

**Zur Evolution der Hirnmorphologie und Anpassungen
an Extremhabitate im Taxon *Poecilia* (Teleostei)**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
Dr. rer. nat.
(doctor rerum naturalium)

vorgelegt beim Fachbereich Biowissenschaften
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

von
Constanze Eifert, M. Sc.
aus Karl-Marx-Stadt
Maintal (2020)

(D30)

Vom Fachbereich 15 der Johann-Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. Sven Klimpel

Fachbereich Biowissenschaften

Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Abteilung für Integrative Parasitologie und Zoophysiologie

Max-von-Laue-Str. 13; 60438 Frankfurt

Gutachter: Prof. Dr. Bruno Streit

Fachbereich Biowissenschaften

Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Abteilung für Ökologie und Evolution

Max-von-Laue-Str. 13, 60438 Frankfurt

PD Dr. Elke Schleucher (Studiendekanatsreferentin)

Fachbereich Biowissenschaften

Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Max-von-Laue-Str. 13, 60438 Frankfurt

Datum der Disputation:

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	6
Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis.....	10
Zusammenfassung	16
1. Einleitung	19
1.1 Ökologische Artbildung entlang von Umweltgradienten	19
1.2 Anpassung an extreme Umweltbedingungen	19
1.2.1 Dauerhafte Dunkelheit in Höhlen	20
1.2.2 Sulfide vulkanischen Ursprungs im Gewässer	20
1.2.3 Umweltfaktor Hypersalinität.....	21
1.2.4 Auswirkung von Prädation auf die Gehirnmorphologie	22
1.3 Aktueller Stand der Forschung zur Hirnevolution bei Teleostei	23
1.4 Hypothesen und Fragestellungen.....	25
2. Untersuchungen im Rahmen der Arbeit	28
2.1 Erbllichkeit von Merkmalen vs. hohe Variationsbreite	28
2.1.1 Studiensystem Cueva del Azufre Flusssystem des Rio Tacotalpa / Mexiko	28
2.1.2 Präparationen	29
2.1.3 Statistik	30
2.1.4 Ergebnisse	33
2.1.4.1 Erbllichkeit von Eigenschaften vs. hohe Variationsbreite	33
2.1.4.2 Freilebende Populationen.....	33
2.1.4.3 Vergleich freilebende- und Laborpopulationen	34
2.2 Konvergente anatomische Veränderungen des Gehirns bei <i>Poecilia</i> durch den Selektionsfaktor H ₂ S.....	39
2.2.1 Flusssysteme Rio Pichucalco, Rio Puyacatengo und Rio Tacotalpa / Mexiko.....	39

2.2.2 Statistik	41
2.2.3 Ergebnisse	42
2.2.3.1 Konvergente anatomische Veränderungen des Gehirns	42
2.2.3.2 Habitatspezifische Unterschiede im Gehirnvolumen von Fischen aus schwefelhaltigen und nicht-schwefelhaltigen Standorten	43
2.3 Konvergente anatomische Veränderungen bei <i>Poecilia vivipara</i> : abiotische vs. biotische Stressoren.....	48
2.3.2 Statistik	53
2.3.3 Ergebnisse	54
3. Gesamt-Diskussion.....	65
3.1 Gibt es konvergente Anpassungen in der Gehirnmorphologie bei verschiedenen nahe verwandten Arten?.....	69
3.2 Wiederholte ("konvergente") anatomische Veränderungen des Gehirns bei <i>Poecilia vivipara</i>	72
4. Schlussfolgerung und Erkenntnisgewinn	77
4. Referenzen.....	78
5. Annex	94
5.1 Publikationen als Teil der vorliegenden Arbeit	94
5.1.1 Erbllichkeit von Eigenschaften vs. hohe Variationsbreite	94
5.1.2 Konvergente anatomische Veränderungen des Gehirns durch H ₂ S.....	94
Erklärung.....	95
Danksagung.....	96

Abkürzungsverzeichnis

ASR.....Aquatic surface respiration

CA.....Cueva del Azufre

DFA.....Diskriminanzfunktionsanalyse

EA.....El Azufre

IKK.....Intraklass-Korrelationskoeffizientenanalyse

LA.....Cueva Luna Azufre

Pich.....Rio Pichucalco

Puy.....Rio Puyacatengo

Tac.....Rio Tacotalpa

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 4:** Hirnareal-Volumen (EMM \pm SEM, größenkorrigiert) von **A.** telenzepale Lappen (ICC = 0,042), **B.** optisches Tektum, **C.** Corpus cerebelli, **D.** Hypothalamus; **E.** Riechkolben und **F.** Gesamthirnvolumen von männlichen und weiblichen *Poecilia mexicana* aus den sechs Sammelstellen Arroyo Bonita (AB), El Azufre (EA), Höhlenkammer II (II), Kammer V (V), Kammer X (X) der Cueva del Azufre und Cueva Luna Azufre (LA). Schwarze Symbole stehen für Männchen, offene Symbole für Weibchen und geschlossene graue Symbole beziehen sich auf im Labor aufgezogene weibliche Tiere. (Eigene Darstellung) 35
- Abbildung 5:** Durchmesser (EMM \pm SEM, größenkorrigiert) von **A.** dem olfaktorischen Nerv und **B.** der Augengröße von *Poecilia mexicana* aus den sechs Fundorten Arroyo Bonita (AB), El Azufre (EA), Höhlenkammer II (II), Kammer V (V), Kammer X (X) der Cueva del Azufre und Cueva Luna Azufre (LA). Geschlossene schwarze Symbole stehen für männliche, offene Symbole für weibliche Tiere. Graue Symbole beziehen sich auf im Labor aufgezogene weibliche Tiere. In der oberen rechten Ecke jedes Diagramms werden die Intraclass-Korrelationskoeffizienten (ICC) angezeigt * $P = 0,017$. (Eigene Darstellung)..... 36
- Abbildung 2:** **A.** Dargestellt ist eine Übersicht über die beprobten Flusssysteme Rio Pichucalco, Rio Puyacatengo und Rio Tacotalpa im Bundesstaat Mexico; **B.** Übersicht über das Cueva del Azufre Systems im Rio Tacotalpa mit Darstellung der Höhlenkammern (67)..... 41
- Abbildung 6:** Vergleich der Volumina **A.** telenzepale Lappen, **B.** optisches Tektum, **C.** Corpus cerebelli, **D.** Hypothalamus, **E.** Gesamthirn und **F.** Augengröße (EMM \pm SEM) von Fischen aus dem *Poecilia* Komplex aus drei Flusssystemen (*P. mexicana*: Tac, Tac-S, Puy, Puy-S, Pich-1, Pich-2; *P. sulphuraria*: Pich-S; *P. petenensis*: Pich-3). Männchen: volle Symbole; Weibchen: offene Symbole. (Eigene Darstellung)..... 44

- Abbildung 7:** Hauptkomponentenanalyse (EMM \pm SD) zum Vergleich der Gehirngröße von Weibchen (nicht-sulfidisch / offen; sulfidisch / hellgrau) und Männchen (nicht-sulfidisch / schwarz; sulfidisch / dunkelgrau). Dargestellt sind die Abstände der Populationen zwischen sulfidischen und nicht-sulfidischen Lebensräumen entlang Hauptkomponente 2 aufgrund der Länge und Breite des optischen Tektums; (■ Tac; ■ Tac-S; ◆ Puy; ◆ Puy-S; ▲ Pich-1; ▼ Pich-2; ▲ Pich-S). (Eigene Darstellung) 45
- Abbildung 3:** Übersicht über das Studiensystem Restinga de Jurubatiba Nationalpark, Brasilien und die neun beprobten Küstenlagunen (Frischwasserlagunen / gelb: Cabiunás, Encantada; Brackwasser-Lagunen / orange: Carapebus, Carcas, Piripiri und Preta; Salzwasserlagunen / hyperhalin; rot: Maria Menina, Catingosa und Pitanga), die sich in abiotischen und biotischen Standortfaktoren unterscheiden. (Eigene Darstellung) 51
- Abbildung 8:** Dargestellt sind die Volumen (EMM \pm SD) von **A.** Riechkolben, **B.** Gesamthirn, **C.** telenzepale Lappen, **D.** optisches Tektum, **E.** Corpus cerebelli und **F.** Hypothalamusvolumen von *Poecilia vivipara* unter Einfluss der Phosphatkonzentration (niedrig / hoch) und Prädationsrisiko (niedrig / hoch); (weiße Symbole: niedrige Phosphatkonzentration (hohe Wassertransparenz); schwarze Symbole: hohe Phosphatkonzentration (niedrige Wassertransparenz)). Kreise zeigen Weibchen, Quadrate zeigen Männchen an. (Eigene Darstellung)..... 58
- Abbildung 9:** Dargestellt sind Unterschiede im Durchmesser (EMM \pm SD) von **A.** Kopf und **B.** Augengröße von *Poecilia vivipara* unter dem Einfluss von niedriger / hoher Phosphatkonzentration und Prädationsrisiko von Fischen aus neun Lagunen des Nationalparks Restinga de Jurubatiba, Brasilien. (weiße Symbole: niedriges Phosphat, Frisch- und Brackwasser; schwarze Symbole: hohe Phosphatkonzentration, hypersalin). Kreise zeigen Weibchen, Quadrate zeigen Männchen an. (Eigene Darstellung) 59

Abbildung 10: Dargestellt sind die untersuchten Umweltparameter (mg / l; Salzgehalt in Promille) der neun Lagunen des Restinga de Jurubatiba Nationalparks, Brasilien. Gemessen im März 2014. **A.** Wassertransparenz (Chlorophyll-a); **B.** Salzgehalt (weiß: Süßwasser, grau: Brackwasser schwarz: Salzwasser (hypersalin)); **C.** Nitrat; **D.** Phosphat (aufgrund der bimodalen Verteilung als hoch und niedrig eingestuft). (Eigene Darstellung) 59

Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1:** Übersicht über die untersuchten Standorte, Abkürzungen, Stichprobengrößen (N), Lebensraumtypen und das Vorhandensein oder Fehlen von Schwefelwasserstoff (H_2S). Beachten Sie, dass sich die Stichprobengrößen von im Labor gezüchteten Fischen nur auf Weibchen beziehen, wohingegen die Stichprobengrößen von freilebenden Tieren beide Geschlechter (Weibchen / Männchen) umfassen. (Eigene Tabelle) 37
- Tabelle 2:** ANOVA-Ergebnisse zeigen Unterschiede zwischen den Standorten (AB, EA, CA-II, CA-V, CA-X und LA) und / oder Geschlechtsdimorphismus von freilebenden Fischen. Abhängige Variablen waren größenkorrigierte Volumina von Riechkolben, telenzephalen Lappen, optischem Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus und Gesamthirn. Feste Faktoren waren „Standort“ und „Geschlecht“. Die F -Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda-Werte von Wilks angenähert. Signifikante P -Werte sind fett gedruckt. (Eigene Tabelle) 37
- Tabelle 3:** MANOVA-Ergebnisse der als abhängige Variablen verwendeten größenkorrigierten (Residuen) Hirnregionvolumina (Telenzephaler Lappen, Optisches Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus). **A.** getestete Volumina von freilebenden Tieren (AB, EA, CA-II, CA-V, CA-X und LA) mit „Licht“, „Toxizität“ und „Geschlecht“ als feste Faktoren. **B.** getestete im Labor aufgezogene und freilebende Weibchen mit „Standort“ und „Aufzuchtbedingung“ als feste Faktoren. Die F -Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda-Werte von Wilks angenähert. Signifikante P -Werte sind fett gedruckt. (Eigene Tabelle) 39
- Tabelle 4:** Übersicht über die untersuchten Populationen (*Poecilia*) von verschiedenen Standorten der Flusssysteme Rio Tacotalpa, Rio Puyacatengo und Rio Pichucalco einschließlich Standortabkürzung (Standort-ID), Stichprobengröße (N) und Vorkommen von H_2S (grau). (Eigene Tabelle)... 45

Tabelle 5: Allgemeine Ergebnisse des linearen Mischmodells (ANCOVA) zur Identifizierung von Unterschieden im Gehirnvolumen zwischen sulfidischen und nicht-sulfidischen Populationen (Rio Tacotalpa: Tac, Tac-S; Rio Puyacatengo: Puy, Puy-S; Rio Pichucalco: Pich-1, Pich-S (*P. sulphuraria*); siehe Tabelle 4). Als abhängige Variablen wurden die Volumina der telencephalen Lappen, des optischen Tektums, des Corpus cerebelli, des Hypothalamus und des Gesamthirns sowie der Durchmesser der Augen verwendet. Als feste Faktoren wurden „Flusssystem“, „Geschlecht“ sowie „Toxizität“ verwendet. „Standort“ wurde als Zufallsfaktor und „Standort (Flusssystem * Toxizität)“ wurde als verschachtelter Term verwendet. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. (Eigene Tabelle) 46

Tabelle 6: MANOVA zur Identifizierung von Unterschieden im Gehirnvolumen zwischen den drei Nebenflüssen (Tac, Tac-S; Puy, Puy-S; Pich-1; Pich-2; Pich-3 (*P. petenensis*); Pich-S (*P. sulphuraria*)) und potentieller Geschlechtsdimorphismus größenkorrigierte Volumen Residuen der telencephalen Lappen, optisches Tektum, Corpus cerebelli und Hypothalamus wurden als abhängige Variablen verwendet. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. Die *F*-Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda-Werte von Wilks angenähert. (Eigene Tabelle) 48

Tabelle 7: MANOVA mit den Hauptkomponenten zur Identifizierung von Unterschieden im Gehirnvolumen zwischen den drei Nebenflüssen (Tac, Tac-S; Puy, Puy-S; Pich-1; Pich-2; Pich-3 (*P. petenensis*); Pich-S (*P. sulphuraria*)) und möglichem Geschlechtsdimorphismus: Hauptkomponenten der größenkorrigierten Volumen Residuen von telencephalen Lappen, optischem Tektum, Corpus cerebelli und Hypothalamus wurden als abhängige Variablen verwendet. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. Die *F*-Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda-Werte von Wilks angenähert. (Eigene Tabelle) 48

Tabelle 8: Umweltparameter mit geografischen Koordinaten der ab März 2014 beprobten Lagunen des Nationalparks Restinga de Jurubatiba (Brasilien). Salzgehalt in Promille (‰). Die Lagunen wurden nach dem Salzgehaltsgradienten von Süßwasser zu Salzwasserlagunen zugeordnet. PR (Prädationsrisiko); WT (Wassertransparenz); P (Phosphat aufgrund der bimodalen Verteilung als hoch und niedrig eingestuft) (Eigene Tabelle)..... 60

Tabelle 9: Ergebnisse der multivariaten Kovarianzanalyse (MANCOVA) zeigen Volumenunterschiede in den Gehirnarealen von Männchen und Weibchen zwischen den Standorten. Die abhängigen Variablen wurden SL / Hirnmasse korrigiert und die Volumina von telenzephalen Lappen, optischem Tektum, Corpus cerebelli und Hypothalamus lg 10 transformiert. Feste Faktoren waren „Geschlecht“, „Prädationsrisiko“ (niedrig / hoch), „Phosphat“ (aufgrund der bimodalen Verteilung als niedrig / hoch eingestuft, siehe Zusatzmaterial, Abb. 10) und Wechselwirkungsbedingungen. Kovariaten waren "Salinität", "Nitrat" und "Lebensraumproduktivität (Chlorophyll a). Die *F*-Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda Werte von Wilks angenähert. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. Die Effektstärke (*Partiell η*²) ist nach Cohens (1988) grau markiert und zeigt die wichtigsten Auswirkungen der Faktoren auf die einzelnen Bereiche. (Eigene Tabelle) 60

