning, 1961). Eine unterschiedliche Attraktivität der männlichen Fliegen auf die Weibchen könnte der Grund für solche varianten Latenzen sein. Die Paarungsbereitschaft der Weibchen könnte durch Umweltfaktoren, wie zum Beispiel die Temperatur, beeinflusst werden.
Eine Studie von Ritchie et al. (2001) an *Drosophila montana* zeigte, dass die Schwingungsfrequenz und die Impulslänge bei der Brautwerbung von der Umgebungstemperatur beeinflusst werden kann.
Nach David et al. (1983) ist es sinnvoll *Drosophila* unter verschiedenen Temperaturbedingungen zu untersuchen, da die Temperatur als einer der wichtigsten Umweltfaktoren helfen kann physiologische Leistungen zu verstehen. So laufen Fliegen beispielsweise im Durchschnitt um 61 Prozent schneller bei einer Temperatur von 25 °C im Vergleich zu einer Temperatur von 18 °C (Gibert, Huey & Gilchrist, 2001). Die Geschwindigkeit beim Laufen von *Drosophila melanogaster*, deren

Temperatursensitiviät gut untersucht ist (Crill, Huey & Gilchrist, 1996; Gilchrist, Huey & Partridge, 1997), bildet einen aussagekräftigen Index über alle physiologischen Leistungen und ist direkt korreliert mit dem männlichen Paarungserfolg dieser Tiere (Partridge, Ewing & Chandler, 1987; Gilchrist, Huey & Partridge 1997; Wisco, Matles & Berrigan, 1997).

Der oft für Fragestellungen rund um das Brautwerbungsverhalten herangezogene *Drosophila melanogaster*-Wildtyp Canton S, gilt in der *Drosophila*-Forschung als ein „Standard-Wildtyp“. Er wird bereits seit mehr als einem Jahrhundert in den Laboren gehalten. Die über Jahrzehnte hinweg durchgeführte Haltung der Fliegen in den Laboren hat zur Folge, dass in diesen kleinen Populationen immer wieder Paarungen zwischen nahen Verwandten, also eine Inzucht, stattfinden. Sie ist häufig bei Populationen mit begrenztem Lebensraum, in denen ein kleiner Genpool zu Verfügung steht, zu beobachten. Eine Inzucht bewirkt einen hohen Grad an Homozygotie, wobei nachteilige rezessive Anlagen zur Ausprägung kommen können. Daraus können sich einige negative Konsequenzen für die Tiere ergeben. Zum einen kann eine Inzuchtdepression auftreten, bei der die Vitalität und die Leistungsfähigkeit der Tiere zurückgehen (Charlesworth & Charlesworth, 1987). Zum anderen können sich Inzuchtschäden ergeben, wie zum Beispiel die Reduktion der Fertilität oder des Geschlechtstriebes, wodurch sich eine Senkung der Geburtenrate ergibt (Charlesworth & Willis, 2009). Aber auch Entwicklungen von Missbildungen können begünstigt werden. Diese sind Folgen der Abnahme der genetischen Variabilität und gehen einher mit dem Unvermögen auf sich verändernde Umwelteinflüsse zu reagieren (Purschke et al., 2011). Forschungen, die sich mit den Auswirkungen von Inzucht auf das Paarungsverhalten von *Drosophila* beschäftigten, ergaben, dass Inzucht Beeinträchtigungen der männlichen Paarungsfähigkeit dieser Tiere, wie zum Beispiel den Anstieg der Latenz bis zum Beginn der Kopulation, nach sich ziehen können (Miller, Glasner & Hedrick, 1993).

Um eventuelle Auswirkungen der permanenten Inzucht auf das Brautwerbungsverhalten des in Laboren gehaltenen *Drosophila melanogaster*-Wildtyps Canton S zu untersuchen, wurden dieser mit wildgefangenen *Drosophila melanogaster*-Fliegen parallel getestet und verglichen. Es wurde dabei davon ausgegangen, dass die wildgefangenen Fliegen keinen Inzuchtbedingungen unterliegen, da ihre natürliche Umgebung weitläufig ist und sie nur eine gewisse Zeit

an einem Ort verweilen (Spieth, 1974), die nicht ausreicht, um ihren adulten und damit fertilen Nachkommen zu begegnen. Zu dem ergibt sich durch die globale Verteilung der Fliegen ein sehr großer Genpool.

Zu den kosmopoliten Fliegenarten zählen sowohl Drosophila melanogaster als auch Drosophila simulans (Capy & Gibert, 2004). Diese beiden sich morphologisch sehr ähnlichen Arten sind optisch kaum voneinander zu unterscheiden (Abb. 2a und 2b). Daher wurde bei dieser Untersuchung zur Identifizierung der *Drosophila melanogaster*-Fliegen zum Einen die unterschiedliche Ausprägung der männlichen Genitalien und zum Anderen die Pigmentierung des Abdomens bei den weiblichen Fliegen genutzt. Im Gegensatz zu dem Genital des *D. simulans*-Männchens, bei dem eine Wölbung deutlich sichtbar ist, kann bei *D. melanogaster* eine solche Wölbung kaum ausgemacht werden (Abb. 3a und 3b). Das Abdomen der Weibchen von *D. melanogaster* und *simulans* können anhand der Pigmentierung des vorletzten Segments (flachzulaufend bei *D. melanogaster* bzw. schrägzulaufend bei *D. simulans*) unterschieden werden (Ballard Lab: BABS, UNSW, Sydney, Australia).

Eine Überprüfung der richtigen Identifizierung der beiden Schwesternarten kann anhand der Nachkommen vorgenommen werden. Sturtevant (1920) beschrieb, dass die Hybridisierung von *Drosophila melanogaster* und *simulans* Folgen, wie die Sterilität der Nachkommen, das Sterben der männlichen Larven oder die Produktion von nur weiblichen oder männlichen Nachkommen, hat.

(a) **(b)**

Abbildung 2

Das Bild (a) zeigt eine weibliche (links) und eine männliche Fliege (rechts) von *Drosophila melanogaster*. Das Bild (b) zeigt hingegen links ein weibliches und rechts ein männliches Exemplar von *Drosophila simulans*. Die Abbildungen verdeutlichen, dass die beiden kosmopoliten Schwesternarten morphologisch kaum voneinander zu unterscheiden sind. Scheinbare Unterschiede in der Färbung der Fliegen beruhen lediglich auf fotographischen und nicht biologischen Unterschieden. (Bilder von Ballard Lab: BABS, UNSW, Sydney, Australia)

(a) **(b)**

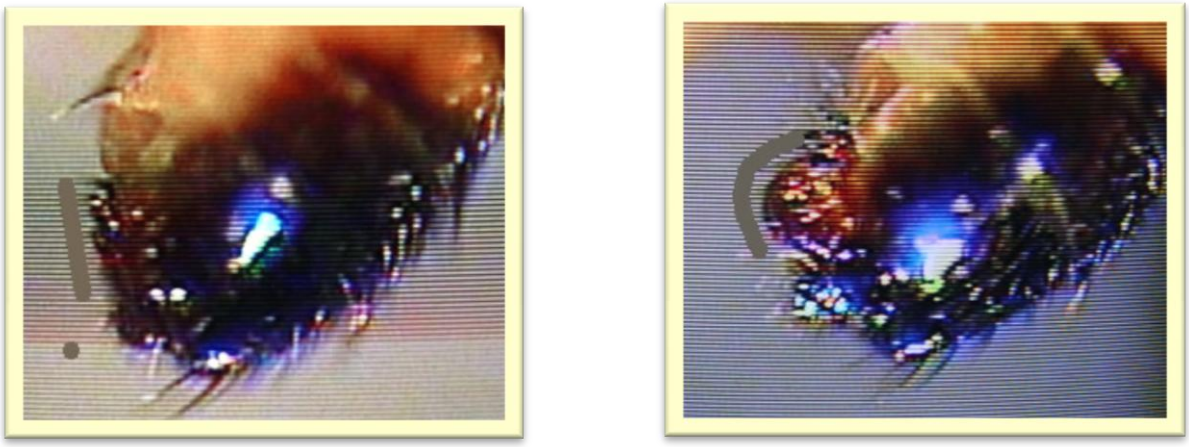

Abbildung 3

Die Abbildungen zeigen die verschiedenen Ausprägungen der männlichen Genitalien von *Drosophila melanogaster* (a) und *simulans* (b). Bei *D. melanogaster* erscheint das Genital abgeflacht. Bei *D. simulans* hingegen bildet sich eine Art Wölbung oder Haken aus. Die unterschiedliche Ausprägung der männlichen Genitalien bietet eins der wichtigsten Unterscheidungsmerkmale dieser beiden Arten. (Bilder von Ballard Lab: BABS, UNSW, Sydney, Australia)