Tabelle 10: Spearman-Rangkorrelationskoeffizient mit größenkorrigiertem Hirnvolumen (unlogarithmiert), Kovariaten: „Salzgehalt“, „Nitrat“, „Wassertransparenz“ (als Chlorophyll-a bewertet) und feste Faktoren („Phosphat“). Angezeigt wird der Korrelationskoeffizient Spearmans 'rho (r), der die statistische Abhängigkeit zwischen den Rankings zeigt und nach Cohen (1988) eingeteilt wird; signifikantes *P*-Level (*). (Eigene Tabelle)..... 61

Tabelle 11: Ergebnisse einer univariaten Kovarianzanalyse (ANCOVA) zeigen Volumenunterschiede zwischen den Standorten und / oder Geschlechtsdimorphismus von *P. vivipara*. Abhängige Variablen: (korrigiert mit kovariaten SL / BM- und Ig10-transformiert) Telenzephale Lappen,

Optisches Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus, Gesamthirn- und Riechkolben Volumen. Feste Faktoren: „Geschlecht“, „Prädationsrisiko“ (niedrig / hoch), „Phosphat“ (aufgrund der bimodalen Verteilung als niedrig / hoch eingestuft, Abb. 10) und Interaktionsterme. Kovariaten: "Salinität", "Nitrat" und "Wassertransparenz". Nicht signifikante Interaktionsterme wurden ausgeschlossen. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. Die Effektstärke wird nach Cohen (1988) grau hervorgehoben. Eigene Tabelle . 62

Tabelle 12: Ergebnisse einer univariaten Kovarianzanalyse (ANCOVA) zeigen Durchmesserunterschiede und / oder Geschlechtsdimorphismus von *P. vivipara*. Die abhängigen Variablen, wie Augengröße und Kopfgröße wurden größenkorrigiert mit Kovariate SL und Ig10 transformiert. Feste Faktoren waren Geschlecht, Prädationsrisiko (niedrig / hoch), Phosphatkonzentration (aufgrund der bimodalen Verteilung als niedrig / hoch eingestuft, Abb. 10) und Wechselwirkungsbedingungen. Kovariaten waren "Salzgehalt", "Nitrat" und "Wassertransparenz". Nicht signifikante Interaktionsterme wurden aus dem Modell ausgeschlossen. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. Die Effektstärke wird nach Cohen (1988) grau hervorgehoben. (Eigene Tabelle) 64

Abstract

Since the teleost brain is an energetically expensive organ and much more plastic, than, e.g. in mammals, the question arose, how brain anatomy has been shaped by divergent ecological factors in different environments, representing 'extreme', 'resource limited' and 'favorable' conditions. Therefore, intraspecific studies on free-living and laboratory individuals were performed in order to understand the evolutionary and ecological shaping of the brain. In the first part of the thesis, brain volumes between reproductively isolated populations of the neotropical fish *Poecilia mexicana* ($N_{total} = 95$) living in the dark (in the Cueva Luna Azufre, Southern Mexico), toxic hydrogen sulphide in a near-by surface habitat (El Azufre), and a combination of both stressors darkness and hydrogen sulfide (Cueva del Azufre) were compared. In a second study anatomical ("convergent") changes were tested in the teleost brain along a natural gradient of sulfide concentrations. For this, brains of *P. mexicana* ($N_{total} = 100$), which independently developed an increased tolerance to hydrogen sulphide (H_2S) in three river systems (Rio Tacotalpa, Rio Puyacatengo, Rio Pichucalco) in the south of Mexico were compared. These included a phylogenetically old H_2S -adapted form (*P. sulphuraria*) and two *P. mexicana* forms representing earlier stages of adaptation to H_2S . In order to check how other abiotic and biotic factors influence the morphology of the brain areas phenotypic changes of the brain areas and body morphology of *Poecilia vivipara* populations ($N_{total} = 211$) from lagoons of the Restinga de Jurubatiba National Park in the state of Rio de Janeiro (Brasil) were analysed, which vary in abiotic and biotic conditions, especially in salinity concentration, water transparency, phosphate, nitrate and predator density. The first study showed habitat-dependent differences in free-living fish. Enlarged telencephalic lobes, reduced eye size and optical tecta were found in fish living in darkness with H_2S (CA), in darkness without H_2S (LA), or in surface habitat with H_2S (EA). Fish from the sulfidic cave (CA) additionally showed an enlarged corpus cerebelli. The comparison to the brains of laboratory reared female fish ($N_{total} = 25$) shows a general reduction in brain size as well as a small brain size divergence between laboratory reared and free-living fish. Even in the second study, all H_2S -adapted fishes showed smaller eyes, a smaller optical tectum volume, and a smaller brain volume, but a larger corpus cerebelli and hypothalamic volumes than fishes from non-sulfidic habitats. River system specific effects were found for the telencephalic lobes, the entire brain and the eye size as the sexes responded differently to the presence of H_2S , depending on the source of the river system. Also, study three shows that

environmental factors can cause remarkable shifts in the brain and brain areas. Fishes adapted to freshwater showed decreased total brain size, telencephalic lobes, corpus cerebelli and hypothalamus volume. In addition, fishes from saltwater lagoons (hypersaline) showed reduced optic tectum volume, whereas telencephalic lobes, corpus cerebelli and hypothalamus volumes increased, compared to freshwater adapted fishes. Brackish water adapted fishes, showed the largest brain area volumes compared to fresh- and saltwater adapted fishes. In addition, the results also show differences in the morphology of head and eye diameters across lagoons. For eye size, head size, optical tectum, hypothalamic, and total brain volume, sexually dimorphic patterns were observed. The results illustrated that the patterns are almost identical to those found in fishes living in sulfidic environment. The distinct differences in the brain regions between free-living fishes can be interpreted as part of the mosaic development. But the results of the laboratory populations show a high amount of phenotypic plasticity. This study thus emphasizes the importance of combining the study of free-living individuals with laboratory individuals to answer questions of brain evolution. Smaller eyes and a smaller optic tectum, but larger telencephalic lobes were also found in fishes from a sulphidic surface habitat near one of the caves and are the results of limited vision in turbid sulfidic habitats. Turbidity and toxicity in sulphidic habitats may explain patterns of brain size divergence, which are similar in direction (but not degrees) to those observed in cave fishes. Therefore, the variation in brain anatomy reflects large ecological differences, and repeated ecological gradients can lead to convergent differences in brain anatomy. The third study shows plastic changes in the brain volume of poeciliids living in fresh- brackish- and salt water, which lead to remarkable shifts in the brain and body of *P. vivipara* populations. Populations living in saltwater lagoons, whose waters are turbid, show identical patterns to the sulfide-adapted fishes tested in study one and two. Furthermore, the areas of the brain decreased in females with an increasing risk of predation, but were larger in males (olfactory bulb, total brain size, telencephalic lobes, optic tectum, corpus cerebelli and hypothalamus). This thesis showed plastic changes in the brain volume of poeciliids living in fresh-, brackish- and salt water, which lead to remarkable shifts in the brain and body of *P. vivipara* populations. Repeated ecological gradients can lead to convergent differences in brain anatomy in fishes living under 'extreme', 'resource limited' and 'favorable' conditions.

Zusammenfassung

Diese Dissertation befasst sich mit den Auswirkungen kontrastierender Umweltbedingungen auf die Gehirnmorphologie von neotropischen Fischen der Gattung *Poecilia*, welche unterschiedlichen abiotischen sowie biotischen Stressoren ausgesetzt sind. Da das Gehirn der Teleostei ein energetisch kostspieliges Organ und viel plastischer ist als z. B. bei Säugetieren, stellt sich die Frage, wie die Gehirnanatomie durch divergierende ökologische Faktoren in verschiedenen Umgebungen geformt wird, die 'extreme', 'ressourcenbeschränkte und günstige' Umgebungen repräsentieren. Zur Beantwortung dieser Frage wurden intraspezifische Studien an freilebenden und Laborindividuen von *Poecilia*-Arten durchgeführt, um die evolutionäre und ökologische Formgebung des Gehirns besser verstehen zu lernen. Im ersten Teil der Arbeit wurden Gehirnvolumina verglichen zwischen reproduktiv isolierten Populationen des neotropischen Fisches *Poecilia mexicana* ($N_{total} = 95$), die in Dunkelheit leben (Cueva Luna Azufre), in einem nahegelegenen Oberflächenhabitat (El Azufre), welcher giftigen Schwefelwasserstoff enthält und einer Kombination aus beiden Stressoren Dunkelheit und H_2S (Cueva del Azufre). In einer zweiten Studie wurde auf anatomische („konvergente“) Veränderungen im Teleost-Gehirn entlang eines natürlichen Gradienten von Sulfidkonzentrationen getestet. Hierfür wurden Gehirne ($N_{total} = 100$) von *P. mexicana* verglichen, die in drei Flusssystemen im Süden Mexikos unabhängig voneinander eine erhöhte Toleranz gegenüber Schwefelwasserstoff (H_2S) entwickelt haben. Dazu gehörten eine phylogenetisch alte H_2S -adaptierte Form (*P. sulphuraria*) und zwei *P. mexicana* Formen, welche frühere Stufen der Anpassung an H_2S darstellen. Zur Überprüfung des Einflusses anderer abiotischer und biotischer Faktoren auf die Morphologie der Gehirnregionen wurde eine weitere Studie durchgeführt. Hierbei wurden die phänotypischen Variationen der Gehirnregionen und der Körpermorphologie von *Poecilia vivipara*-Populationen ($N_{total} = 211$) aus Lagunen des Restinga de Jurubatiba Nationalpark untersucht, die sich in abiotischen Umgebungsbedingungen, insbesondere in Salzgehalt, Wassertransparenz, Phosphat und Nitrat sowie biotischen Faktoren wie Prädatorendichte unterschieden. Die erste Studie zeigte lebensraumabhängige Unterschiede bei freilebenden Fischen. Bei Fischen, die in Dunkelheit ohne H_2S (LA) oder in Oberflächenhabitaten mit H_2S lebten, wurden vergrößerte telenzephal Lappen, kleinere Augen und optische Tekta gefunden. Fische aus der sulfidischen Höhle (CA) zeigten zusätzlich vergrößerte Corpus cerebelli. Der Vergleich mit den Gehirnen von Labor

aufgezogenen weiblichen Fischen ($N_{total} = 25$) zeigt eine allgemeine Verringerung der Gehirngröße sowie eine geringe Abweichung der Gehirngröße zwischen Labor aufgezogenen und freilebenden Fischen. Auch in der zweiten Studie zeigten alle in H_2S -haltigen Lebensräumen lebenden Fische kleinere Augen, ein kleineres optisches Tektum und ein kleineres Gehirnvolumen, jedoch größere Corpus cerebelli und Hypothalamusvolumen als Fische aus nicht-sulfidischen Lebensräumen. Flusssystem-spezifische Effekte wurden für die telencephalen Lappen, das gesamte Gehirn und die Augengröße festgestellt, da die Geschlechter je nach Quelle des Flusssystems unterschiedlich auf das Vorhandensein von H_2S reagierten. Die dritte Studie zeigt auch, dass andere Umwelteinflüsse bemerkenswerte Verschiebungen im Gehirn und in den Gehirnregionen verursachen können. Fische, die im Süßwasser leben, zeigten eine verringerte Gesamthirngröße, telencephale Lappen, Corpus cerebelli und Hypothalamusvolumen. Darüber hinaus zeigten Fische aus Salzwasserlagunen (hypersalin), ein verringertes Volumen des optischen Tektum, während telencephale Lappen, Corpus cerebelli und Hypothalamusvolumen im Vergleich zu Süßwasserfischen vergrößert waren. Im Brackwasser lebende Fische wiesen im Vergleich zu Süß- und Salzwasserfischen die größten Gehirnregion-Volumen auf. Darüber hinaus zeigten die Ergebnisse über die Lagunen hinweg auch Unterschiede in der Morphologie der Kopf- und Augendurchmesser. Bei Augengröße, Kopfgröße, optischem Tektum Volumen, Hypothalamusvolumen und dem Gesamthirnvolumen wurde ein sexueller Dimorphismus beobachtet. Die dargestellten Ergebnisse verdeutlichen, dass die gefundenen Muster nahezu mit denen von H_2S -Fischen identisch sind. Die ausgeprägten Unterschiede in den Hirnregionen zwischen freilebenden Fischen können als Teil der Mosaikentwicklung interpretiert werden. Die Ergebnisse der Laborpopulation zeigen jedoch eine hohe phänotypische Plastizität. Diese Studie unterstreicht damit die Bedeutung der Kombination der Untersuchung von freilebenden mit im Labor lebenden Individuen zur Beantwortung von Fragen der Gehirnentwicklung. Kleinere Augen und ein kleineres optisches Tektum, aber größere telencephale Lappen wurden auch bei Fischen aus einem sulfidischen Oberflächenhabitat in der Nähe einer der Höhlen gefunden und sind den Ergebnissen zufolge das Resultat begrenzter Sehkraft in trüben sulfidischen Lebensräumen. Trübung und Toxizität in sulfidischen Lebensräumen können Muster von Abweichungen der Gehirngröße erklären, die in der Richtung (aber nicht im Grad) denen ähneln, die bei Höhlenfischen beobachtet wurden. Daher spiegelt die Plastizität in der Gehirnanatomie große ökologische Unterschiede wider. Zudem können wiederholte ökologische Gradienten zu konvergenten Unterschieden in der Gehirnanatomie führen. Die

dritte Studie zeigte plastische Veränderungen im Hirnvolumen von im Süß-Brack- und Salzwasser lebenden Poeciliiden, die zu bemerkenswerten Verschiebungen im Gehirn und im Körper von *P. vivipara*-Populationen führen. Populationen, die in Salzwasserlagunen leben, dessen Wasser Trübung aufweist, zeigen identische Muster wie die Sulfid angepassten Fische, aus Studie eins und zwei. Des Weiteren verringerten sich bei steigendem Prädationsrisiko die Gehirnregionen bei Weibchen, lagen jedoch bei Männchen vergrößert vor (Riechkolben, Gesamthirn, telencephale Lappen, Corpus cerebelli und Hypothalamusvolumen). Diese These zeigt, dass wiederholte ökologische Gradienten zu konvergenten Unterschieden in der Gehirn-anatomie bei Fischen (*Poecilia*) führen können, die unter 'extremen', 'ressourcenbegrenzten' und 'günstigen' Bedingungen leben.

1. Einleitung

Diese Dissertation befasst sich mit den Auswirkungen kontrastierender Umweltbedingungen auf die Gehirnmorphologie von neotropischen Fischen der Gattung *Poecilia*, welche unterschiedlichen abiotischen sowie biotischen Stressoren ausgesetzt sind.

1.1 Ökologische Artbildung entlang von Umweltgradienten

Die Erforschung von Anpassungen an sich verändernde Umweltbedingungen auf Ebene von Physiologie, Anatomie und Verhalten stellt ein Kernthema der Evolutionsbiologie dar. Anpassungen an ökologische Gradienten können nicht nur Verschiebungen adaptiver Merkmale hervorrufen (wie die Zunahme oder Verstärkung von Abweichungen zwischen nah verwandten Arten, die im selben Verbreitungsgebiet leben), sondern auch Prozesse der Artbildung (Speziation) vorantreiben. Diese ökologische Artbildung wird verstärkt, wenn natürliche Selektion die Merkmalsausprägung verschiebt, dadurch direkt oder indirekt den Genpool einer Population beeinflusst und somit zu reproduktiver Isolation führt (Schluter, 2001). Besonders gut kann diese ökologische Artbildung entlang ökologischer Gradienten beobachtet werden, die durch die An- oder Abwesenheit bzw. unterschiedliche Stärke ökologischer Stressoren charakterisiert sind. Lokale Umweltbedingungen können im Verlauf der Anpassung sowohl präzygotische (Turelli, et al., 2001) als auch postzygotische (Hatfield & Schluter, 1999) Isolationsmechanismen hervorrufen. Diese genetische Differenzierung wird auch als "Isolation infolge Adaption" (engl. *isolation-by-adaption*) bezeichnet (Nosil, et al., 2009) und kann zur ökologischen Artbildung führen (Rundle, et al., 2000; Schluter, 2001; Rundle & Nosil, 2005; Dettman, et al., 2007; Langerhans, et al., 2007).