(a) **(b)**

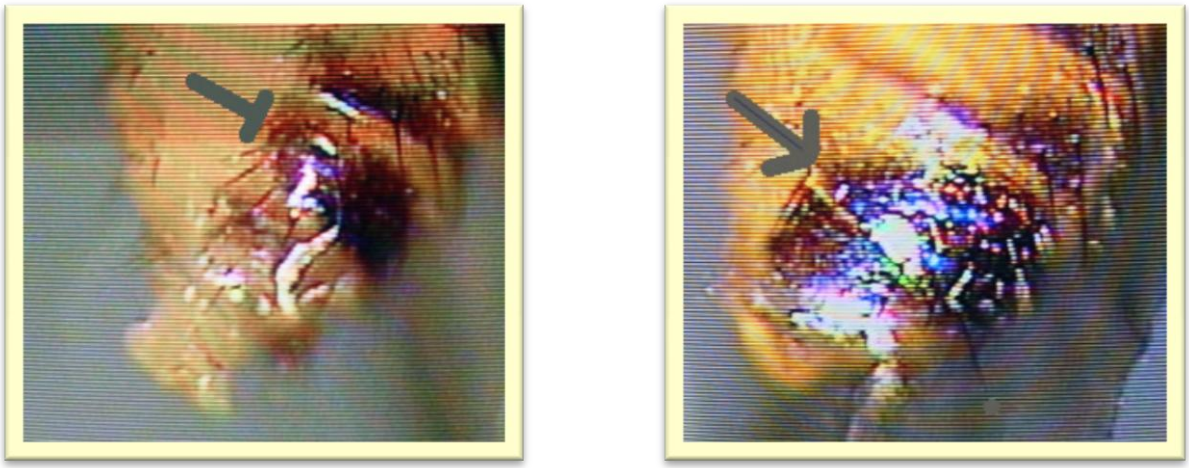

Abbildung 4

Diese beiden Fotos zeigen die weiblichen Abdomen von *D. melanogaster* (4a) und *simulans* (4b). Die Pigmentierung des vorletzten Segmentes ist in den beiden Gattungen unterschiedlich ausgeprägt. In Abbildung a verläuft die tergale Pigmentierung eher gerade und am Ende abgeflacht. Die Pigmentierung in Abbildung b verläuft hingegen schrägzulaufend. Ausschließlich anhand dieses Merkmals sind die Weibchen von *D. melanogaster* und *simulans* zu trennen. (Bilder von Ballard Lab: BABS, UNSW, Sydney, Australia)

3. Material und Methoden

3.1 *Herstellung des Aufzuchtmediums*

Zur Haltung und Aufzucht der Fliegen im Labor wurde ein Aufzuchtmedium aus Zuckerrübensirup (Grafschafter Krautfabrik Josef Schmitz KG, Meckenheim), Bierhefe (Heirler Cenovis GmbH, Randolfzell), Agar-Agar Kobe I (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe), Maisgrieß (E. J. Kluth GmbH & Co. KG, Viersen-Süchteln), Propionsäure (Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe) und Nipagin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) hergestellt.

Um eine Gesamtmenge von 7,5 l Aufzuchtmedium zu erhalten, wurden zunächst 885 g des Zuckerrübensirups und 81 g der Bierhefe abgewogen. Dann wurden diese mit 1515 ml heißem Leitungswasser in einen Kochtopf gegeben. Das entstandene Gemisch wurde unter Rühren zum Kochen gebracht. Nach vierminütigem Kochen wurden 30,5 g Agar, welcher zuvor in 2025 ml kaltem Leitungswasser grob gelöst wurde, zum Gemisch hinzugefügt und zum Köcheln gebracht. Im nächsten Schritt wurden 710 g Maisgrieß in einem 3 Liter Messbecher abgewogen und bis zur 2025 ml-Marke mit heißem Leitungswasser aufgefüllt. Der aufgeweichte Maisgrieß wurde zum köchelnden Gemisch gegossen. Die im Messbecher verbleibenden Reste wurden mit 510 ml Leitungswasser nachgespült und das Gemisch anschließend wieder zum Kochen gebracht.
Nachdem durch das Erhitzen und Rühren eine homogene Masse entstanden war, wurden 18,3 ml Propionsäure mit 810 ml Leistungswasser verdünnt und zur Masse hinzugegeben und erneut aufgekocht. Propionsäure ist ein wichtiger Bestandteil des Mediums, da es den unerwünschten Bewuchs mit Bakterien verhindert. Dennoch muss diese Chemikalie mit Vorsicht verwendet werden, da sie ätzend auf Haut, Schleimhäute, Atemwege und Augen wirkt. Nach diesem Schritt musste das entstandene Aufzuchtmedium auf mindestens 80 °C abkühlen, um das Nipagin (pro Liter Medium 1 Esslöffel) einrühren zu können. Nipagin ist ein Fungizid, das verwendet wird, um unerwünschten Pilzbewuchs auf Medien zu vermeiden.
Schließlich wurde das Medium zügig, da der Agar bei einer Temperatur unter 55 °C aushärtet, in die Aufzuchtgefäße (Ø 35 mm; Höhe 80 mm) gegossen.
Es können in etwa 270 der oben genannten Aufzuchtgefäße mit dieser Menge an Medium befüllt werden. Das Rezept stammt aus der Arbeitsgruppe von Dr. Björn Brembs (Freie Universität Berlin, Institut für Neurobiologie).

3.2 *Auswahl der Versuchstiere*

Für die Untersuchung wurde der bereits seit vielen Generationen ingezüchteter *Drosophila melanogaster*-Wildtyp Canton S ausgewählt. Die verwendeten Canton S-Fliegen stammen von Tomas Preat (Genes and Dynamics of Memory Systems, Neurobiology Unit, CNRS, école supérieurde chimie et physique industrielle de Paris) und wurden bei 18 °C im Labor kultiviert. 2009 wurden diese Fliegen nach Berlin (Freie Universität Berlin, Institut Neurobiologie) überführt. Dort wird der Stamm in zwei kleinen Zuchtgefäßen (Ø 35 mm; Höhe 80 mm) bei 18 °C gehalten.

Um eine weitgehend inzuchtfreie *Drosophila melanogaster*-Linie zu erhalten, wurden wildlebende Fliegen aus ihrer natürlichen Umgebung im Spätsommer/Herbst 2011 gefangen. Die zum Einfangen der Fliegen genutzten Lebendfallen wurden aus Zuchtgefäßen (Ø 50 mm; Höhe 99 mm) hergestellt. Diese wurden mit einem Trichter aus Filterpapier bis auf eine kleine Öffnung in der Mitte verschlossen (Abb. 5). Um die Fliegen einfangen zu können, wurden sie mit teilweise leicht vergorenen Früchten (Kirschen, Ananas und Erdbeeren), die sich in den Gefäßen befanden, angelockt. Die Fallen wurden für jeweils zwei Tage in der Küche verschiedener Haushalten unterschiedlicher Stadtteile Berlins (Steglitz, Charlottenburg und Wedding) aufgestellt. Nachdem sich mehrere verschiedene Fliegen in den Fallen befanden, wurden diese in das Fliegenlabor (Freie Universität Berlin, Institut Neurobiologie) transportiert. Im Labor wurden die gefangenen Fliegen zunächst nach einfachen Kriterien wie Augenfarbe, Körpergröße, Behaarung und Färbung des Körpers sortiert. Die Fliegen, die nach diesen Kriterien der Art *Drosophila* zugeteilt wurden, wurden anschließend nochmals untersucht, um ausschließen zu können, dass es sich bei diesen Fliegen um *Drosophila simulans* handelte. Zur endgültigen Identifizierung der gefangenen Fliegen wurden die unterschiedliche Ausprägung der männlichen Genitalien und der verschiedenen Pigmentierung des weiblichen Abdomens von *Drosophila melanogaster* und *simulans* verwendet (siehe Einleitung).

Abbildung 5

Das Foto zeigt ein Lebendfalle für Fliegen. Diese wurde aus einem Zuchtgefäß (Ø 50 mm; Höhe 99 mm) und Filterpapier, das zu einem Trichter mit einer kleinen Öffnung geformt und mit Klebefilm fixiert wurde, konstruiert. Die Fliegen wurden durch den Geruch von vergärendem Obst (hier Erdbeeren) in die Falle gelockt. Die Fliegen konnten durch die Öffnung des Trichters in die Falle gelangen, aber nicht wieder herausfinden, da nur eine sehr kleine Öffnung vorhanden war. Die so gefangenen Fliegen wurden anschließend im Labor des Instituts für Neurobiologie identifiziert.

Die wildgefangenen und als *Dorosophila melanogaster* identifizierten Fliegen (KitchenS) wurden paarweise in Aufzuchtgefäße (Ø 20 mm; Höhe 65 mm) überführt und mit Schaumstoffpropfen verschlossen. Diese enthielten das selbsthergestellte Aufzuchtmedium, das als Nahrungsquelle und gleichzeitig als Ablageort der Eier diente. Um eine potentielle Infektionen mit Parasiten der im Labor bereits vorhandenen Fliegenlinien zu vermeiden, kamen die KitchenS-Fliegen für ca. 14 Tage in Quarantäne. Nach der absolvierten Quarantänezeit konnten die Nachkommen in standardisierte Zuchtgefäße (Ø 35 mm; Höhe 80 mm) nach und nach überführt werden.

3.3 Behandlung der Versuchstiere

Beide Wildtyplinien wurden in den Zuchtgefäßen bei 25 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 50 – 60 % mit einem Tag/Nacht-Rhythmus von zwölf Stunden gehalten.

Zunächst wurden die beiden Linien vermehrt, um für das Experiment eine ausreichend große Population zu erhalten. Dabei wurden die Tiere in regelmäßigen Abständen von zwei Tagen auf frische Zuchtgefäße umgesetzt. Es wurden 20 Weibchen und ca. zehn Männchen pro Gefäß verwendet, um eine dichtregulierte Umwelt zu schaffen, in der wenig Nahrungskonkurrenz herrscht, und dennoch ausreichend Larven entstehen, die die für die Aufnahme notwendigen Futtercluster bilden können. Alle zwei Wochen wurden die zur Vermehrung und Erhaltung umgesetzten Fliegen durch ihre Nachkommen ersetzt.
Nach dem Aufbau der Populationen wurden für das Experiment unter CO_2-Betäubung von den beiden Wildtypstämmen männliche Jungfrauen gesammelt. Für den weiblichen Part bei der Kopulation wurden auf die gleiche Weise weibliche Jungfrauen von Canton S gesammelt. Die gesammelten weiblichen und männlichen Jungfrauen wurden für drei bis vier Tage separat in ihren jeweiligen Gruppen (1. ♂ KitchenS-Jungfrauen; 2. ♂ Canton S-Jungfrauen; 3. ♀ Canton S-Jungfrauen) in frischen Zuchtgefäßen unter denselben Bedingungen wie zuvor aufbewahrt, um die Regeneration nach der CO_2-Betäubung und die Geschlechtsreife zu gewährleisten.
Manning (1959) nachweisen konnte, dass die Weibchen von *Drosophila melanogaster* erst 24 Stunden nach dem Schlüpf geschlechtsreif werden und dabei lediglich eine Akzeptanz der Männchen von 25 Prozent aufweisen. Nach verstreichen von 48 Stunden sind nahezu 100 Prozent der Weibchen physiologisch bereit zur Kopulation. Trotz dieses Zeitaufwandes ist es wichtig Jungfrauen für Untersuchungen am Paarungsverhalten zu verwenden. Bei Fliegenweibchen, die nicht als Jungfrauen separiert wurden, besteht die Gefahr, dass sie das Ergebnis durch ihr Verhalten verfälschen, da sie nach einer erfolgreichen Kopulation für einige Zeit nicht sexuell empfänglich sind (Manning, 1967; Amrein, 2004).
Die als Jungfrauen gesammelten Canton S-Weibchen dienten als Maß für die Attraktivität der Männchen.

3.4 *Versuchsdurchführung*

Um das Brautwerbungsverhalten der verschiedenen Wildtypen zu testen, wurden „courtship wheels“ verwendet. Diese „courtship wheels“ bestehen aus vier Kunststoffscheiben. Die beiden Äußeren weisen jeweils eine und die beiden inneren Scheiben jeweils zwölf runde Aussparungen auf. Die Scheiben werden aufeinander gelegt und mit einem Mittelstück fixiert. Die entstehenden vier Ebenen lassen sich gegeneinander verschieben, so dass 24 separate Kammern (Ø 10 mm; Tiefe 3 mm) entstehen, die das getrennte Einsetzen der Fliegen ermöglichen.

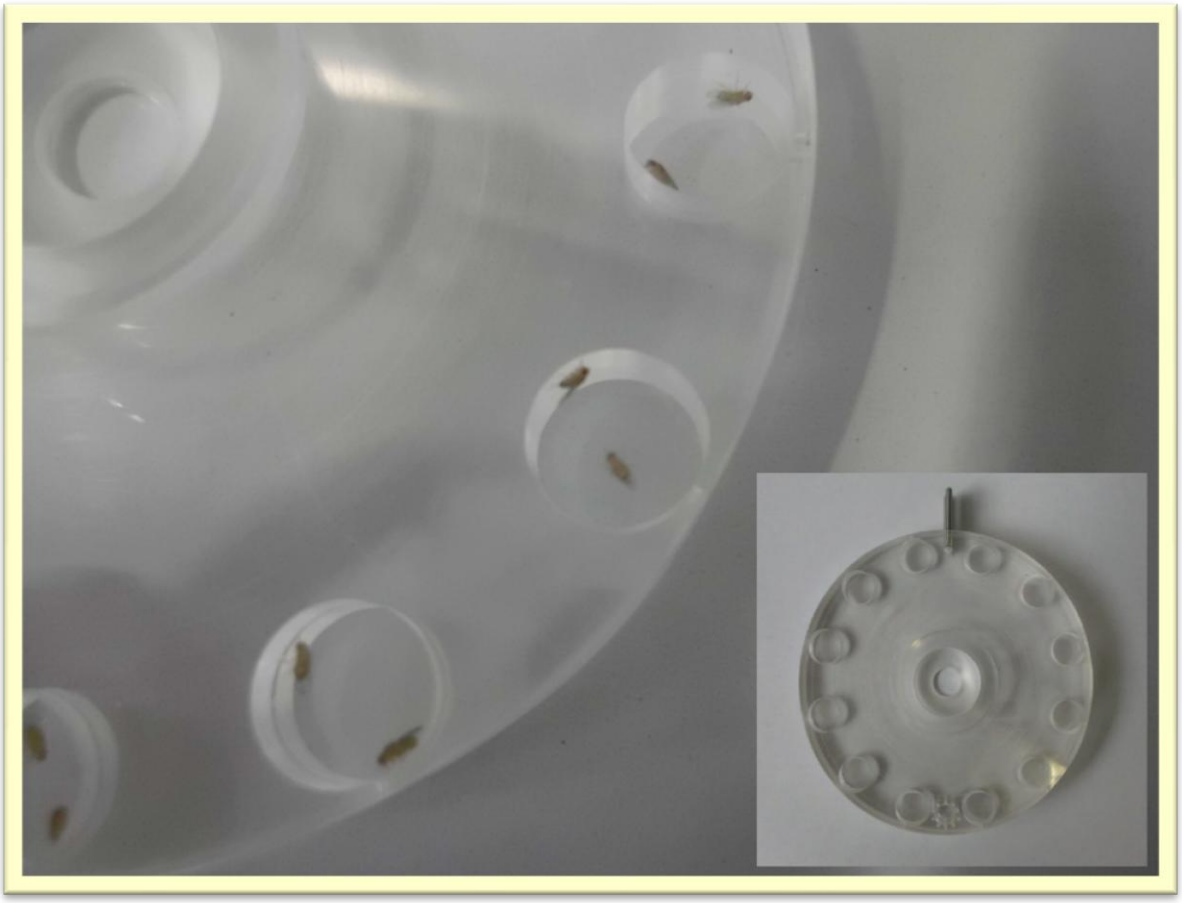

Abbildung 6

Diese Fotos zeigen ein „courtship-wheel“ wie es in allen Experimenten verwendet wurde. Es besteht aus vier aufeinander legbaren Kunststoffscheiben, die mit Hilfe eines Mittelstückes fixiert und gegeneinander verschoben werden können. Die beiden inneren Scheiben weisen jeweils zwölf Löcher, die Äußeren jeweils ein Loch auf. Die verschiedenen Ebenen ermöglichen ein unkompliziertes Einsetzen der einzelnen Fliegen in die sich durch Verschieben der Ebenen ergebenden 24 Kammern. Nach dem Einsetzen der Fliegen wird die Ebene mit den Weibchen zu der Ebene mit den Männchen geschoben, so dass sich jeweils ein Fliegenpaar in jeder Kammer (Ø 10 mm; Tiefe 3 mm) befindet.