1.2 Anpassung an extreme Umweltbedingungen

Das Spezielle "extremer Umweltbedingungen" ergibt sich daraus, dass sich mindestens ein Stressor außerhalb der normalen Skala befindet. Umweltbedingungen können allgemein in abiotisch (z. B. Lichtintensität und -qualität, Temperaturvariation, Salzkonzentration, pH-Wert) und biotisch (z. B. Nahrungskonkurrenz, Prädatorendruck, Nahrungsangebot) unterschieden werden. Manche Arten können einen weiten, andere einen eher engen Bereich der Faktorenvariation tolerieren. Faktorenkombinationen, die nur von wenigen Arten toleriert werden, können als Extrembedingungen bezeichnet werden. Diesen Extrembedingungen

gegenüber sind die meisten anderen Arten lediglich kurzzeitig tolerant. Wie Péqueux, 2008 und Tobler & Plath, 2011 zeigen, ist die Aufrechterhaltung der inneren Homöostase unter diesen Bedingungen für einen Organismus besonders energieaufwändig (28; 138).

1.2.1 Dauerhafte Dunkelheit in Höhlen

Zu den extremen Lebensräumen zählen Höhlensysteme mit stabilen klimatischen Eigenschaften (gleichmäßige Temperatur und Luftfeuchtigkeit, geringem oder gänzlichem Fehlen von Licht), die durch spezielle Tiergemeinschaften besiedelt werden. Höhlen weisen – durch das Fehlen von Primärprodukten photoautotropher Organismen – eine typische Nahrungsmittelknappheit auf (Poulson & White, 1969). Es sind "unwirtliche Lebensräume". Die Populationen sind häufig vergleichsweise individuenarm, was eine eher geringe Variabilität und damit potenzielle Adaptionsrate bewirkt (Poulson & White, 1969). Generell ist die genetische Vielfalt sowie die phänotypische Plastizität infolge natürlicher Selektion (vgl. genetischer Flaschenhals: Atarhouch, et al., 2006) in Höhlen nach einer Primäranpassung reduziert, da aufgrund der stabilen Umweltbedingungen weniger Selektion stattfindet. Aufgrund dessen, dass Höhlentiere oft Nachfahren von regional noch vorkommenden Oberflächentieren sind, ist es möglich beide Ökotypen miteinander zu vergleichen, um festzustellen, welche Anpassungen an das Habitat reduziert oder verstärkt sind (Jeffrey, 2001). Zu dieser Thematik wurden für Süßwasserfische verschiedene Studien veröffentlicht (Poulson, 1963; *Amblyopsis spp.*: Poulson & White, 1969; *Astyanax mexicanus*: Jeffrey, 2001; Parzefall, 2001; *Poecilia mexicana*: Plath & Tobler, 2010), die im Wesentlichen identische Veränderungen zeigten, z. B. reduzierte Augen (Plath, et al., 2004), Pigmentverlust (Poulson & White, 1969), Vergrößerung des Seitenlinienorgans (Poulson & White, 1969; Parzefall, 1970) sowie verminderte Fruchtbarkeit und größere Nachkommen (Poulson & White, 1969; Hüppop & Wilkens, 1991).

1.2.2 Sulfide vulkanischen Ursprungs im Gewässer

In Gebieten mit erhöhter vulkanischer Aktivität können kurzzeitig hohe Konzentrationen von Sulfiden (Schwefelwasserstoff H_2S und seine Dissoziationsprodukte) auftreten. Es gibt viele Habitats, die dauerhaft eine hohe Konzentration von Sulfiden aufweisen (vgl. Tiefsee Hydrothermalquellen: Van Dover, 2000; Höhlen: Tobler, et al., 2006; Riesch, et al., 2010; Tobler & Plath, 2011). Sulfide werden von im Wasser gelöstem Sauerstoff oxidiert und

führen zu Hypoxie und einem sinkendem pH-Wert. Sie können wegen ihrer Lipidlöslichkeit biologische Membranen durchdringen und wirken als Inhibitoren der Cytochrom c Oxidase, indem sie den Elektronentransport in der aeroben Respiration blockieren (Reiffenstein, et al., 1992). Sulfide binden das Eisen im Hämoglobin und ersetzen den Sauerstoff. Dies wiederum kann zum Massensterben der lokalen Fauna und zur Eutrophierung des Gewässers führen (Torrans & Clemens, 1982; Grieshaber & Völker, 1998; Bagarinao & Lantin-Olaguer, 1999). H₂S ist aufgrund seines biochemischen Effektes bereits in mikromolaren Mengen für die meisten aeroben Organismen hoch toxisch (Torrans & Clemens, 1982; Bagarinao, 1992; Grieshaber & Völker, 1998). Durch Methylierung, nicht-spezifische Oxidation oder enzymatische Oxidation kann in den Mitochondrien eine Detoxifikation schädlicher Chemikalien erreicht werden. Viele Organismen sind in der Lage Sulfide zu Thiosulfat zu detoxifizieren und auf diese Weise Energie zu gewinnen (vgl. *Fundulus parvipinnis*, Kalifornischer Killifisch: Bagarinao & Vetter, 1990). Fische der Gattung *Poecilia* haben eine spezifische Verhaltensweise – die aquatische Oberflächenatmung (engl. „Aquatic surface respiration, ASR“) entwickelt, um mit erhöhten Schwefelkonzentrationen zurechtzukommen. Populationen die hypoxische H₂S-haltige Habitate besiedeln, sind dadurch in der Lage die Luft-Wasser-Grenzfläche zu nutzen, in der der höchste relative Sauerstoffgehalt und die geringste Sulfidkonzentration vorhanden ist (Plath, et al., 2007a). Da es sich hierbei um eine energieaufwändige Verhaltensanpassung handelt, stehen weniger Energieressourcen für Wachstum und Reproduktion zur Verfügung (Calow, 1989; Sibly & Calow, 1989). Dieses Phänomen wird auch als „trade-off“ (Austausch, Abstimmung, Kompromiss) bezeichnet und ist ebenfalls in anderen Fischarten (vgl. Cyprinodontidae: *Rivulus hartii*; Characidae: *Hypessobrycon pulchripinnis*) unter hypoxischen Bedingungen nachweisbar (Kramer & McClure, 1982). Die erbliche Komponente dieser Anpassung wurde bei Fischen der Gattungen *Gambusia* und *Poecilia* untersucht. Es zeigte sich, dass Fische aus H₂S Lebensräumen unter Laborhaltung auch noch nach mehreren Generationen eine erhöhte Toleranz gegenüber H₂S aufweisen, auch wenn sie nicht in einer sulfidischen Umwelt leben.

1.2.3 Umweltfaktor Hypersalinität

Der Salzgehalt eines Gewässers stellt ebenfalls einen extremen Umweltfaktor dar. Marine Ökosysteme und deren abiotische Lebensbedingungen zeichnen sich durch eine in der Regel einheitliche Salzkonzentration (ca. 35 Promille) und eine ausreichende

Sauerstoffkonzentration aus. Die Salzkonzentration von zufließenden Flüssen liegt in der Regel bei unter 0,3 Promille (Wittig & Streit, 2004, pp. 139-140). In Kapitel 2.3 wird insbesondere die Gehirnmorphologie von Fischen (*Poecilia vivipara*) unter Einfluss eines Salzgradienten untersucht. Salz kann sowohl die biotischen Eigenschaften (vgl. z. B. Vorhandensein / Fehlen von Raubtieren: Hollanda-Carvalho, et al., 2003; Verfügbarkeit von Nahrungsmitteln: Gomes Jr. & Monteiro, 2008; Suzuki, et al., 1998) als auch abiotische Eigenschaften beeinflussen (vgl. z. B. Habitatstruktur: Hollanda-Carvalho, et al., 2003; physikalisch-chemische Eigenschaften von Wasser: Gomes Jr. & Monteiro, 2008; Nitrifikation: Santoro & Enrich-Prast, 2009). Des Weiteren ist die Salzkonzentration für die Erhöhung der Wachstumshormonkonzentration (Deane & Woo, 2009), für die Effizienz des Stoffwechsels (Haney & Walsh, 2003) und für die Senkung der Energiekosten bei der Osmoregulation (Boeuf & Payan, 2001) verantwortlich. Die aquatische Vegetation und insbesondere aquatische Organismen benötigen spezifische Anpassungen unter diesen Bedingungen. Dies wird bei Fischen durch die osmoregulatorischen Mechanismen mitochondrienreicher Zellen in den Kiemen sichergestellt (Rocha, et al., 2010). Weaver et al. (2016) zeigen Beweise für mitochondriale Veränderungen in den Kiemen und dadurch bedingt eine vierfach höhere Expression der ATP-Synthase in Kiemengewebe aus Hypersalzpopulationen von z. B. *Limia*. Araújo, et al. (2014) postulierte eine direkte Assoziation der mittleren Körpergröße mit einem Salzgradienten sowie mit anderen Adult-Größen wie Fruchtbarkeit und Nachwuchsgröße bei *Poecilia*.

1.2.4 Auswirkung von Prädation auf die Gehirnmorphologie

In allen Habitaten kommt es zur Interaktion zwischen unterschiedlichen Arten, da diese in der Regel miteinander vergesellschaftet sind. Das gemeinsame Auftreten beruht auf der gemeinsamen Nutzung von Ressourcen beziehungsweise der Präferenz für gleiche abiotische Standortfaktoren. Lebewesen haben sich im Laufe der Evolution an das Zusammenleben mit anderen Arten angepasst und tragen untereinander zur Regulierung von Populationen bei (vgl. Bestäuber: Wittig & Streit, 2004). Dieses Zusammenleben kann zum gegenseitigen Nutzen (durch Symbiose), aber auch nachteilig für eine oder auch mehrere Populationen sein, da sie in Konkurrenz zueinander stehen. Der Einfluss der Prädation auf unterschiedliche Populationen von *Poecilia vivipara* durch aquatische karnivore Räuber ist nicht unerheblich. Der Prädationsdruck wurde als wichtige Kraft vorgeschlagen, die Gehirn, Verhalten und

Lebensgeschichte beeinflusst. Gomes Jr. & Monteiro (2008) zeigten, dass Populationen, die unter hohem oder niedrigem Raubdruck zueinander stehen, eine beträchtliche Variation der Körperform aufweisen. Sie stimmen mit den Mustern überein, die für andere Poeciliid-Arten beobachtet wurden. Jüngste Studien deuten darauf hin, dass die Anwesenheit von Prädatoren größere Gehirne bei den Beutetieren hervorrufen können, da erhöhte kognitive und sensorische Fähigkeiten es der Beute ermöglichen, Raubtieren besser zu entgehen oder ihre Leistung zu verbessern (Kotrschal, et al., 2015a; van der Bijl, et al., 2015). Kotrschal, et al. (2013) und (2017) untersuchten in einem offenen Feldtest mit *P. reticulata*, dass die Räuber-Beute-Interaktion, die für die anatomische Vielfalt des Wirbeltiergehirns entscheidend ist, die Gehirngröße und somit das Verhalten von Individuen stark beeinflusst hat. Zusätzlich weist Reddon, et al. (2018) darauf hin, dass die Prädatorenexposition bei freilebenden und Labortieren (bei männlichen Guppies) die relative Hirnmasse erhöht.

1.3 Aktueller Stand der Forschung zur Hirnevolution bei Teleostei

Es gibt viele, teils sehr kontrovers diskutierte Studien, die die Frage behandeln, welche Faktoren die relative Hirngröße beeinflussen. Es wurden Aspekte, wie Hirn-Körper-Verhältnis, die Aussagekraft über Intelligenz (Striedter, 2005) und spezifischer Verhaltensweisen (Humphrey, 1976; Jerison, 1976) betrachtet. *„Trotz intensiver Erforschung der „Intelligenz“ in den vergangenen hundert Jahren gehen die Auffassungen darüber, was unter Intelligenz zu verstehen ist, weit auseinander. Ein Grund für diese Uneinigkeit entspringt wohl der Tatsache, dass Intelligenz als Begriff keinen allgemein anerkannten, objektiven Inhalt besitzt“* (Funke & Vaterrodt, 2009). Striedter (2005) zeigte, dass Tiere, welche Jagdstrategien entwickeln, ein größeres Gehirn besitzen, als Tiere, welche keine erkennbare Strategie aufweisen („Hypothese des schlauen Jagens“). Da nachweislich ein Zusammenhang zwischen Hirngröße und der Intelligenz besteht, beschrieb Jerison (1976), die biologische Intelligenz als die Kapazität Wahrnehmungswelten zu erschaffen, indem unter anderem Informationen der Sinnesorgane einbezogen werden. *„Die Wahrnehmung ist eine psychologische Funktion, die dem Organismus (mittels spezieller Einrichtungen: Sinnesorgane) die Aufnahme und Verarbeitung von Informationen betreffs Zustand und Veränderung der Außenwelt ermöglicht“* (Arnold, et al., 1996, p. 2519). Humphrey (1976) postulierte, dass auch das Sozialverhalten positiv mit der Intelligenz und somit mit der

Gehirngröße zusammenhängt. Pollen et al., 2007 zeigte das diese ursprünglich für Primaten entwickelte Hypothese auch auf Barsche übertragbar ist.