Als erstes wurden die weiblichen Jungfrauen mittels eines Schlauches aus den Zuchtgefäßen in die einzelnen Kammern der „courtship wheels“ überführt. Nachdem alle Weibchen eingesetzt worden waren, folgten die männlichen Jungfrauen in die verbleibenden freien Kammern. Daraufhin wurden die jeweiligen Kammern der „courtship wheels“ mit den Weibchen über die Kammern mit den Männchen geschoben, so dass sich in jeder entstandenen Kammer ein Weibchen und ein Männchen befanden. Dokumentiert wurde die Zeit bis zu Beginn der Kopulation der Fliegenpaare (Latenz). Die Dauer des Experiments betrug jeweils höchstens 3600 s. Wurde von einem Paar die Kopulation in dieser Zeit nicht eingeleitet, so erhielt dieses die volle Zeitdauer von 3600 s. Zusätzlich aufgenommen wurden die Versuchsraumtemperatur während der Experimente, die Uhrzeit und das Datum. Getestet wurde bei 19, 20, 21 und 22 °C. Alle Experimente wurden im Zeitraum zwischen 10:00 und 12:00 Uhr in einem nur mit künstlichem Oberlicht beleuchteten Raum durchgeführt.
Insgesamt wurden 152 Fliegenpaare (KitchenS = 75 n; Canton S = 77 n) an 13 Tagen parallel getestet.

3.5 *Statistische Analyse der Daten*

Um die Frequenzen auf Unabhängigkeit zu überprüfen, wurde der Signifikanztest *Fisher’s Exact Test* gewählt. Dabei handelt es sich um einen Chi-Quadrat-Test, der auch bei einem geringen Stichprobenumfang angewandt werden kann und zuverlässige Ergebnisse liefert. Die Wahrscheinlichkeit lässt sich mit der unten stehenden Formel berechnen, wobei gilt:
a = Anzahl (Canton S, kopuliert); b = Anzahl (Canton S, nicht kopuliert); c = Anzahl (KitchenS, kopuliert); d = Anzahl (KitchenS, nicht kopuliert).

$$p = \frac{(a + b)!\,(c + d)!\,(a + c)!\,(b + d)!}{a!\,b!\,c!\,d!\,N!}$$

4. Ergebnisse

Die Identifizierung des in Berlin wildgefangenen *Drosophila melanogaster*-Wildtyps KitchenS anhand der Genitalien und der Pigmentierung konnte erfolgreich durchgeführt werden. Die Vermehrung dieses Wildtyps auf dem selbsthergestellten Aufzuchtmedium verlief unproblematisch.
Die von Sturtevant (1920) beschriebenen Vorkommnisse blieben aus, so dass eine Hybridisierung von *Drosophila melanogaster* und *Drosophila simulans* ausgeschlossen werden konnte.
Um eine Population für die weitere Untersuchung aufbauen zu können, reichten zwölf Weibchen und sieben Männchen des KitchenS-Wildtyps aus.

Die Untersuchung des Brautwerbungsverhaltens der beiden *Drosophila melanogaster*-Wildtypen mit Canton S-Weibchen zeigte, dass sich die männlichen Canton S-Fliegen und die männlichen KitchenS-Fliegen in den Latenzen bis zum Beginn der Kopulation kaum unterscheiden.
Die Abbildung 7 zeigt, dass beide Wildtypen in Bezug auf die Latenz im Bereich von unter 400 s lagen. Der Median und das 25 – 75 Prozent Quantil von KitchenS geben an, dass es bei der Untersuchung zwar einige männliche Individuen gab, die geringere Zeiten als Canton S bei der Umwerbung der Weibchen erzielen konnten, aber auch welche, die wesentlich mehr Zeit – über 3000 s – benötigten. Betrachtet man die Mittelwerte der Latenzen beider Linien so nehmen diese nahezu den gleichen Wert von ca. 500 s an (Daten sind nicht gezeigt).
In der Abbildung 7 sind für Canton S eine Kopulationsfrequenz von durchschnittlich 68 Prozent und für KitchenS eine Frequenz von 79 Prozent aus zu machen.

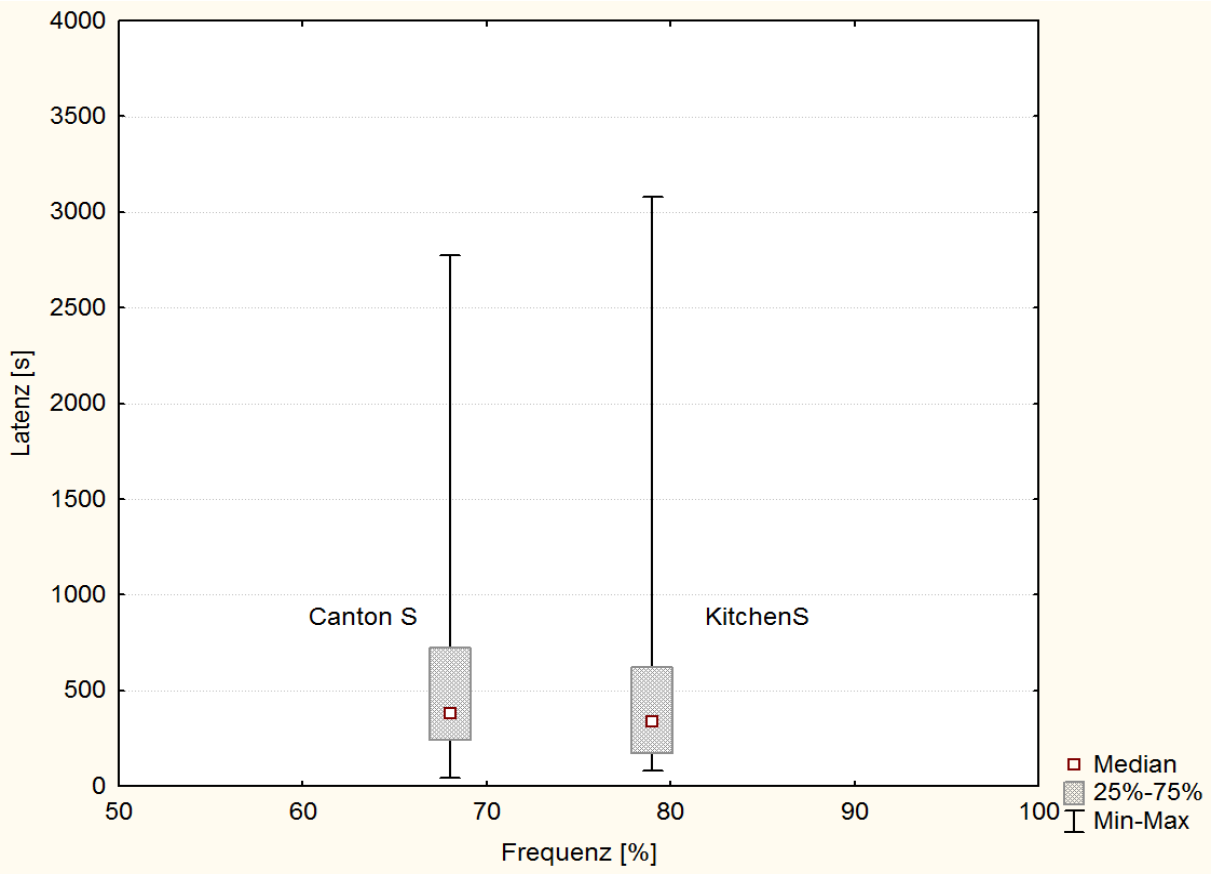

Abbildung 7

Die dargestellten Daten zeigen die Latenzen und Frequenzen bei der Brautwerbung bzw. Kopulation der getesteten Wildtypen Canton S und KitchenS. Aus der Abbildung geht hervor, dass sich die beiden Wildtypen im Hinblick auf die Latenz kaum unterscheiden. Sowohl Canton s als auch KitchenS kopulierten unter 400 s. Die Kopulationsfrequenz von KitchenS liegt um 11 Prozent über der von Canton S.

(Graphik wurde mit StatSoft, Inc. - *STATISTICA*© erstellt.)

Das Histogramm (Abbildung 8) verdeutlicht die Verteilung der einzelnen getesteten Fliegenpaare in Bezug auf ihre Latenzen. Zu erkennen ist, dass bei KitchenS die meisten Fliegenpaare (13) im Zeitintervall von 101 – 200 s kopulierten; bei Canton S hingegen kam es im Zeitintervall von 301 – 400 s mit 12 Fliegen am häufigsten zur Kopulation.

Die Kopulationsfrequenzen der beiden *Drosophila melanogaster*-Wildtypen zeigen im Vergleich keinen signifikanten Unterschied, aber eine Tendenz dahingehend, dass KitchenS-Männchen häufiger den Zugang zum Weibchen finden als es bei den Canton S-Männchen der Fall ist (*Fisher's Exact Test*; p-Wert = 0,086, einseitig).

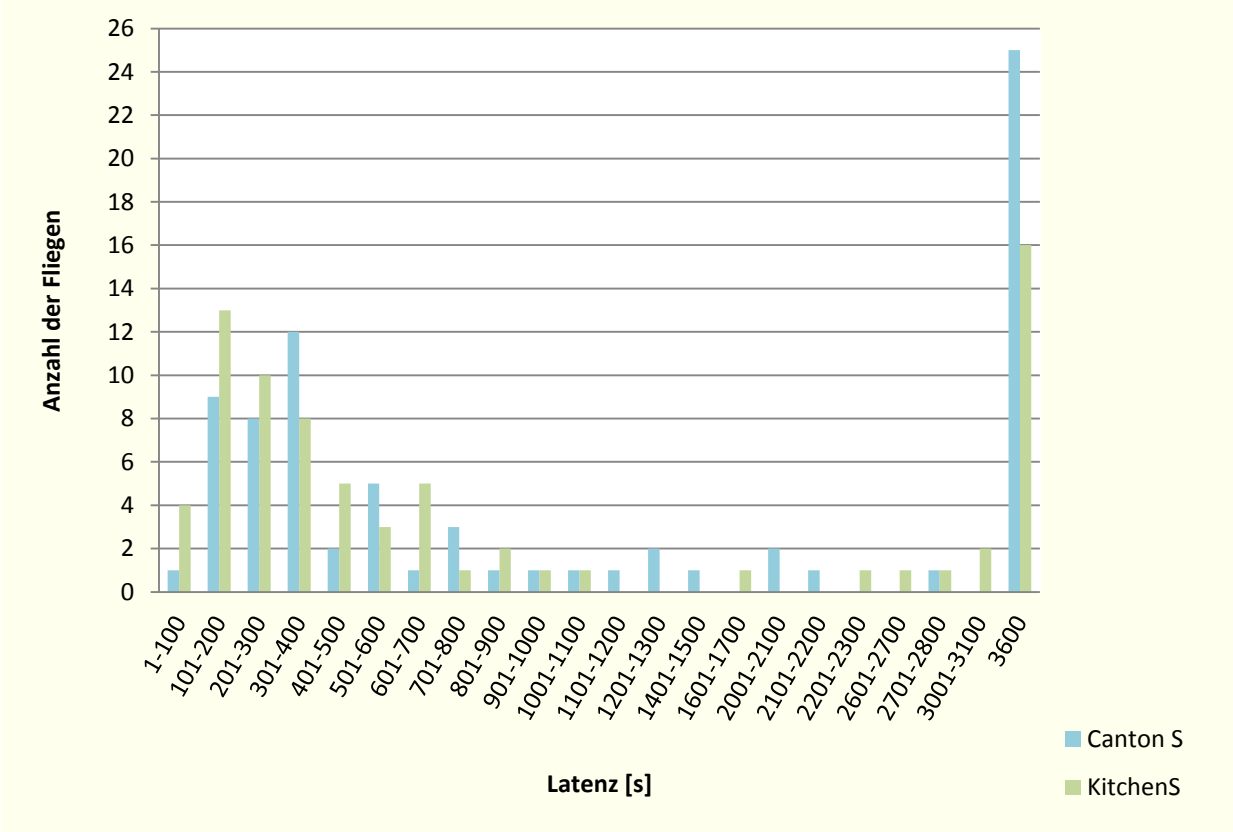

Abbildung 8

Das Histogramm verdeutlicht die Verteilung der Latenzen der Wildtypen Canton S und KitchenS. Diese Art der graphischen Darstellung der Daten bietet die Möglichkeit das Variationsspektrum der einzelnen Individuen im untersuchten Parameter zu erkennen. Es wird deutlich, dass die Latenzen gehäuft im unteren Bereich zwischen 101 und 400 s liegen. (Graphik wurde mit Microsoft Office Excel 2007® erstellt.)

Bei der Betrachtung der Latenzen unter Berücksichtigung der während der Experimente herrschenden Umgebungstemperaturen konnte bei beiden Wildtypen keine Präferenzen ausgemacht werden (Abb. 9 und 10). Sowohl bei 19 °C als auch bei höheren Temperaturen lagen die Mediane der Latenzen bis zur Kopulation unterhalb von 500 s.

In der Abbildung 9 ist zu erkennen, dass bei einer Umgebungstemperatur von 20 °C einige Fliegen von Canton S eine wesentlich längere Zeit bis zur Kopulation benötigten als es bei den anderen Temperaturen der Fall ist.

KitchenS-Fliegen zeigen ebenfalls keine eindeutige Präferenz der Temperatur. Bei 21 °C zeigen einige Individuen eine höhere Latenz als bei den anderen gemessenen Temperaturen und bei 20 °C konnten alle Fliegen relativ schnell kopulieren (Abb. 10).

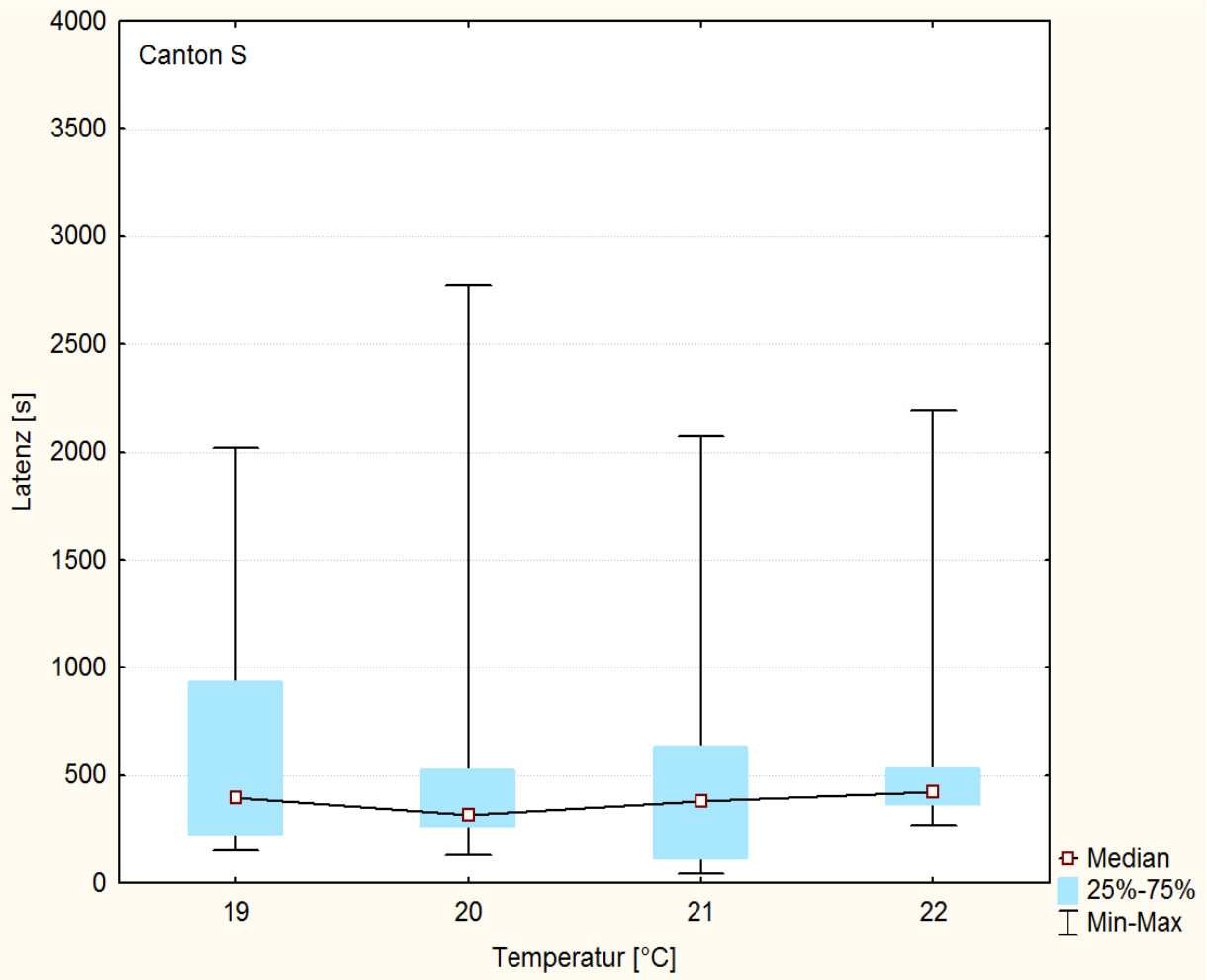

Abbildung 9

Dargestellt sind die Kopulationslatenzen von Canton S in Bezug auf die während der Experimente herrschenden Umgebungstemperaturen. Canton S zeigt keine eindeutige Temperaturpräferenz für die Kopulationslatenz. Bei 20 °C zeigen lediglich einzelne Fliegen eine höhere Latenz als bei den anderen Temperaturen.