Gemäß der „teuren Gewebe-Hypothese“ müssen die Vorteile einer erhöhten Gehirngröße die damit verbundenen Kosten überwiegen (Aiello & Wheele, 1995; Atwell & Laughlin, 2001; Kotrschal, et al., 2013). Da auch der relative Anteil einzelner funktioneller Regionen des Gehirns betrachtet werden muss (Glendenning & Masterton, 1998), sind in diesem Zusammenhang zwei Hypothesen von großer Bedeutung entstanden, welche die evolutive Veränderung von Gehirnregionen betrachtet. Die von Barton & Harvey, 2000 und de Winter & Oxnard, 2001 entwickelte Hypothese der Mosaikrevolution besagt, dass sich einzelne Hirnregionen bedingt durch natürliche Selektion unabhängig voneinander verändern können. Wenn ein Selektionsdruck eine spezifische Verhaltensweise beeinflusst, bewirkt dies eine Veränderung der Hirnregion, die dieses Verhalten steuert. Im Gegensatz dazu steht die Theorie der konzertierten Evolution (Finlay & Darlington, 1995; Finlay, et al., 2001), welche besagt dass sich das Gehirn als eine funktionelle Einheit – also abhängig von den einzelnen Hirnregionen – als Reaktion auf natürliche Selektion an gegebene Umweltbedingungen anpasst. Zusätzlich zu der Frage, wie sich Hirnregionen evolutiv entwickeln, ist zu klären, wie sich diese Anpassungen an gegebene Umwelten äußern. Bei einer phänotypischen Ausprägung von Eigenschaften spielen sowohl Umwelteinflüsse als auch die Gene eine wichtige Rolle. Daher stellte sich die Frage, ob diese Anpassungen an nachfolgende Generationen weitergegeben werden können. Bei erblichen Merkmalen (Gene sind für dieses Merkmal fixiert) entspricht der Phänotyp dem Genotyp. Bei nicht erblichen Merkmalen hängt die phänotypische Ausprägung maßgeblich von den individuellen Umweltbedingungen ab. Das Verhältnis von genetischer Varianz zur Gesamtvarianz eines Merkmals wird als Heritabilität im weiteren Sinne (h^2) beschrieben (Falconer, 1981). Die Anpassung von Lebewesen an ihren Lebensraum oder die genetisch festgelegte Ausprägung von bestimmten Merkmalen, die maßgeblich von den individuellen Umweltbedingungen abhängen, wird auch als Plastizität bezeichnet. Das heißt, der Phänotyp eines Individuums kann durch Umwelteinflüsse hervorgerufen werden, indem sich auch erworbene Eigenschaften widerspiegeln (vgl. vergrößerte/verkleinerte Muskelgruppen je nach Gebrauch oder Kleinwuchs bei widrigen Umweltbedingungen). Diese erworbenen Eigenschaften werden nicht im Genotyp fixiert und beeinflussen diesen nicht. Stearns (1989) & de Jong (1988) schlugen vor, die plastischen Eigenschaften eines Merkmals als eigenständiges Merkmal zu

betrachten. Die neuronale Plastizität (also die Eigenschaft von Synapsen, Nervenzellen oder auch ganzen Gehirnregionen), in Abhängigkeit von der Verwendung in ihren Eigenschaften, spielt ebenfalls eine zentrale Rolle. Im Gegensatz zu Amnioten (vor allem Säugetiere) zeigen die Fische im Adult-Stadium eine beträchtliche Neurogenese, d. h. lebenslanges Wachstum des Gehirns (Zupanc, 2001; Charvet, et al., 2011). Darüber hinaus ist bekannt, dass das Gehirn ein hoch-plastisches Organ ist, welches sich rasch an seine Umgebung anpassen kann (Nottebohm, 1981; Hofmann, 2003; Gonda, et al., 2009b; Gonda, et al., 2011; Kotrschal, et al., 2012b). Die wenigen intraspezifischen Studien (Gonda, et al., 2009a; Crispo & Chapman, 2010; Gonda, et al., 2011), die sich auf diesen Bereich konzentrieren, zeigten die Notwendigkeit für solche Studienentwürfe, weil sie belegen, dass die Variation in der Hirngröße in freilebenden Populationen hoch phänotypisch plastisch ist. Daraus resultiert, dass ohne Plastizität keine Anpassung möglich ist. Im Allgemeinen zeigen mehrere Studien die plastischen Fähigkeiten des Gehirns während der Entwicklung im Laufe der Ontogenese und berichten über eine breite Palette von Unterschieden in der Gehirngröße und Gehirnproportionen zwischen den Teleostei-Arten. Gehirnplastizität bezieht sich dabei auf die Fähigkeit Struktur und Funktion – die durch Erfahrungen ausgelöst wurden – zu ändern, welche ein wichtiges Stimulans für die Gehirnplastizität ist. Zum Beispiel beeinflusst eine Veränderung der Habitat-Heterogenität die Gehirngröße von im Labor aufgezogenen Guppies und führt zu einer hohen plastischen Reaktion der verschiedenen Gehirnteile (Burns & Rodd, 2008; Burns, et al., 2009). Toli, et al. (2017) postulierten, dass Veränderungen der Habitat-Heterogenität die Hirngröße in Stichlingen (*Pungitius pungitius*) nicht beeinflussen. Andere Studien wiederum zeigten, dass ein Großteil der Gehirngrößenvarianz – in freilebenden Atlantik Mollies *Poecilia mexicana* (Eifert, et al., 2014), aber auch in Stichlingen und Guppies (Gonda, et al., 2011; Gonda, et al., 2012) – durch Umweltplastizität verursacht wird.

1.4 Hypothesen und Fragestellungen

Um die Entwicklung des Gehirns im *Poecilia*-Komplex besser zu verstehen, liegt im ersten Teil dieser Studie der Fokus auf dem Vergleich von freilebenden und Laborindividuen. Dazu wurden die Hirnvolumina zwischen reproduktiv isolierten Populationen des neotropischen Fisches *Poecilia mexicana* ($N_{\text{total}} = 95$), die sich lokal an Dunkelheit (Cueva Luna Azufre, im Folgenden LA), an toxischen Schwefelwasserstoff in einem Oberflächenhabitat (El Azufre, im Folgenden EA) und einer Kombination aus beiden Stressoren (Dunkelheit und H₂S)

(Cueva del Azufre, im Folgenden CA) angepasst haben, sowie den gleichen Laborpopulationen miteinander verglichen. Eine Reihe von Studien zur Divergenz der Hirngrößen in Fischen wurden nur auf freilebende Exemplare angewendet (Kotrschal, et al., 1998; Pollen, et al., 2007; Gonzalez-Voyer, et al., 2010) und scheinen gute Beweise für die Mosaik evolution zu geben. Studien an Stichlingen und Guppies zeigten einen hohen Grad an phänotypischer Plastizität in der Hirngröße (Gonda, et al., 2011; Gonda, et al., 2012; siehe auch Referenzen in Burns & Rodd, 2008; Burns, et al., 2009; Gonda, et al., 2013). Eine relativ neue Publikation zur Entwicklung des Gehirns (Gonda, et al., 2013) betont daher, dass vor dem Testen aller evolutionären Fragen bezüglich der Gehirngröße und Architektur mehr intraspezifische Studien erforderlich sind. Folglich stellten sich die Fragen,

- a) Wie beeinflussen H₂S und Dunkelheit die Hirnmorphologie von *P. mexicana*? Gibt es eindeutige Unterschiede zwischen den Hirnbereichen beim Vergleich von Oberflächen- und höhlenbewohnenden, nicht-sulfidischen und sulfidischen sowie freilebenden und im Labor gehälteren Populationen?

Hypothese: Unter dem Einfluss von H₂S und Dunkelheit kommt es zu morphologischen Verschiebungen in den Hirnbereichen und in der Gehirngröße.

- b) Wenn intraspezifische Unterschiede in der Gehirngröße zwischen Arten oder Populationen vorhanden sind, sind diese Variationen hauptsächlich phänotypisch plastisch oder lokal bedingte Anpassungen?

Hypothese: Die beobachteten Unterschiede in der Gehirngröße von Populationen sind hauptsächlich phänotypisch plastisch.

Diese Hypothesen wurden im Rahmen der Dissertation veröffentlicht und in einem Peer-Review-Prozess überprüft.

Im zweiten Teil dieser Dissertation wurden Fische aus sulfidischen und nicht-sulfidischen Habitaten der drei Flusssysteme (Rio Pichucalco, Rio Puyacatengo, Rio Tacotalpa) untersucht und getestet ob,

- a) es wiederholte Übergänge entlang eines replizierten, natürlichen Toxizitätsgradienten gibt und ob dies zu wiederholten ("konvergenten") anatomischen Veränderungen des Teleostier-Gehirns führt.

Hypothese: Es existieren wiederholte Übergänge entlang eines replizierten, natürlichen Toxizitätsgradienten, welcher zu wiederholten anatomischen Veränderungen des Gehirns führt.

Diese Hypothese wurde im Rahmen der Dissertation veröffentlicht und in einem Peer-Review-Prozess überprüft.

In der letzten Studie wurde die phänotypische Variation der Gehirnregionen und der Körpermorphologie von *Poecilia vivipara*-Populationen aus Standorten untersucht, die sich in abiotischen Umgebungsbedingungen – insbesondere in Salzgehalt, Wassertransparenz (Chlorophyll-a), Phosphat, Nitrat und biotischen Faktoren (Prädatorendichte) – unterschieden. Durch Einwirken verschiedener abiotischer und biotischer Bedingungen wurden Unterschiede in den Gehirnregionen erwartet, aus welchen sich folgende Fragen ergaben:

- a) Wie beeinflussen Salzgehalt, Wassertransparenz (Chlorophyll-a), Phosphor, Nitrat und Prädatorendichte die Gehirnmorphologie von *P. vivipara*? Gibt es eindeutige Unterschiede zwischen den Gehirnregionen beim Vergleich von Frisch- und Salzwasserp Populationen? Gibt es Ähnlichkeiten zu den Ergebnissen aus der ersten Studie?

Hypothese: Unterschiedliche abiotische und biotische Stressoren beeinflussen die Gehirnmorphologie von Frisch- und Salzwasserp Populationen unterschiedlich.

Aufgrund der energetischen Konsequenzen und im Gegensatz zu Veränderungen der äußeren Morphologie können Änderungen – in Gehirnregionen mit bekannter zerebraler Funktion – Hinweise auf eine differenzierte Auswahl von Merkmalen liefern. Das Analysieren von Mustern der phänotypischen Variation von Gehirn und Körper entlang von Umweltgradienten kann dabei helfen, die Evolution des Gehirns zu entwirren, und ist ein nützlicher Schritt zur Identifizierung von Kandidatenvariablen, die diese induzieren.

2. Untersuchungen im Rahmen der Arbeit

2.1 Erbllichkeit von Merkmalen vs. hohe Variationsbreite

2.1.1 Studiensystem Cueva del Azufre Flusssystem des Rio Tacotalpa / Mexiko

Populationen des Atlantik Molly (*Poecilia mexicana*) bewohnen Oberflächenhabitate und Höhlen in Süd-Ost Mexiko (Cueva del Azufre System, Tabasco; Abb. 2 A; B) und bieten ein ideales System, um die zugrundeliegenden Mechanismen zur Abweichung der Gehirngröße zu untersuchen (z. B. Heritabilität vs. phänotypische Plastizität). Das Vorkommen von sulfidischen Gewässern im Südosten Mexikos wird mit der Aktivität des Vulkans El Chichon in Verbindung gebracht (Rosales et al., 2006). In der ersten Studie wurden die Hirnvolumina zwischen reproduktiv isolierten Populationen von *Poecilia mexicana* untersucht, welche in Dunkelheit leben (LA), in einem Oberflächengewässer (EA), welches toxisches H₂S enthält oder in einer Höhle mit einer Kombination aus beiden Stressoren (CA). Mehrere Populationen in diesem System zeigen starke Muster der lokalen Anpassung (Plath, et al., 2007; Tobler, et al., 2008a; Riesch, et al., 2010) und die Entstehung reproduktiver Isolation (Tobler, et al., 2009b; Plath, et al., 2010; Plath, et al., 2013). Sie haben sich an zwei Selektionsquellen angepasst: Das Vorhandensein oder Fehlen von Licht zwischen Oberflächen- und Höhlenlebensräumen sowie das Vorhandensein oder Fehlen von toxischem Schwefelwasserstoff (H₂S) zwischen Lebensräumen mit verschiedenen Wasserquellen (Tobler, et al., 2008a; Tobler, et al., 2008b). Die beiden Faktoren treten in allen Kombinationen auf, sodass neben den regelmäßigen Oberflächenströmen, die von *P. mexicana* bewohnt werden, die gleiche Art ein sulfidisches Oberflächengewässer (EA) – eine nicht-schwefelhaltige Höhle (LA) – sowie verschiedene Kammern einer sulfidischen Höhle (CA; Abb. 2c) bewohnt. Die Cueva del Azufre wird in 13 Kammern unterteilt. Die vorderen Kammern sind durch circa 20 Oberlichter in der Decke in gedämpftes Licht getaucht, während die hinteren Kammern (ab Kammer VI) in völliger Dunkelheit liegen. So haben zum Beispiel die Kammern X und XIII eine Lichtintensität von gerade mal 0,0005 Lumen pro Quadratmeter. Die Kammer XIII ist durch einen kleinen Wasserfall (~ 1,6 m Höhe) komplett von den restlichen Kammern getrennt. Die Schwefelkonzentration ist in dieser Kammer aufgrund ihrer Lage sehr gering, während die Konzentration an Sauerstoff

dagegen relativ hoch ist. Die Konzentration an H₂S (kolloidale Schwefelpartikel) erreicht mehr als 300µM. Die Konzentrationen an H₂S und Dunkelheit nehmen zu, je weiter die Kammern vom Höhleneingang entfernt liegen und es ist zu erwarten, dass die phänotypischen Veränderungen graduell sind. In Kammer X ist die höchste Konzentration an H₂S und damit auch die geringste Menge an Sauerstoff. Obwohl Höhlen in der Regel als energiearme Habitate angesehen werden, ist die Cueva del Azufre energiereich, da chemoautotrophe Bakterien H₂S nutzen und somit chemoautotrophe Primärprodukte produzieren.

2.1.2 Präparationen

Fische ($N_{\text{Total}} = 95$) wurden mit einer Überdosis von Tricain Methansulfonat (MS-222, Sandoz, Rotkreuz, Schweiz) euthanasiert und in 5 % phosphatgepuffertem Glutaraldehyd fixiert. Aus logistischen Gründen wurden LA-Proben direkt nach dem Einfangen in 10 %-igem Formalin aufbewahrt, während alle anderen Proben anfänglich in 70 %-igem Ethanol zu anderen Zwecken aufbewahrt und danach in 10 %-ige Formalinlösung überführt wurden. Verschiedene Fixierungsmethoden könnten das Hirngewebe unterschiedlich beeinflusst und somit die Messungen von Hirnarealen gestört haben. Daher wurden die Fixierungsmethoden (Laborproben in 5 % Glutaraldehyd aus 2009; freilebende Proben aus 2013 in 10 % Formalin und 70 % Ethanol, $N = 5$ pro Fixierungsverfahren), in einem zusätzlichen Experiment mit männlichen schwarzen Mollies (ein inländischer Stamm von *Poecilia sphenops*) getestet. Die Fische wurden mit Nelkenöl (Bombastus-Werke AG, Freital) eingeschlüpfert. Der Ethanol-konservierungsbehandlung zugeteilten Fische wurden dann eine Woche lang in 70 %-iges Ethanol überführt, gefolgt von einer anschließenden Rehydratisierung (50 %-, 30 %-iges Ethanol, entionisiertes Wasser, je 1 Std.) und einer Nachfixierung für eine weitere Woche in 10 %-igem Formalin. Für die Formalinkonservierung vorgesehene Fische wurden direkt eine Woche in 10 % Formalin überführt. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fixierungsmitteln. Daher konnten diese Populationen (freilebend vs. Labor) zusammengefasst werden. Nach der Fixierung wurden die Proben in 70 % Ethanol überführt. Vor den Präparationen wurden die alkoholgelagerten Proben rehydriert, indem sie jeweils eine Stunde lang in 50 %-igem und 30 %-igem Ethanol sowie anschließend in entionisiertem Wasser lagen. Danach wurden die Proben auf einem Papiertuch getrocknet und mit einer tragbaren Mikrowaage Sartorius PT 600 (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) auf 0,1 g gewogen. Im Anschluss daran wurde die Standardlänge (SL; gerade Linie von der vorderen

Spitze des Oberkiefers bis zum hinteren Ende des Schwanzstiels folgend, d. h. den dorsalen Einführungspunkt der Schwanzflosse), die Kopfgröße (von der vorderen Spitze des Oberkiefers bis zum Rand des Kiemendeckels) und der Augendurchmesser (maximaler horizontaler Durchmesser der Limbus corneae, rostrales bis kaudales Ende) mit einer Schieblehre INOX-0-190 mm (Paulmot, Neu-Ulm, Deutschland) auf 0,05 mm genau gemessen. Die Köpfe wurden durch den Querschnitt hinter dem Kiemendeckel getrennt und mit Nadeln durch die Schnauze und den Kiemendeckel in einer Schüssel mit Wachsboden sowie etwas Wasser fixiert. Der Schädel wurde unter einem Bionokular (Nikon SMZ1500; Nikon GmbH, Düsseldorf, Deutschland) geöffnet, der Schädelknochen dorsomedial geschnitten und vorsichtig entfernt. Im nächsten Schritt wurde der Riechnerv durchtrennt (rostrales Ende) und das Rückenmark durch Entfernen von Wirbeln freigelegt. Sehnerven und andere Hirnnerven wurden an den ventralen Seiten durchtrennt und das Gehirn aus dem Schädel herausgehoben, indem es am vorderen Ende der Medulla oblongata vom Rückenmark getrennt wurde. Jedes Gehirn wurde auf einem dünnen 0,1 %-igen Agarosegel in einer Petrischale platziert und bei 40-facher Vergrößerung mit einer Nikon DS-Fil-Kamera (Nikon GmbH, Düsseldorf, Deutschland), die auf einem binokularen Nikon AZ100 (Nikon GmbH, Düsseldorf, Deutschland) montiert war, fotografiert. Für jedes Gehirn wurden mit der Software NIS-Elements BR 3.2 (Nikon GmbH, Düsseldorf, Deutschland) Bilder in dorsaler, lateraler (linke Hemisphäre) und ventraler Projektion (Abb.1) aufgenommen. Die Länge (L), Breite (W) und Höhe (H) der verschiedenen Hirnareale (Telenzephalen Lappen, Riechkolben, optisches Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus und die Gesamthirnlänge) wurden nach Pollen, et al. (2007) vermessen (70), unter der einzigen Ausnahme, dass die Medulla oblongata für die Beurteilung der Gesamthirnlänge ausgeschlossen wurde (Eifert, et al., 2014; Schulz-Mirbach, et al., 2016). Für weitere statistische Zwecke wurden jeweils die Breite beider Hemisphären der Riechkolben, telenzephalen Lappen, optischen Tekta und Hypothalamus gemessen und die berechneten Mittelwerte verwendet.