(Graphik wurde mit StatSoft, Inc. - *STATISTICA*© erstellt.)

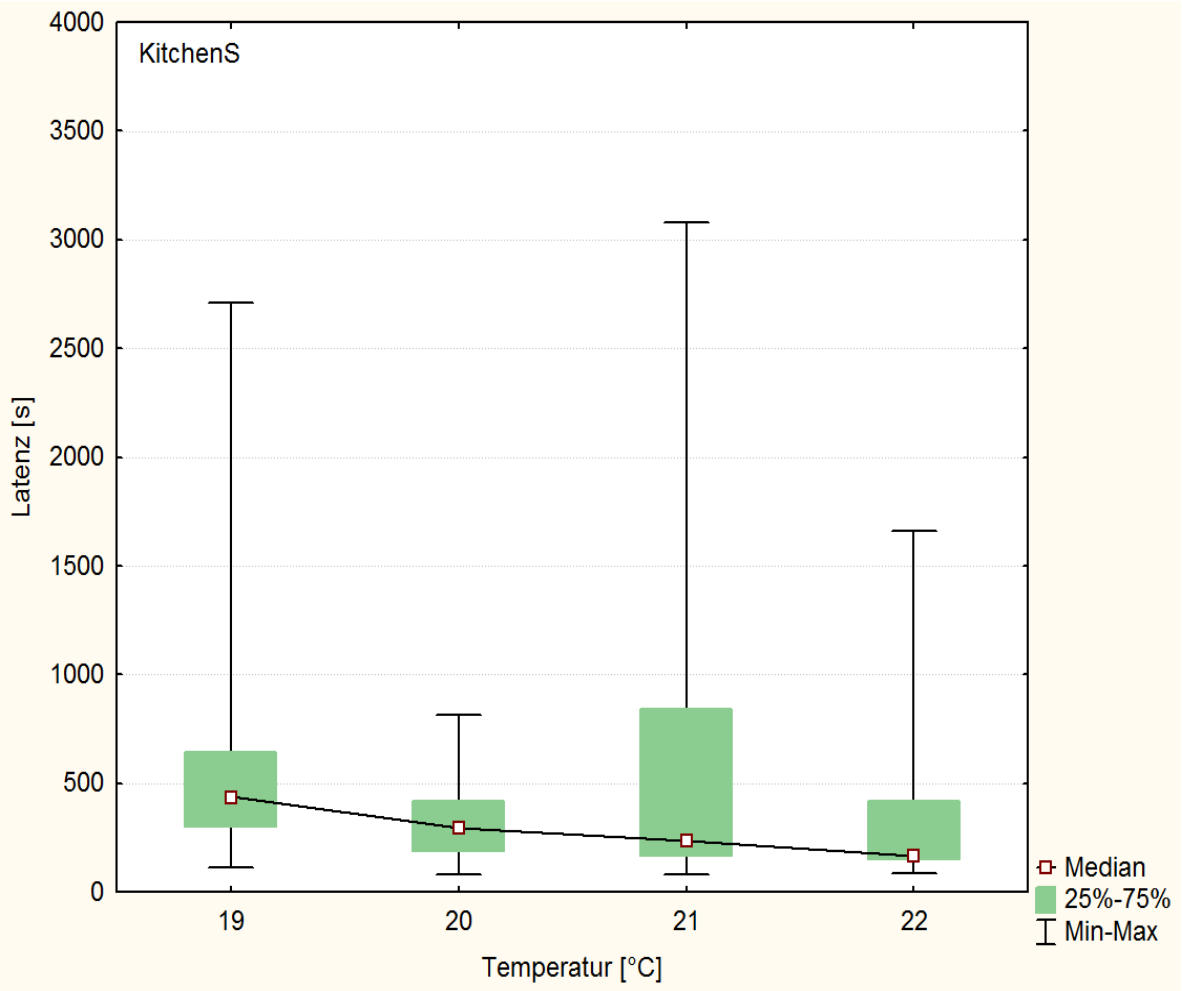

Abbildung 10

Die graphische Darstellung zeigt die Kopulationslatenzen von KitchenS in Bezug auf die während der Experimente herrschenden Umgebungstemperaturen.

Auch KitchenS zeigt hier keine eindeutige Temperaturpräferenz in Bezug auf die Latenz. Einige Individuen weisen bei einer Temperatur von 21 °C eine höhere Latenz als bei den anderen Temperaturen auf. Bei 20 °C hingegen konnten alle Fliegen relativ schnell kopulieren.

(Graphik wurde mit StatSoft, Inc. - *STATISTICA*© erstellt.)

Einen Einfluss der Temperaturen auf das Verhalten der Fliegenpaare bei der Kopulation ließ sich nur in Bezug auf die Frequenz feststellen. Die Abbildung 11 zeigt, dass bei allen gemessenen Umgebungstemperaturen die Kopulationsfrequenz der Fliegenpaare bei mindestens 60 % lag. Canton S konnte bei einer Temperatur von 20 °C mit einer Frequenz von über 88 % kopulieren. KitchenS erzielte bei 20 °C und auch bei 21 °C eine sehr hohe Frequenz von über 92 %.

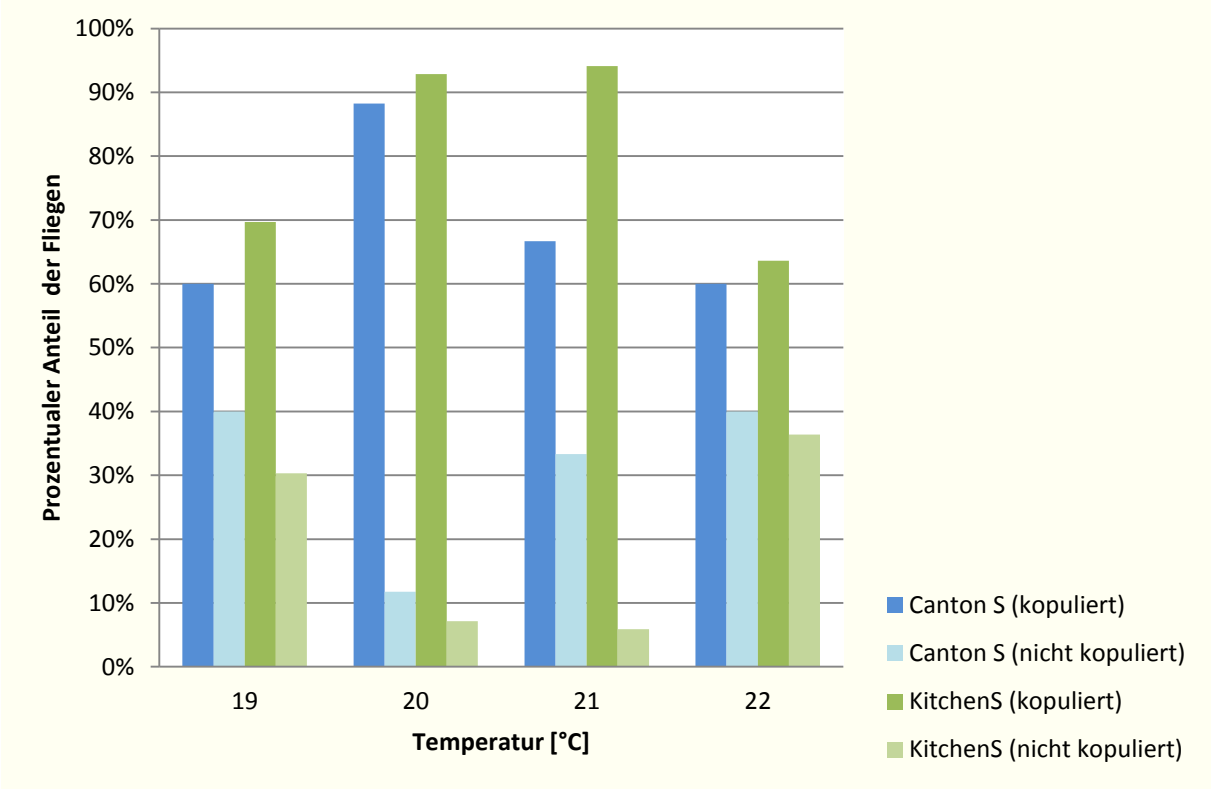

Abbildung 11

Diese Graphik zeigt die prozentuale Verteilung der Fliegen, die bei unterschiedlichen Temperaturen kopulierten bzw. nicht kopulierten, aufgeteilt in Canton S (in blau) und KitchenS (in grün). Beide Wildtypen konnten bei einer Temperatur von 20 °C einen sehr hohen Kopulationserfolg verzeichnen. Bei 21 °C erzielt KitchenS den höchsten Kopulationserfolg mit einer Frequenz von über 94 %, wobei Canton S mit knapp 67 % hier weit zurückliegt.

(Graphik wurde mit Microsoft Office Excel 2007® erstellt.)

5. Diskussion

Die Ergebnisse der Untersuchung zum Inzuchteinfluss auf die Attraktivität der Brautwerbung von *Drosophila melanogaster*-Wildtypen zeigen, dass es keinen signifikanten Unterschied in der Latenz bis zur Kopulation der beiden Wildtyplinien mit den Canton S-Weibchen gibt. Sowohl Canton S- als auch KitchenS-Männchen erhielten den Zugang zum Weibchen unter 400 s. Einige Individuen – bei Canton S und ebenso bei KitchenS – kopulierten sogar bereits nach weniger als 200 s. Es ist möglich, dass die Männchen von KitchenS in der Kopulationslatenz im Vergleich zu den Canton S-Männchen kaum einen Unterschied aufweisen, da hier das Optimum der Latenz liegt und somit nicht verbessert werden kann. Nicht nur die verschiedenen Schritte der Brautwerbung, wie zum Beispiel das Singen, die der visuellen, chemischen, taktilen und akustischen Stimulation des Weibchens dienen (Ewing, 1983), sondern auch das Anzeigen der Akzeptanz des Männchens durch das Weibchen und schließlich auch das erfolgreiche Aufsteigen benötigen eine gewisse Zeit, die scheinbar auch von dem wildgefangenen KitchenS nicht unterboten werden kann. Da auch Canton S eine sehr geringe Dauer bis zur Kopulation aufweist, lässt dies den Schluss zu, dass die Kopulationslatenz nicht von einer dauerhaften Inzucht beeinflusst wird. Auch ist es vorstellbar, dass eine durch Inzucht verursachte Depression, d.h. Reduktion der Fitness (Charlesworth & Charlesworth, 1987; Wright, 1977), durch das sogenannte Purging, bei dem die Inzuchtdepression durch fortgesetzte Inzucht mit der Selektion auf Fitness, vermindert bzw. aufgehoben wurde (Hedrick, 1994) und sich die Fliegen bereits wieder in einer Phase befinden, in der ihre Leistungen in Bezug auf die Latenz nicht mehr reduziert, sondern gesteigert wurden bis hin zum Optimum.

Auch die Betrachtung der Latenz unter der Berücksichtigung der Temperatur ergab für beide Wildtypen keine eindeutige Präferenz. Der Grund dafür könnte bei den gemessenen Untersuchungstemperaturen liegen. Eine Temperaturerhöhung von nur 1 °C kann unter Umständen nicht ausreichend sein, um einen möglichen Effekt auf zu decken.

Vergleicht man die von den Wildtypen erreichten Frequenzen, mit der es zur Kopulation kommt, so wird zwar kein signifikanter Unterschied, aber eine leicht positive Tendenz erkennbar. Der Wildtyp KitchenS erlangte mit elf Prozent häufiger den Zugang zu den Canton S-Weibchen als die Canton S-Männchen. Dies muss

nicht unbedingt bedeuten, dass Canton S-Männchen aufgrund von Inzucht eine verminderte Leistung bei der Brautwerbung erbringen. Möglicherweise erscheinen die KitchenS-Männchen für die Canton S-Weibchen aufgrund von geringen Unterschieden in den einzelnen Brautwerbungsschritten attraktiver. Zum Beispiel könnten die Intervalle bei der Erzeugung der Vibrationen mit den Flügeln, also dem Singen, von KitchenS höhere Frequenzen aufweisen. Eine höhere Intervallfrequenz beim Singen zu produzieren, hat auch einen höheren Energieaufwand zur Konsequenz (Andersson, 1994). Die Tatsache diese Energie in ein solches Merkmal investieren zu können, deutet auf eine hohe Fitness des Männchens hin, die ihn zum favorisierten Paarungspartner erklären kann (Ritchie et al., 2001).

Unter der Berücksichtigung der Temperatur kann vermutet werden, dass es bei einer Temperatur von 20 °C bzw. 21 °C für die Wildtypen thermisch-optimale Bedingungen herrschen, die dazu führen, dass hier mehr Fliegenpaare auf der Kopulationsebene zueinander finden. In einer Studie über *Drosophila montana* wurde gezeigt, dass die Temperatur die Schwingungsfrequenz der Flügel des Männchens bei der Brautwerbung beeinflusst (Ritchie et al., 2001), dies könnte auch hier der Fall sein.

Abschließend kann gesagt werden, dass die über viele Generationen hinweg entstandene Inzucht zwar wahrscheinlich keinen Effekt auf die Attraktivität der Männchen gehabt hat, dennoch sind Auswirkungen auf andere fitnessbezogenen Merkmale nicht auszuschließen. Um weitere Aussagen über den Einfluss der Inzucht treffen zu können, wären zusätzliche Experimente notwendig.
Die Fliegen könnten im Hinblick auf ihre Reproduktionsfähigkeit untersucht werden. Dafür könnte man den „compentative index“ von Knight & Robertson (1957) verwenden.
Ein weiterer Ansatzpunkt wäre die Untersuchung der Fliegen in verschiedenen Stresssituationen, um ihren Toleranzbereich und Überlebensfähigkeit zu testen. Eine mögliche Stresssituation wäre zum Beispiel Kälte. Da natürliche Populationen aufgrund von Tages- und Jahreszeiten unterschiedlicher Witterungsbedingungen ausgesetzt sind (Gibbs, Perkins & Markow, 2003), müssten diese einen großen Toleranzbereich aufweisen. Die Fähigkeit sich an solche thermalen Umschwünge anzupassen, ist entscheidend für das Fortbestehen einer wildlebenden Population (Chown, Addobediako & Gaston, 2002; Hoffmann, Sorensen, & Loeschke, 2003; Klok & Chown, 2003). Um die Fliegen zu testen, könnten diese einer Temperatur von

0 °C ausgesetzt und ihre Erholungsdauer aus dem Kältekoma gemessen werden, wie es von Jean David et al. (1998) bereits an anderer Stelle mit *Drosophila* vorgenommen wurde.

Eine andere Möglichkeit wäre die Hungerresistenz zu messen. Dabei wird die Zeit bis zum Tod der Fliegen gemessen, während diesen keine Nahrungsquelle, sondern nur Wasser, zu Verfügung steht.

6. Referenzen

Amrein, H. (2004). Pheromone Perception And Behavior In *Drosophila*. *Current opinion in neurobiology*, *14*(4), 435-42. doi:10.1016/j.conb.2004.07.008

Andersson, M. (1994). Andersson, M.: Sexual Selection. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ. Retrieved from http://press.princeton.edu/titles/5522.html

Antony, C., Davis, T. L., Carlson, D. A., Pechine, J.-M. & Jallon, J.-M. (1985). Compared Behavioral Responses Of Male *Drosophila Melanogaster* (Canton S) To Natural And Synthetic Aphrodisiacs. *Journal of Chemical Ecology*, *11*(12), 1617-1629. Springer Netherlands. doi:10.1007/BF01012116

Ballard Lab: BABS, UNSW, Sydney, Australia. Retrieved November 15, 2011, 13:22 pm., from http://billb.babs.unsw.edu.au/Identification.htm

Bastock, M. & Manning, A. (1955). The Courtship Of *Drosophila Melanogaster*. *Behaviour*, *8*(2/3), 85-111. E. J. Brill. Retrieved from http://www.jstor.org/pss/4532825

Bennet-Clark, H. C. & Ewing, A. W. (1967). Stimuli Provided By Courtship Of Male *Drosophila melanogaster*. *Nature*, *215*(5101), 669-671. doi:10.1038/215669a0