2.1.3 Statistik

Um Schätzungen der Größe des gesamten Gehirns und jeder Hirnregion (Riechkolben, telenzephalen Lappen, optisches Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus) zu erhalten, wurden die Volumina gemäß der Ellipsoidvolumenformel: $\text{Volumen} = (\text{Länge} \times \text{Breite} \times \text{Höhe}) \times \pi / 6$

nach Pollen, et al. (2007) berechnet. In den Analysen wurden nachfolgende Modelle angewendet (70).

- a) Das Volumen der Hirnareale wurde für allometrische Effekte mit linearen Regressionsmodellen gegen eine Körpermaße bezogene Kovariate zu (größenfreien) Residuen korrigiert. Diese Kovariate wurden berechnet, indem "SL" und "Gehirnmasse" einem Faktorreduktionsverfahren unterzogen wurden (Schulz-Mirbach, et al., 2016). Die Volumina der verschiedenen Hirnregionen wurden dann durch eine multivariate Kovarianzanalyse (MANCOVA) unter Verwendung der Größe/Masse-Kovariate (Kovariate 1) größenkorrigiert. Ebenso wurde durch ANCOVAs das Gesamtgehirnvolumen und Riechkolbenvolumen größenkorrigiert. Aus der MANCOVA oder den ANCOVAs wurden nicht-standardisierte größenkorrigierte Residuen extrahiert, die als Eingangsvariablen für weitere Analysen verwendet wurden. Die Gesamtgröße des Gehirns und der Riechkolben wurde in den weiteren multivariaten Analysen ausgeschlossen, da das Gesamtgehirnvolumen mit den Volumina der Hirnregionen interkorrelierte und die Daten für die Riechkolben präparationsbedingt nicht für alle Individuen erhältlich waren. Zusätzlich wurde die Größe zweier sensorischer Strukturen (d. h. Durchmesser des Riechnervs (Kovariate 1) und der Augen (Kovariate 2 / Standardlänge) analysiert, von denen angenommen wurde, dass sie mit dem Leben in der Höhle korrelieren. Jede der beiden Variablen wurde mittels ANCOVA größenkorrigiert (Riechnerv / Kovariate 1; Augen / Kovariate 2). Die erhaltenen nicht-standardisierten Residuen aus diesen ANCOVAs wurden dann als Eingangsvariablen für weitere Analysen verwendet. Für jeden Standort und jedes Geschlecht wurden Unterschiede festgestellt. Als feste Faktoren wurden "Standort" und "Geschlecht" einschließlich des jeweiligen Interaktionsterms verwendet. Als abhängige Variablen dienten dabei größenkorrigierte Volumen des gesamten Gehirns oder der Gehirnregionen, des Riechnervs oder Augendurchmesser. Das "Geschlecht" war wegen des bekannten sexuellen Dimorphismus des Teleostier-Gehirns enthalten (Bass & Grober, 2001; Kotrschal, et al., 2012a; Kotrschal, et al., 2012b). Zur Veranschaulichung von Merkmalunterschieden zwischen Standorten und zwischen den Geschlechtern wurden geschätzte marginale Mittelwerte (EMM) aus den jeweiligen analytischen Modellen (ANOVAs) berechnet.

- b) Zum Vergleich der sechs Standorte (AB, EA, CA-II, CA-V, CA-X, LA) – hinsichtlich möglicher Auswirkungen von „Licht“ oder „Dunkelheit“ sowie Vorhandensein oder Fehlen von „H₂S“ auf die Größe der jeweiligen Gehirnregionen – wurden die größenkorrigierten Volumina der telencephalen Lappen, des optischen Tektums, Corpus cerebelli sowie des Hypothalamus in einer analytischen multivariaten Varianzanalyse (MANOVA) verwendet. Dieses Modell umfasste die Faktoren „Licht“ (vorhanden / nicht vorhanden), „Toxizität“ (anwesend / abwesend), "Geschlecht" und alle Interaktionsterme.
- c) Beim Vergleich von freilebenden und im Labor aufgezogenen weiblichen Fischen wurde auf vererbare und plastische Unterschiede in der gesamten Gehirngröße und der Größe der Hirnregionen aus allen Populationen getestet. Dies erfolgte durch eine analytische MANOVA (größenkorrigierte Hirnregionen: telencephale Lappen, optisches Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus) oder durch analytische ANOVAs (Riechnerven, Augen). Als feste Faktoren wurden „Standort“ (OX (= AB), EA, CA-II, CA-V, CA-X und LA) und „Aufzuchtbedingung“ (Freilebend vs. Laboraufzucht), einschließlich der Interaktion „Standort × Aufzuchtbedingung“, verwendet. Um ein direkteres Maß für die Wiederholbarkeit bzw. die Erbllichkeit zu erhalten, wurde eine Interkorrelationsanalyse (Korrelation zwischen Klassen durch Koeffizienten/ICC-Analyse) für jede abhängige größenkorrigierte Volumenvariable, sowie für den Riechnerven- und Augendurchmesser unter Verwendung der ($N = 26$) freilebenden und ($N = 26$) im Labor aufgezogenen Weibchen durchgeführt (Bartko, 1966; Riesch, et al., 2013).
- d) Zusätzlich wurde die Vererbbarkeit im weiteren Sinne für jeden Standort und jede Aufzuchtbedingung mit Hilfe einer Diskriminanzfunktionsanalyse (DFA) getestet. Das DFA-Modell beruht auf der Basis von Daten (größenkorrigierte Volumina von Hirnregionen) aus Freilebenden-Fischen (Trainingsdatensatz; $N = 9$ bis 13 Weibchen pro Standort, außer LA mit $N = 4$). Die Diskriminanzfunktionen wurden zu den Daten der im Labor gezüchteten Fische (Test Datensatz; $N = 3$ bis 5 Weibchen pro Standort) angewendet und auf korrekte Klassifizierung getestet (Hair Jr., et al., 1995; Riesch, et al., 2011).
- e) Die den verschiedenen Fixierungsverfahren zugeordneten Fische (70 % Ethanol vs.

10 % Formalin) wurden größenkorrigiert, um körpermaßebedingte Auswirkungen auf die Gehirnmorphologie zu vermeiden ($SL_{\text{Ethanol}} = 33,6 \pm 1,5$ mm; $SL_{\text{Formalin}} = 36,3 \pm 1,6$ mm; t-Test: $t_8 = 1,19$, $P = 0,27$). Es erfolgte die Berechnung einer MANOVA mit größen- / massenkorrigierten nicht-standardisierten Residuen für die zwölf relevanten Gehirnmessungen. Alle statistischen Analysen wurden mit SPSS 12.0 durchgeführt (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

2.1.4 Ergebnisse

2.1.4.1 Erbllichkeit von Eigenschaften vs. hohe Variationsbreite

Die Hirnvolumina – zwischen reproduktiv isolierten Populationen des neotropischen Fisches *Poecilia mexicana* ($N = 95$), die in Dunkelheit (LA), in einem Oberflächenhabitat, welcher toxischen Schwefelwasserstoff enthält (EA) und einer Kombination aus beiden Stressoren (Dunkelheit und H_2S) (CA) angepasst haben sowie den gleichen Laborpopulationen – wurden miteinander verglichen (Tabelle 1). Untersucht wurde, ob die beobachteten Unterschiede in der Gehirngröße zwischen Arten oder Populationen hauptsächlich phänotypisch plastisch oder genetisch fixiert sind.

2.1.4.2 Freilebende Populationen

Die Volumina der Riechkolben, telenzephalen Lappen, des optischen Tektums, Corpus cerebelli sowie des gesamten Gehirns unterschieden sich signifikant zwischen den Standorten (Tabellen 2). Lediglich das Vorhandensein von Licht hatte einen signifikanten Einfluss auf die Größe der Gehirnregionen der verschiedenen Populationen (Tabelle 3 A). Die Größe des optischen Tektums (Abb. 4 B) und des gesamten Gehirns (Abb. 4 F) verringerte sich von Oberflächenbewohnenden Populationen (AB, EA) auf diejenigen, die eine der beiden Höhlen bewohnen (außer CA-V, CA-X). Eine Zunahme des Volumens der Hirnregionen von Oberflächenfischen zu Höhlenfischen wurde für die Riechkolben (Abb. 4 E), die telenzephalen Lappen (Abb. 4 A) und Corpus cerebelli (Abb. 4 C; außer bei Fischen aus LA) beobachtet. Signifikanter sexueller Dimorphismus wurde für zwei Gehirnregionen und die gesamte Gehirngröße (Tabelle 2, Abb. 4 B, C, F) festgestellt. Männchen hatten einen vergrößerten Sehnerv (insbesondere in CA-V und CA-X; Abb. 4 B), kleinere Corpus cerebelli

(Abb. 4 C) und größere Gesamthirnvolumina (Abb. 4 F). Der Durchmesser des Riechnervs war in allen Populationen ähnlich ($F_{5,84} = 0,64$, $P = 0,67$; Abb. 5 A). Im Gegensatz dazu unterschied sich die Augengröße zwischen den Standorten signifikant ($F_{5,97} = 3,03$, $P = 0,014$) und zeigte eine allmähliche Größenverringernung von Fischen aus Oberflächenhabitaten zu den Höhlenfischen. Insbesondere die Augengröße in CA-II war im Vergleich zu Oberflächenfischen von EA praktisch unverändert und wurde dann von CA-II in Richtung CA-X allmählich verringert (Abb. 5 B).

2.1.4.3 Vergleich freilebende- und Laborpopulationen

Das Volumen der Hirnregionen von freilebenden Weibchen und Weibchen, die im Labor gehalten wurden zeigte signifikante Unterschiede in Abhängigkeit von „Standort“ und „Aufzuchtbedingung“ (Tabelle 3 B). Im Gegensatz zu Fischen aus natürlichen Populationen wiesen im Labor aufgezogene weibliche Tiere unabhängig von ihrer Herkunft eine ähnliche Größe, sowohl der einzelnen Gehirnregionen als auch des gesamten Gehirns auf. Die Größen waren im Allgemeinen kleiner als die, die bei freilebenden Exemplaren beobachtet wurden (siehe Wechselwirkungseffekt von Standort \times Aufzuchtbedingung; in Tabelle 3 B; Abb. 4). Dementsprechend ergaben Intraclass-Korrelationskoeffizientenanalysen (IKK), dass der größte Teil der Varianz eine plastische Reaktion auf die Aufzuchtumgebung mit allen IKK-Werten $\leq 0,042$ ($P \geq 0,38$ in allen Fällen) war. Die DFA (Kapitel 2.3 d) unterstützte diese Ergebnisse, da nur 19,2 % der im Labor aufgezogenen Tiere (Testdatensatz) der jeweiligen Herkunftspopulation korrekt zugeordnet wurden, wie durch die freilebenden Exemplare (Trainingsdatensatz) quantifiziert.

Die Augengröße unterschied sich signifikant zwischen den Standorten ($F_{5,81} = 2,40$, $P = 0,044$), unabhängig von den Aufzuchtbedingungen ($F_{1,81} = 2,27$, $P = 0,14$). Im Gegensatz zur phänotypischen Plastizität der Hirnregionen lässt der hohe Intra-class-Korrelationskoeffizient (IKK = 0,83, $P = 0,017$) auf eine Erblichkeit der Merkmale schließen (Abb. 5 B). Wie in Abschnitt 2.1 beschrieben, wurden aus logistischen Gründen LA-Proben direkt nach dem Einfangen in 10 %-igem Formalin aufbewahrt, während alle anderen Proben anfänglich in 70 %-igem Ethanol gelagert und erst danach in 10 %-ige Formalinlösung überführt wurden. Die durchgeführte MANOVA mit größen-/massenkorrigierten nicht standardisierten Residuen für die zwölf relevanten Gehirnmessungen ergab keinen signifikanten Effekt der

Fixierungsmethode mit festem Faktor "Lösungsmittel" (Ethanol vs. Formalin; $F_{(1,8)} = 0,47$, $P = 0,82$).

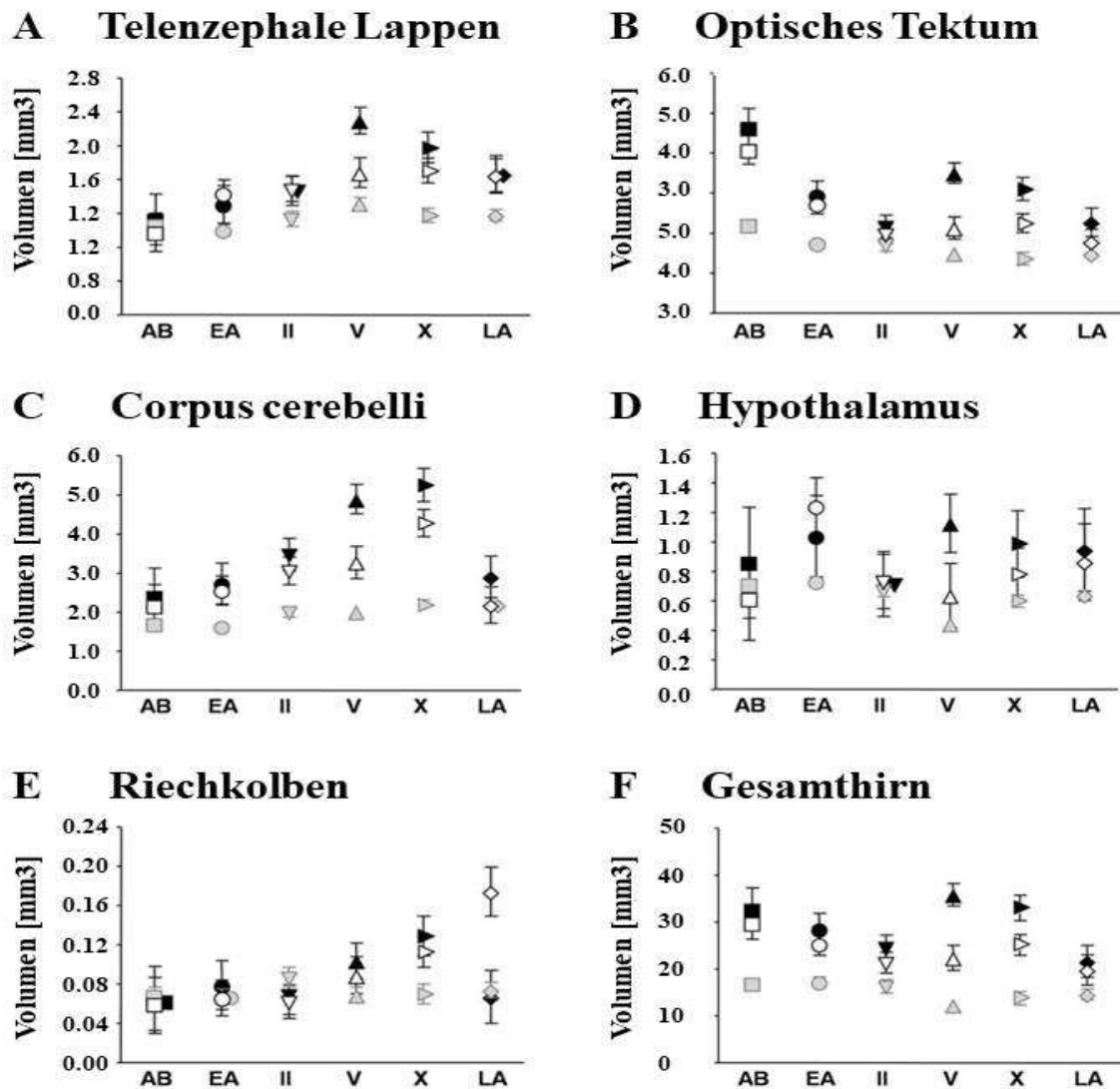


Abbildung 1: Hirnareal-Volumen (EMM \pm SEM, größenkorrigiert) von **A.** telenzephalic Lappen (ICC = 0,042), **B.** optisches Tektum, **C.** Corpus cerebelli, **D.** Hypothalamus; **E.** Riechkolben und **F.** Gesamthirnvolumen von männlichen und weiblichen *Poecilia mexicana* aus den sechs Sammelstellen Arroyo Bonita (AB), El Azufre (EA), Höhlenkammer II (II), Kammer V (V), Kammer X (X) der Cueva del Azufre und Cueva Luna Azufre (LA). Schwarze Symbole stehen für Männchen, offene Symbole für Weibchen und geschlossene graue Symbole beziehen sich auf im Labor aufgezogene weibliche Tiere. (Eigene Darstellung)

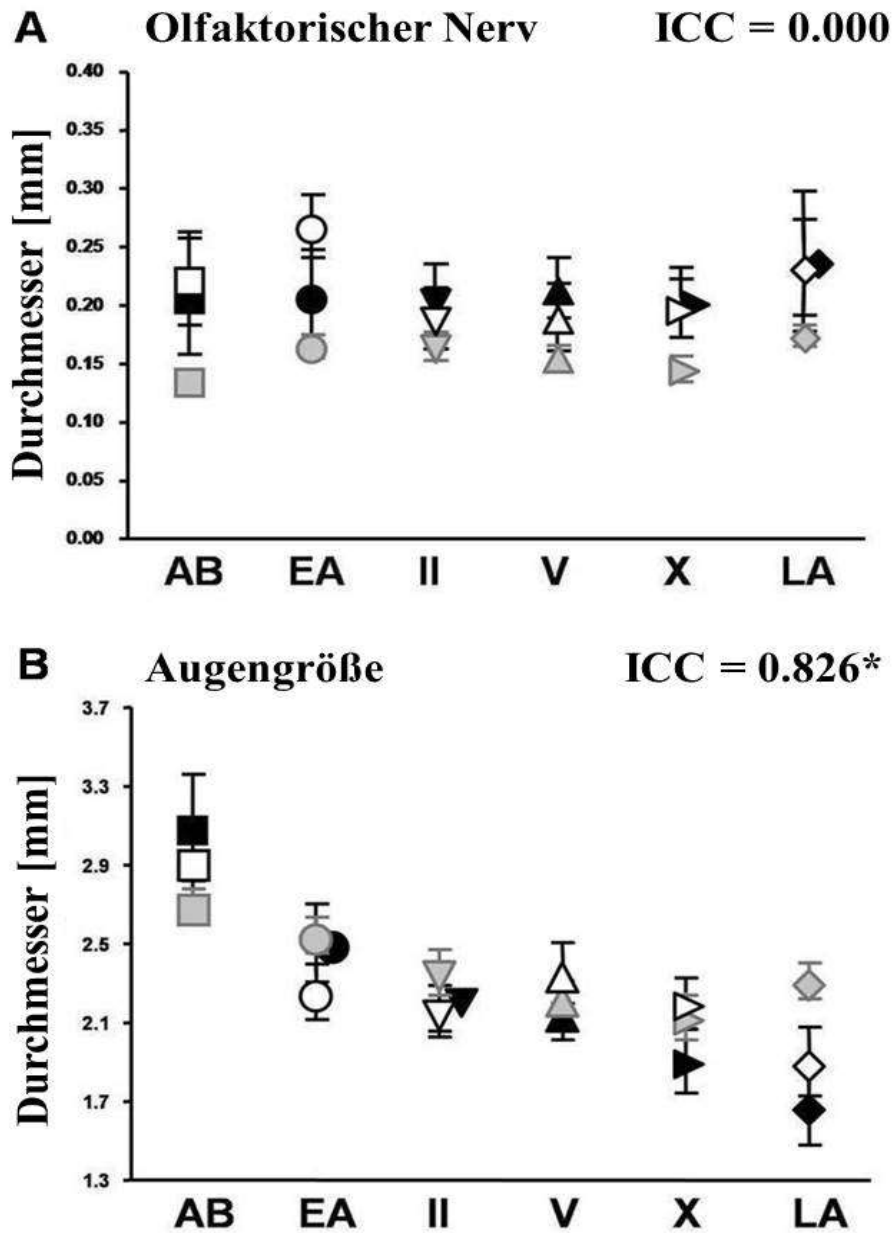


Abbildung 2: Durchmesser (EMM \pm SEM, größenkorrigiert) von **A.** dem olfaktorischen Nerv und **B.** der Augengröße von *Poecilia mexicana* aus den sechs Fundorten Arroyo Bonita (AB), El Azufre (EA), Höhlenkammer II (II), Kammer V (V), Kammer X (X) der Cueva del Azufre und Cueva Luna Azufre (LA). Geschlossene schwarze Symbole stehen für männliche, offene Symbole für weibliche Tiere. Graue Symbole beziehen sich auf im Labor aufgezogene weibliche Tiere. In der oberen rechten Ecke jedes Diagramms werden die Intraclass-Korrelationskoeffizienten (ICC) angezeigt * $P = 0,017$. (Eigene Darstellung)

Tabelle 1: Übersicht über die untersuchten Standorte, Abkürzungen, Stichprobengrößen (*N*), Lebensraumtypen und das Vorhandensein oder Fehlen von Schwefelwasserstoff (H₂S). Beachten Sie, dass sich die Stichprobengrößen von im Labor gezüchteten Fischen nur auf Weibchen beziehen, wohingegen die Stichprobengrößen von freilebenden Tieren beide Geschlechter (Weibchen / Männchen) umfassen. (Eigene Tabelle)

Standort	Abkürzungen	<i>N</i> (lab)	<i>N</i> (frei)	Habitat	H ₂ S
Arroyo Bonita	AB		11/4	Oberfläche	Nein
Río Oxolotán	OX	5		Oberfläche	Nein
El Azufre	EA	4	13/4	Oberfläche	Ja
Cueva del Azufre	CA, Kammer II	3	11/7	Höhle	Ja
	CA, Kammer V	5	9/11	Höhle	Ja
	CA, Kammer X	3	11/8	Höhle	Ja
Cueva Luna Azufre	LA	5	4/2	Höhle	Nein

Tabelle 2: ANOVA-Ergebnisse zeigen Unterschiede zwischen den Standorten (AB, EA, CA-II, CA-V, CA-X und LA) und / oder Geschlechtsdimorphismus von freilebenden Fischen. Abhängige Variablen waren größenkorrigierte Volumina von Riechkolben, telenzephalen Lappen, optischem Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus und Gesamthirn. Feste Faktoren waren „Standort“ und „Geschlecht“. Die *F*-Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda-Werte von Wilks angenähert. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. (Eigene Tabelle)

		Quadratischer				
Hirnregion	Faktor	<i>df</i>	Mittelwert	<i>F</i>	<i>P</i>	Partiell η^2
Riechnerv	Standort	5	0.009	2.77	0.023	0.13
	Geschlecht	1	0.003	0.91	0.34	0.01
	Standort × Geschlecht	5	0.003	0.85	0.52	0.04
	Error	89	0.003			
	Standort	5	1.351	5.42	< 0.001	0.21
Telenzephale Lappen	Geschlecht	1	0.326	1.31	0.25	0.01
	Standort × Geschlecht	5	0.114	0.46	0.80	0.02
	Error	98	0.249			

Hirnregion	Faktor	Quadratischer				
		<i>df</i>	Mittelwert	<i>F</i>	<i>P</i>	Partiell η^2
Optisches Tectum	Standort	5	3.667	5.64	< 0.001	0.22
	Geschlecht	1	11.174	17.19	< 0.001	0.14
	Standort × Geschlecht	5	2.403	3.70	0.004	0.15
	Error	98	0.650			
Hypothalamus	Standort	5	0.304	0.80	0.55	0.04
	Geschlecht	1	0.280	0.74	0.39	0.00
	Standort × Geschlecht	5	0.105	0.28	0.92	0.01
	Error	97	0.380			
Corpus cerebelli	Standort	5	15.189	10.97	< 0.001	0.35
	Geschlecht	1	9.772	7.06	0.009	0.06
	Standort × Geschlecht	5	0.637	0.46	0.80	0.02
	Error	98	1.384			
Gesamthirn	Standort	5	177.141	3.14	0.011	0.13
	Geschlecht	1	725.767	12.87	0.001	0.11
	Standort × Geschlecht	5	112.958	2.00	0.08	0.09
	Error	97	56.395			

Tabelle 3: MANOVA-Ergebnisse der als abhängige Variablen verwendeten größenkorrigierten (Residuen) Hirnregionvolumina (Telenzepale Lappen, Optisches Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus). **A.** getestete Volumina von freilebenden Tieren (AB, EA, CA-II, CA-V, CA-X und LA) mit „Licht“, „Toxizität“ und „Geschlecht“ als feste Faktoren. **B.** getestete im Labor aufgezogene und freilebenden Weibchen mit „Standort“ und „Aufzuchtbedingung“ als feste Faktoren. Die *F*-Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda-Werte von Wilks angenähert. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. (Eigene Tabelle)

	Faktor	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>Partiell</i> η^2
A	Licht	4	18.81	< 0.001	0.44
	Toxizität	4	1.95	0.10	0.07
	Geschlecht	4	0.95	0.43	0.03
	Licht × Toxizität	4	2.19	0.07	0.08
	Licht × Geschlecht	4	1.33	0.26	0.05
	Toxizität × Geschlecht	4	2.28	0.06	0.08
	Licht × Toxizität × Geschlecht	4	1.07	0.37	0.04
	B	Standort	20	5.59	< 0.001
Aufzuchtbedingung		4	25.37	< 0.001	0.56
Standort × Aufzuchtbedingung		20	1.89	0.013	0.10

2.2 Konvergente anatomische Veränderungen des Gehirns bei *Poecilia* durch den Selektionsfaktor H₂S

2.2.1 Flusssysteme Rio Pichucalco, Rio Puyacatengo und Rio Tacotalpa / Mexiko

Die beprobten schwefelhaltigen Flüsse befinden sich in den Ausläufern der Sierra Madre de Chiapas und verteilen sich auf die drei Flusssysteme Rio Tacotalpa (im Folgenden Tac), Rio Puyacatengo (im Folgenden Puy) und Rio Pichucalco (im Folgenden Pich; Abb. 2a). Alle drei Flusssysteme schließen sich dem Rio Grijalva an und sind während der Regenzeit im Flachland weit miteinander verbunden und permanent durch Berge voneinander getrennt (Miller, 1983). Innerhalb jedes Flusssystems sind nicht-H₂S-haltige und H₂S-haltige Standorte miteinander verbunden und nicht durch physische Barrieren getrennt, welche die Migration von Fischen verhindern würden. Tobler, et al. (2006) und (2011) zeigte, dass die

durchschnittlichen H₂S-Konzentrationen in den Systemen zwischen 23 und 190 mmol/l liegen. Darüber hinaus weisen H₂S-Gewässer höhere Temperaturen, höhere spezifische Leitfähigkeiten, niedrigere pH-Konzentrationen sowie niedrigere gelöste Sauerstoffkonzentrationen auf als nicht-H₂S-haltige Gewässer (Tobler, et al., 2011). Fische des *P. mexicana* Spezies Komplex aus den drei Flusssystemen entwickelten unabhängig voneinander eine Resistenz zum natürlich vorkommenden H₂S, einschließlich einer phylogenetisch alten H₂S-angepassten endemischen Art (beschrieben als *P. sulphuraria* Alvarez, 1948) und zwei Formen von *P. mexicana* (Steindachner, 1863), welche frühere Phasen der Anpassung an H₂S darstellen (Pfenninger, et al., 2013). *Poecilia sulphuraria* ist endemisch in den Banos del Azufre und anderen H₂S-Fluss-Komplexen im Rio Pichucalco System (Tobler & Plath, 2009). Der nächstgelegene Verwandte von *P. sulphuraria* ist in diesem Gebiet vermutlich ausgestorben, sodass *P. sulphuraria* enger mit (nordöstlichen mexikanischen) *P. mexicana limantouri* verwandt ist (Palacios, et al., 2013). Aus diesem Grund wurde bei dem Vergleich eine Population von *P. mexicana* aus einem nahegelegenen nicht-H₂S-Standort verwendet, da kein Zugang zu freilebenden *P. mexicana limantouri*-Exemplaren bestand (Pich-1, Tabelle 6). Um zu zeigen, dass dieser Vergleich biologisch sinnvoll und durch phylogenetische Distanz nicht fehlerhaft war, wurde eine weitere noch weniger stark verwandte Art (Peten molly, *P. Petenensis*: Gunther, 1866) aus einem nicht-H₂S-haltigen Lebensraum des gleichen Flusssystems aufgenommen (Pich-2, Tabelle 6). Darüber hinaus wurde jeweils eine *P. mexicana*-Population aus sulfidischen und angrenzenden nicht-schwefelhaltigen Standorten des Rio Tacotalpa und Rio Puyacatengo analysiert. Hierfür wurde Standardlänge und die Augengröße (maximaler Durchmesser; 10 % Formalin fixiert ($N_{\text{Total}} = 100$) mit einer Schieblehre bis auf 0,05 mm genau gemessen. Alle Proben wurden – wie in Studie 1 – verarbeitet und die Messungen folgten dem Protokoll von Pollen, et al. (2007). Da die Exposition mit H₂S zu Hypoxie führt und die Energie in extremen Habitaten limitiert ist, ist eine Reduktion der Hirngrößen zu erwarten. Zudem wurde – aufgrund der erhöhten Wichtigkeit nicht-visueller Sinne – eine Vergrößerung der telencephalen Lappen und Corpus cerebelli sowie kleiner Augen als konvergentes Merkmal erwartet.