Capy, P. & Gibert, P. (2004). *Drosophila melanogaster*, *Drosophila simulans*: So Similar Yet So Different. *Genetica*, *120*(1-3), 5-16. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15088643

Charlesworth, D. & Charlesworth, B. (1987). Inbreeding Depression And Its Evolutionary Consequences. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* , *18*, 237-268. Annual Reviews Inc. Retrieved from http://www.jstor.org/pss/2097132

Charlesworth, D. & Willis, J. H. (2009). The Genetics Of Inbreeding Depression. *Nature reviews. Genetics*, *10*(11), 783-96. Nature Publishing Group. doi:10.1038/nrg2664

Chown, S., Addobediako, A. & Gaston, K. (2002). Physiological Variation In Insects: Large-Scale Patterns And Their Implications 1. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, *131*(4), 587-602. doi:10.1016/S1096-4959(02)00017-9

Clark, A. G., Aguade, M., Prout, T., Harshman, L. G. & Langley, C. H. (1995). Variation In Sperm Displacement And Its Association With Accessory Gland Protein Loci In *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, *139*(1), 189-201. Retrieved from http://www.genetics.org/cgi/content/abstract/139/1/189

Crill, W. D., Huey, R. B., & Gilchrist, G. W. (1996). Within- and Between-Generation Effects of Temperature on the Morphology and Physiology of Drosophila melanogaster. *Evolution*, *50*(3), 1205-1218. Society for the Study of Evolution. Retrieved from http://www.jstor.org/pss/2410661

David, J. R., Allemand, R., Van Herrewege, J. & Cohet, Y. (1983). Ecophysiology: abiotic factors. In: Ashburner, M., Carson, H. L. and Thompson, J. N. (eds) The Genetics and Biology of Drosophila, vol. 3d, pp. 105–170. Academic Press, London.

Dickson, B. J. (2008). Wired For Sex: The Neurobiology Of *Drosophila* Mating Decisions. *Science (New York, N.Y.)*, *322*(5903), 904-9. doi:10.1126/science.1159276

Ewing, Arthur W. & Bennet-Clark, H. C. (1968). The Courtship Songs Of *Drosophila*. *Behaviour*, *31*, 288-301. E. J. Brill. Retrieved from http://www.jstor.org/pss/4533231

Ewing, Arthur W. (1983). Functional Aspects Of *Drosophila* Courtship. *Biological Reviews*, *58*(2), 275-292. doi:10.1111/j.1469-185X.1983.tb00390.x

Gibbs, A. G., Perkins, M. C., & Markow, T. A. (2003). No Place To Hide: Microclimates Of Sonoran Desert *Drosophila*. *Journal of Thermal Biology*, *28*(5), 353-362. doi:10.1016/S0306-4565(03)00011-1

Gibert, P., Huey, R. B. & Gilchrist, G. W. (2001). Locomotor Performance Of *Drosophila melanogaster*: Interactions Among Developmental And Adult Temperatures, Age, And Geography. *Evolution*, *55*(1), 205-209. doi:10.1111/j.0014-3820.2001.tb01286.x

Gilchrist, G. W., Huey, R. B. & Partridge, L. (1997). Thermal Sensitivity Of *Drosophila melanogaster*: Evolutionary Responses Of Adults And Eggs To Laboratory Natural Selection At Different Temperatures. The University of Chicago Press. Retrieved from http://www.jstor.org/stable/10.1086/515853

Hedrick, P. W. (1994). Purging Inbreeding Depression And The Probability Of Extinction: Full-Sib Mating. *Heredity*, *73*(4), 363-372. The Genetical Society of Great Britain. doi:10.1038/hdy.1994.183

Heifetz, Y., Lung, O., Frongillo, E. A. & Wolfner, M. F. (2000). The *Drosophila* Seminal Fluid Protein Acp26Aa Stimulates Release Of Oocytes By The Ovary. *Current Biology*, *10*(2), 99-102. doi:10.1016/S0960-9822(00)00288-8

Hoffmann, A., Sorensen, J. & Loeschcke, V. (2003). Adaptation Of *Drosophila* To Temperature Extremes: Bringing Together Quantitative And Molecular Approaches. *Journal of Thermal Biology*, *28*(3), 175-216. doi:10.1016/S0306-4565(02)00057-8

Jean David, R., Gibert, P., Pla, E., Petavy, G., Karan, D. & Moreteau, B. (1998). Cold Stress Tolerance In Drosophila: Analysis Of Chill Coma Recovery In *D. melanogaster*. *Journal of Thermal Biology*, *23*(5), 291-299. doi:10.1016/S0306-4565(98)00020-5

Klok, C. J. & Chown, S. L. (2003). Resistance To Temperature Extremes In Sub-Antarctic Weevils: Interspecific Variation, Population Differentiation And

Acclimation. *Biological Journal of the Linnean Society*, *78*(3), 401-414. doi:10.1046/j.1095-8312.2003.00154.x

Knight, G. R. & Robertson, A. (1957). Fitness As A Measurable Character In *Drosophila*. *Genetics*, *42*(4), 524-30. Retrieved from http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1209847&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

Manning, A. (1959). The Sexual Behaviour Of Two Sibling *Drosophila* Species. *Behaviour*, *15*, 123-145. Retrieved from http://www.ingentaconnect.com/content/brill/beh/1960/00000015/F0020001/art00005

Manning, Aubrey. (1961). The Effects Of Artificial Selection For Mating Speed In *Drosophila melanogaster*. *Animal Behaviour*, *9*(1-2), 82-92. doi:10.1016/0003-3472(61)90054-9

Miller, P. S., Glasner, J. & Hedrick, P. W. (1993). Inbreeding Depression And Male-Mating Behavior In *Drosophila melanogaster*. *Genetica*, *88*(1), 29-36. Springer Netherlands. doi:10.1007/BF02424449

Partridge, Linda, Ewing, A. & Chandler, A. (1987). Male Size And Mating Success In *Drosophila melanogaster*: The Roles Of Male And Female Behaviour. *Animal Behaviour*, *35*(2), 555-562. doi:10.1016/S0003-3472(87)80281-6

Purschke, G., Paululat, A., Purschke, G. & Hentschel, E. J. (2011). Wörterbuch der Zoologie: Tiernamen, allgemeinbiologische, anatomische, physiologische, ökologische Termini (p. 531). Springer Akademischer Verlag, 8. Auflage. Retrieved from http://books.google.com/books?id=481HX4ANXQ8C&pgis=1

Ritchie, M. G., Saarikettu, M., Livingstone, S. & Hoikkala, A. (2001). Characterization Of Female Preference Functions For Drosophila Montana Courtship Song And A Test Of The Temperature Coupling Hypothesis. *Evolution*, *55*(4), 721-727. doi:10.1111/j.0014-3820.2001.tb00808.x

Shorey, H. H. (1962). Nature Of The Sound Produced By Drosophila Melanogaster During Courtship. *Science (New York, N.Y.)*, *137*(3531), 677-8. doi:10.1126/science.137.3531.677

Spieth, H. T. (1974). Courtship Behavior In *Drosophila*. *Annual review of entomology*, *19*, 385-405. Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA. doi:10.1146/annurev.en.19.010174.002125

Sturtevant, A. H. (1915). Experiments On Sex Recognition And The Problem Of Sexual Selection In *Drosoophilia*. *Journal of Animal Behavior*, *5*(5), 351-366. doi:10.1037/h0074109

Sturtevant, A. H. (1920). Genetic Studies On *Drosophila simulans*. I. Introduction. Hybrids With *Drosophila melanogaste*r. *Genetics*, *5*(5), 488-500. Retrieved from http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1200491&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

Taylor, M. L., Wedell, N. & Hosken, D. J. (2007). The Heritability Of Attractiveness. *Current biology : CB*, *17*(22), R959-60. doi:10.1016/j.cub.2007.09.054

Wisco, J. J., Matles, H. & Berrigan, D. (1997). Is The Scaling Of Locomotor Performance With Body Size Constant? *Ecological Entomology*, *22*(4), 483-486. doi:10.1046/j.1365-2311.1997.00085.x

Wolfner, M. F., Harada, H. A., Bertram, M. J., Stelick, T. J., Kraus, K. W., Kalb, J. M., Lung, Y. O. (1997). New Genes For Male Accessory Gland Proteins In *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *27*(10), 825-834. doi:10.1016/S0965-1748(97)00056-8

Wright, S. (1977). Evolution and the Genetics of Populations, Volume 3: Experimental Results and Evolutionary Deductions. Univ. of Chicago Press, Chicago, IL. Retrieved from http://books.google.com/books?hl=de&lr=&id=tRuLC9ktaK4C&pgis=1