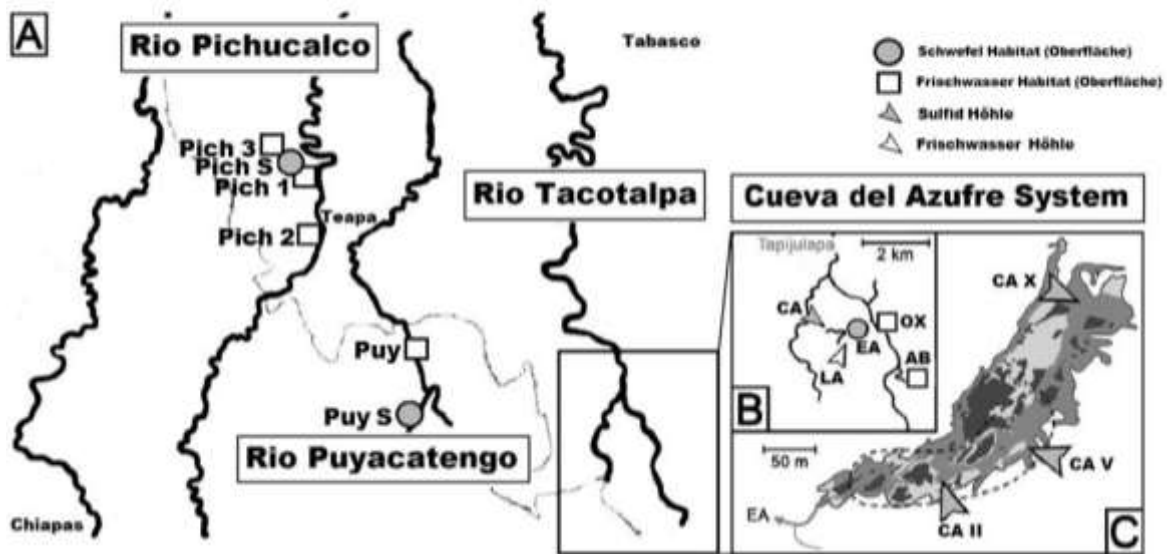


Abbildung 3: A. Dargestellt ist eine Übersicht über die beprobten Flusssysteme Rio Pichucalco, Rio Puyacatengo und Rio Tacotalpa im Bundesstaat Mexico; B. Übersicht über das Cueva del Azufre Systems im Rio Tacotalpa mit Darstellung der Höhlenkammern (Eifert, et al., 2014)

2.2.2 Statistik

Für die erste Analyse a) wurden die größen- / massenkorrigenen Hirnresiduen (Vorgehensweise identisch wie in Studie eins) für eine multivariate Varianzanalyse (MANOVA) und als Eingabevariable für eine weitere Hauptkomponentenanalyse verwendet. In dieser wurden die Achslasten unter Verwendung einer Varimax-Rotationsoption, bei der es sich um eine orthogonale Rotationsinterpretationsmethode handelt, gedreht. Die resultierenden Hauptkomponenten (HK) mit einem Eigenwert > 1 (5 HK-Achsen für den Habitatvergleich) wurden als Eingangsvariablen für analytische multivariate Varianzanalysen verwendet (MANOVAs).

- a) Das erste Modell enthielt den Faktor „ H_2S “ (vorhanden / nicht vorhanden), „Geschlecht“ und alle Interaktionsterme. Die beiden Hauptlebensraumtypen des Rio Tacotalpa (Tac und Tac-S) wurden verglichen und auf die Auswirkungen des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins von toxischem H_2S auf die Hirnmorphologie getestet.

- b) Im zweiten Model wurden „Standort“, „Geschlecht“ sowie der Interaktionseffekt erfasst. „Geschlecht“ wurde aufgrund des bekannten sexuellen Dimorphismus des Teleostier-Gehirns aufgenommen (Bass & Grober, 2001; Kotrschal, et al., 2012a; Kotrschal, et al., 2012b). Die Gehirnvolumina von sulfid-adaptierten und nicht-adaptierten Oberflächenfischen (Rio Tacotalpa: Tac, Tac-S, Puy, Rio Puyacatengo: Puy-S (*P. sulphuraria*) und Rio Pichucalco (Pich-1, Pich-2, Pich-S, Pich-3) wurden getrennt auf die Auswirkungen und das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von toxischem H₂S auf die Hirnmorphologie analysiert.
- c) Zusätzlich wurden lineare Mischmodelle (ANCOVAs) zur Identifizierung von Unterschieden im Gehirnvolumen zwischen sulfidischen und nicht-sulfidischen Populationen (Rio Tacotalpa: Tac, Tac-S; Rio Puyacatengo: Puy, Puy-S; Rio Pichucalco: Pich-1, Pich-S (*P. sulphuraria*); siehe Tabelle 4) berechnet. Als abhängige Variable wurden die Volumina der telenzephalen Lappen, des optischen Tektums, des Corpus cerebelli, des Hypothalamus und des Gesamthirns sowie der Durchmesser der Augen verwendet. Als feste Faktoren wurden „Flusssystem“, „Geschlecht“ sowie „Toxizität“ verwendet. „Standort“ wurde als Zufallsfaktor und „Standort (Flusssystem * Toxizität)“ als verschachtelter Term im Modell verwendet.

2.2.3 Ergebnisse

2.2.3.1 Konvergente anatomische Veränderungen des Gehirns

In diesem Teil dieser Dissertation wurde untersucht, ob wiederholte Übergänge entlang eines replizierten, natürlichen Toxizitätsgradienten zu wiederholten ("konvergenten") anatomischen Veränderungen des Gehirns bei *Poecilia mexicana* ($N = 100$) führen. Die beprobten schwefelhaltigen Flüsse befinden sich in den Ausläufern der Sierra Madre de Chiapas und verteilen sich auf die drei Flusssysteme Rio Tacotalpa (Tac), Rio Puyacatengo (Puy) und Rio Pichucalco (Pich; Abb. 2 A). Als konvergente Eigenschaft wurde eine verringerte Augengröße erwartet, die von H₂S bei allen sulfidischen Fischen ausgelöst wird (vgl. Abschnitt 2.1). Die Augengröße unterschied sich signifikant in einer univariaten ANOVA zwischen den Standorten (von acht Populationen; Abb. 6A). Es wurden keine Hinweise für sexuellen Dimorphismus gefunden. Alle Sulfidpopulationen haben kleinere Augen als die

Süßwasserpopulationen. Das gesamte Hirnvolumen unterscheidet sich nicht signifikant zwischen den Standorten, aber es gab Unterschiede im „Geschlecht“ (Tabelle 5) und in der Interaktion zwischen „Standort^x Geschlecht“ (Abb. 6 F, Tabelle 6).

2.2.3.2 Habitatspezifische Unterschiede im Gehirnvolumen von Fischen aus schwefelhaltigen und nicht-schwefelhaltigen Standorten

Ich prognostizierte plastische Reaktionen (reduzierte optische Tekta, vergrößerte telenzepale Lappen und Corpus cerebelli) in allen Hirnarealen von Fischen des *Poecilia*-Komplexes unter dem Einfluss des Selektionsdrucks H₂S. Daher wurde das Gehirnvolumen sulfid-angepasster und nicht-angepasster Fische verglichen und in einer MANOVA (Tabelle 6) auf die Auswirkungen und das Vorhandensein von toxischem H₂S auf die Gehirnmorphologie getestet. Das Gehirnvolumen von Fischen aus allen Nebenflüssen zeigte signifikante Unterschiede in Bezug auf den Standort (von acht Populationen; und Geschlecht. Der Interaktionsterm nach Geschlecht zeigte keine Unterschiede (Abb. 6 C - F, Tabelle 6). Die folgenden ANCOVAs (Tabelle 5) zeigen signifikant vergrößerte telenzepale Lappen für „Standort“, „Geschlecht“ (Abb. 6 C) und signifikant reduzierten optischen Tekta-Volumen für „Standort“ und „Geschlecht“ (Abb. 6 D). Verifiziert wurden signifikant vergrößerte Corpus cerebelli Volumina für „Standort“ (Abb. 6 E) und Unterschiede im Hypothalamusvolumen für den „Standort“ (Abb. 6 F). Zusammengefasst zeigten Fische aus sulfidischen Lebensräumen (Tac-S, Puy-S, Pich-S) kleinere optische Tekta und Augen, eine Vergrößerung der telenzepalen Lappen und der Corpus cerebelli Volumina (Tabelle 6). Die nachfolgende Hauptkomponentenanalyse (Tabelle 7) für die beiden Hauptlebensraumtypen testete die Auswirkungen des Vorhandenseins von giftigem H₂S auf die Hirnmorphologie. In der ersten Hauptkomponentenanalyse, die die beiden Hauptlebensraumtypen umfasste, erklärten 5 Hauptkomponenten-Achsen 90,134 % der Gesamtvarianz. Die MANOVA mit diesen 5 Hauptkomponenten ergab signifikante Unterschiede in Bezug auf den „Standort“ ($F = 9,738$; $P < 0,001$). „Geschlecht“ ($F = 12,533$; $P < 0,001$) und im Interaktions-term „Standort^x Geschlecht“ ($F = 1,749$; $P = 0,007$). Alle drei Sulfidpopulationen unterschieden sich von den fünf nicht-Sulfidpopulationen und zeigten reduzierte optische Tekta (Länge und Breite) und vergrößerte telenzepale Lappen (Breite und Höhe) und Corpus cerebelli (Höhe). Geschlechtsunterschiede wurden für die telenzepalen Lappen, optische Tekta und das

Gesamthirnvolumen, jedoch nicht für Hypothalamus und Corpus cerebelli Volumen, verifiziert (Abb. 7).

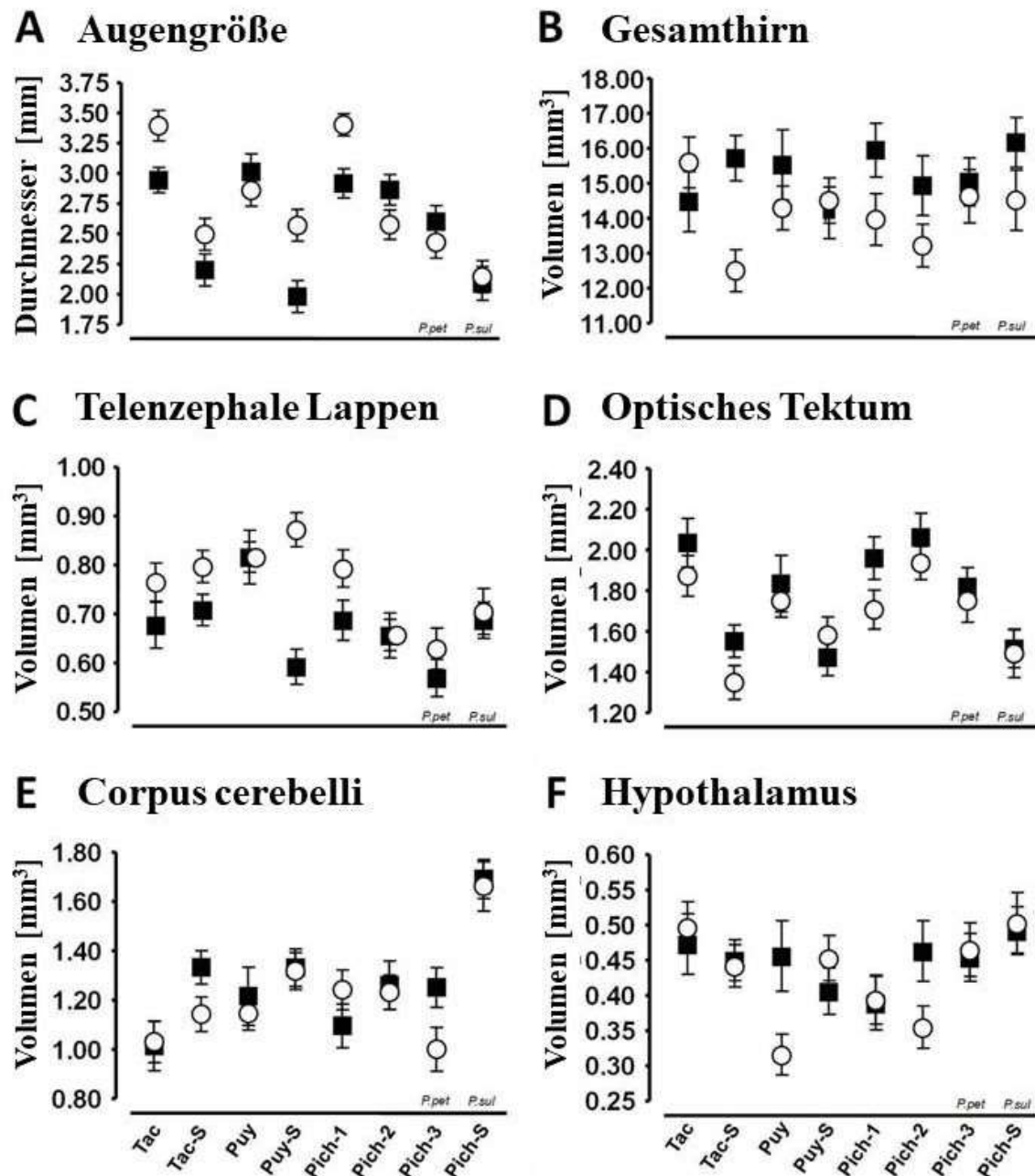


Abbildung 4: Vergleich der Volumina A. telenzepale Lappen, B. optisches Tektum, C. Corpus cerebelli, D. Hypothalamus, E. Gesamthirn und F. Augengröße (EMM ± SEM) von Fischen aus dem *Poecilia* Komplex aus drei Flusssystemen (*P. mexicana*: Tac, Tac-S, Puy, Puy-S, Pich-1, Pich-2; *P. sulphuraria*: Pich-S; *P. petenensis*: Pich-3). Männchen: volle Symbole; Weibchen: offene Symbole. (Eigene Darstellung)

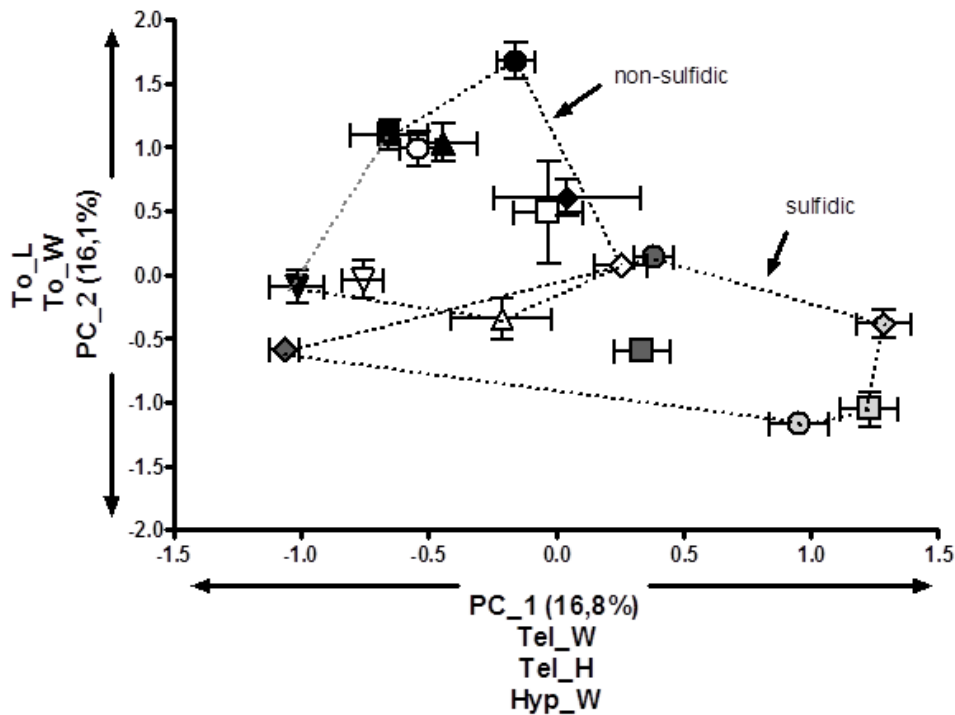


Abbildung 5: Hauptkomponentenanalyse (EMM \pm SD) zum Vergleich der Gehirngröße von Weibchen (nicht-sulfidisch / offen; sulfidisch / hellgrau) und Männchen (nicht-sulfidisch / schwarz; sulfidisch / dunkelgrau). Dargestellt sind die Abstände der Populationen zwischen sulfidischen und nicht-sulfidischen Lebensräumen entlang Hauptkomponente 2 aufgrund der Länge und Breite des optischen Tektums; (■ Tac; ■ Tac-S; ◆ Puy; ◆ Puy-S; ▲ Pich-1; ▼ Pich-2; ▲ Pich-S). (Eigene Darstellung)

Tabelle 4: Übersicht über die untersuchten Populationen (*Poecilia*) von verschiedenen Standorten der Flusssysteme Rio Tacotalpa, Rio Puyacatengo und Rio Pichucalco einschließlich Standortabkürzung (Standort-ID), Stichprobengröße (N) und Vorkommen von H₂S (grau). (Eigene Tabelle)

Flusssystem	Spezies	Standort	Standort-ID	H ₂ S	N(m/w)
Rio Tacotalpa	<i>P. mexicana</i>	Arroyo Bonita	Tac	Nein	10(4/6)
	<i>P. mexicana</i>	El Azufre	Tac-S	Ja	17(8/9)
Rio Puyacatengo	<i>P. mexicana</i>	Puyacatengo Bridge	Puy	Nein	12(3/9)
	<i>P. mexicana</i>	La Luvia	Puy-S	Ja	15(8/7)
Rio Pichucalco	<i>P. mexicana</i>	Baños Bridge	Pich-1	Nein	12(5/7)
	<i>P. mexicana</i>	Rio Teapa	Pich-2	Nein	12(4/8)
	<i>P. petenensis</i>	Lagoon West 195	Pich-3	Nein	11(6/5)
	<i>P. sulphuraria</i>	Baños del Azufre	Pich-S	Ja	11(7/4)

Tabelle 5: Allgemeine Ergebnisse des linearen Mischmodells (ANCOVA) zur Identifizierung von Unterschieden im Gehirnvolumen zwischen sulfidischen und nicht-sulfidischen Populationen (Rio Tacotalpa: Tac, Tac-S; Rio Puyacatengo: Puy, Puy-S; Rio Pichucalco: Pich-1, Pich-S (*P. sulphuraria*); siehe Tabelle 4). Als abhängige Variablen wurden die Volumina der telenzephalen Lappen, des optischen Tektums, des Corpus cerebelli, des Hypothalamus und des Gesamthirns sowie der Durchmesser der Augen verwendet. Als feste Faktoren wurden „Flusssystem“, „Geschlecht“ sowie „Toxizität“ verwendet. „Standort“ wurde als Zufallsfaktor und „Standort (Flusssystem * Toxizität)“ wurde als verschachtelter Term verwendet. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. (Eigene Tabelle)

Hirnregion		Quadrati-				
Volume	Faktor	df	scher Mittel-	F	P	η^2
		wert				
Telenzephale Lappen	Kovariate (SL; Hirnmasse)	1	1.883	169.759	< 0.001	0.711
	Flusssystem	2	0.007	0.404	0.71	0.282
	Geschlecht	1	0.149	13.410	< 0.001	0.163
	Toxizität	1	0.000	0.015	0.90	0.005
	Standort (Flusssystem.* Toxizität)	2	0.016	1.469	0.23	0.041
Fehler		69				
Optisches Tektum	Kovariate (SL; Hirnmasse)	1	6.465	132.022	< 0.001	0.657
	Flusssystem	2	0.019	0.247	0.80	0.194
	Geschlecht	1	0.102	2.076	0.15	0.029
	Toxizität	1	2.025	0.154	0.012	0.903
	Standort (Flusssystem.* Toxizität)	2	0.049	1.615	0.20	0.045
Fehler		69				
Corpus cerebelli	Kovariate (SL; Hirnmasse)	1	6.139	149.784	< 0.001	0.685
	Flusssystem	2	0.520	2.729	0.26	0.730
	Geschlecht	1	0.015	0.357	0.55	0.005
	Toxizität	1	1.086	7.174	0.09	0.754
	Standort (Flusssystem.* Toxizität)	2	0.194	4.733	0.012	0.121
Fehler		69				

Hirnregion			Quadrati-			
Volume	Faktor	df	scher Mittel-	F	P	η^2
			wert			
Hypothalamus	Kovariate (SL; Hirnmasse)	1	0.797	101.289	< 0.001	0.529
	Flusssystem	2	0.040	1.132	0.46	0.529
	Geschlecht	1	0.000	0.045	0.83	0.001
	Toxizität	1	0.029	1.032	0.40	0.305
	Standort (Flusssystem. * Toxizität)	2	0.036	4.542	0.014	0.116
	Fehler	69				
	Gesamthirn	Kovariate (SL; Hirnmasse)	1	573.575	205.056	< 0.001
Flusssystem		2	2.421	1.036	0.48	0.496
Geschlecht		1	5.080	1.816	0.18	0.026
Toxizität		1	17.929	7.294	0.051	0.631
Standort (Flusssystem. * Toxizität)		2	2.327	0.832	0.44	0.024
Fehler		69				
Augengröße		Kovariate (SL)	1	5.438	108.828	< 0.001
	Flusssystem	2	0.030	0.753	0.56	0.410
	Geschlecht	1	0.008	0.168	0.68	0.002
	Toxizität	1	0.582	13.168	0.005	0.592
	Standort (Flusssystem. * Toxizität)	2	0.039	0.779	0.46	0.022
	Fehler	69				

Tabelle 6: MANOVA zur Identifizierung von Unterschieden im Gehirnvolumen zwischen den drei Nebenflüssen (Tac, Tac-S; Puy, Puy-S; Pich-1; Pich-2; Pich-3 (*P. petenensis*); Pich-S (*P. sulphuraria*)) und potentieller Geschlechtsdimorphismus: größenkorierte Volumen Residuen der telenzephalen Lappen, optisches Tektum, Corpus cerebelli und Hypothalamus wurden als abhängige Variablen verwendet. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. Die *F*-Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda-Werte von Wilks angenähert. (Eigene Tabelle)

Faktor	F	<i>P</i>	Partiell η^2
Standort	5.91	< 0.001	0.33
Geschlecht	6.43	< 0.001	0.24
Standort x Geschlecht	1.50	0.054	0.11

Tabelle 7: MANOVA mit den Hauptkomponenten zur Identifizierung von Unterschieden im Gehirnvolumen zwischen den drei Nebenflüssen (Tac, Tac-S; Puy, Puy-S; Pich-1; Pich-2; Pich-3 (*P. petenensis*); Pich-S (*P. sulphuraria*)) und möglichem Geschlechtsdimorphismus: Hauptkomponenten der größenkorierten Volumen Residuen von telenzephalen Lappen, optischem Tektum, Corpus cerebelli und Hypothalamus wurden als abhängige Variablen verwendet. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. Die *F*-Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda-Werte von Wilks angenähert. (Eigene Tabelle)

Faktor	<i>F</i>	<i>P</i>	Partiell η^2
Toxizität	26.808	< 0.001	0.593
Geschlecht	10.854	< 0.001	0.371
Toxizität x Geschlecht	2.037	0.081	0.100
Standort	9.738	< 0.001	0.443
Geschlecht	12.533	< 0.001	0.439
Standort x Geschlecht	1.749	0.007	0.130

2.3 Konvergente anatomische Veränderungen bei *Poecilia vivipara*: abiotische vs. biotische Stressoren

2.3.1 Studiensystem Restinga de Jurubatiba Nationalpark / Brasilien

In der dritten Studie wurden *P. vivipara* aus neun Küstenlagunen (siehe Abb. 3, Tabelle 1) im und um den Restinga de Jurubatiba Nationalpark im Bundesstaat Rio de Janeiro, Brasilien gesammelt, die eine Küstenlandschaft von 44 km² umfassen (Übersicht Lagunen: Hollanda-Carvalho, et al., 2003). Das Gebiet ist trocken und Niederschläge sind stark saisonal mit einem mittleren jährlichen Niederschlag von 1164 mm. Kurtz, et al. (2013) postulierten, dass

die monatlichen Durchschnittswerte von 41 mm im Winter (Juni) bis 189 mm im Sommer (Dezember) reichen. Details über Niederschlagsmuster sind auch in Hollanda-Carvalho, et al. (2003), Abb. 2 zu finden. Die in dieser Studie untersuchten Lagunen sind weniger als 1 Meter tief und unterscheiden sich deutlich in abiotischen sowie biotischen Faktoren (Tabelle 6; Abb.10). Die zyklische Austrocknung und Überflutung der Lagunen ist saisonabhängig und hängt von lokalen Niederschlägen, Verdunstung, Eindringen des Meerwassers, Wassereintritt sowie Durchbrechen der Sandbarriere ab (Esteves, et al., 2008; Caliman, et al., 2010). Dies sind die Hauptursachen für die Schwankungen der Lagunen in Salzgehalt (von weniger als 1 ‰, in Lagunen mit viel Süßwasserzufluss aus Bächen, zu mehr als 35 ‰ in isolierten Lagunen, die salzhaltiges Grundwasser enthalten können), Nitratkonzentrationen, Wassertransparenz (Chlorophyll-a), Phosphat und Nitrat sowie Predationsrisiko (Caliman, et al., 2010; Di Dario, et al., 2013; Felice, 2014; Sommer-Trembo, et al., 2017). Starke Küstenwinde über den Lagunen führen zu eher gleichmäßig hohen Sauerstoffkonzentrationen (vgl. Tabelle 1: Sommer-Trembo, et al., 2017). Der Park verfügt über mindestens 18 Küstenlagunen, die entlang der kontinentalen Küstenlinie verteilt (Esteves, et al., 2008) und durch eine Sandbarriere vom Ozean isoliert oder halbisoliert sind. Sie weisen unterschiedliche Eigenschaften auf, in Bezug auf Größe, Morphologie, physikalische und chemische Eigenschaften, anthropische Auswirkungen und Artenzusammensetzung (Hollanda-Carvalho, et al., 2003). Hollanda-Carvalho, et al. (2003) beschrieb, dass einige dieser Lagunen für die in dieser Region ansässige Bevölkerung von wirtschaftlicher Bedeutung sind und Freizeit- und Fischereigebiete darstellen (Kanal Campos-Macaé). Die Eutrophierung der analysierten Lagunen wird nicht direkt durch häusliche Abwässer verursacht und die Lagunen sind nicht mit dem Kanal Campos-Macaé verbunden. Diese Region wird von einem saisonalen Klimaregime und dem Wechsel von trockener und regnerischer Jahreszeit dominiert (Hollanda-Carvalho, et al., 2003). Die saisonalen Veränderungen haben einen starken Einfluss auf Konzentrationen von Phosphat, Nitrat und Chlorophyll-a, die biotischen Bedingungen (z. B. Artenzusammensetzung: Hollanda-Carvalho, et al., 2003; Resistenz und Widerstandsfähigkeit der Fischgemeinschaft: Sánchez-Botero, et al., 2009) sowie auf abiotische Faktoren, wie den Salzgehalt, der von lokalem Niederschlag, Verdunstung, Eindringen von Meerwasser, Wassereintritt sowie Überschreiten der Sandbarriere abhängt (Esteves, et al., 2008; Caliman, et al., 2010). Insbesondere beeinflusst der Salzgradient die biotischen Eigenschaften (z. B. Vorhandensein / Fehlen von Raubtieren: Hollanda-Carvalho, et al., 2003; Verfügbarkeit von Nahrungsmitteln:

Gomes Jr. & Monteiro, 2008; Suzuki, et al., 1998) und abiotische Faktoren (z. B. Habitatstruktur: Hollanda-Carvalho, et al., 2003; physikalisch-chemische Eigenschaften von Wasser: Gomes Jr. & Monteiro, 2008; Nitrifikation: Santoro & Enrich-Prast, 2009). Der Salzgehalt ist auch verantwortlich für die Erhöhung der Wachstumshormonkonzentration (Deane & Woo, 2009) und die Effizienz des Stoffwechsels (Haney & Walsh, 2003) sowie für die Senkung der Energiekosten bei der Osmoregulation (Boeuf & Payan, 2001).

Der Studienorganismus *P. vivipara*, der ursprünglich in Süßwasserökosystemen beheimatet ist, ist im Nordosten des Bundesstaates Rio de Janeiro weitverbreitet und reichlich vorhanden. Mehrere Populationen bewohnen sowohl Süßwasser- als auch Salzwasserlagunen (hypersalin) im Restinga de Jurubatiba Nationalpark (22 ° 3 '19,3' S und 41 ° 40 '46,8' W) (Gomes Jr. & Monteiro, 2008). *P. vivipara* ist in der Lage, sich an Salzkonzentrationen anzupassen, die viel höher als im Meerwasser sind, was durch die osmoregulatorischen Mechanismen von mitochondrienreichen Zellen (Rocha, et al., 2010) in den Kiemen sichergestellt wird, wie in Abschnitt 1.2.3 beschrieben. Aufgrund dieser Tatsache wird *P. vivipara* für Biomonitoring der Umwelt in brasilianischen Gewässern verwendet (Harayashiki, et al., 2013). Die hohen Phosphat- und Nitratkonzentrationen sind auf den Abbau organischer Substanzen zurückzuführen (Wasserpflanzen und insbesondere Tiere, die die erhöhten Salzgehalte nicht tolerierten). Die Informationen zu Raubtiergemeinschaften stammen aus der jüngsten wissenschaftlichen Literatur (Caliman, et al., 2010; Di Dario, et al., 2013; Felice, 2014). Nach Sommer-Trembo, et al. (2017) wurde das Prädationsrisiko aufgrund des Vorhandenseins oder Fehlens von vier Hauptprädatoren (Erythriniden *Hoplias aff. Malabaricus* und *Hoplerythrinus unitaeniatus* sowie Centropomids *Centropomus parallelus* und *C. undecimalis*) als „niedrig“ bzw. „hoch“ eingestuft. Die Umgebungsbedingungen sind in diesem Bereich sehr unterschiedlich. Daher ist zu erwarten, dass Plastizität eine wichtige Rolle spielen kann. Fitness und Leistungsfähigkeit hängen bei Organismen im Wesentlichen vom Gehirn ab (Gonda, et al., 2013). In zahlreichen Taxa wurde Plastizität in der Gehirnarchitektur demonstriert (z. B. Fische: Pollen, et al., 2007; Kotrschal, et al., 2013; Eifert, et al., 2014; Schulz-Mirbach, et al., 2016; Vögel: Day, et al., 2005).

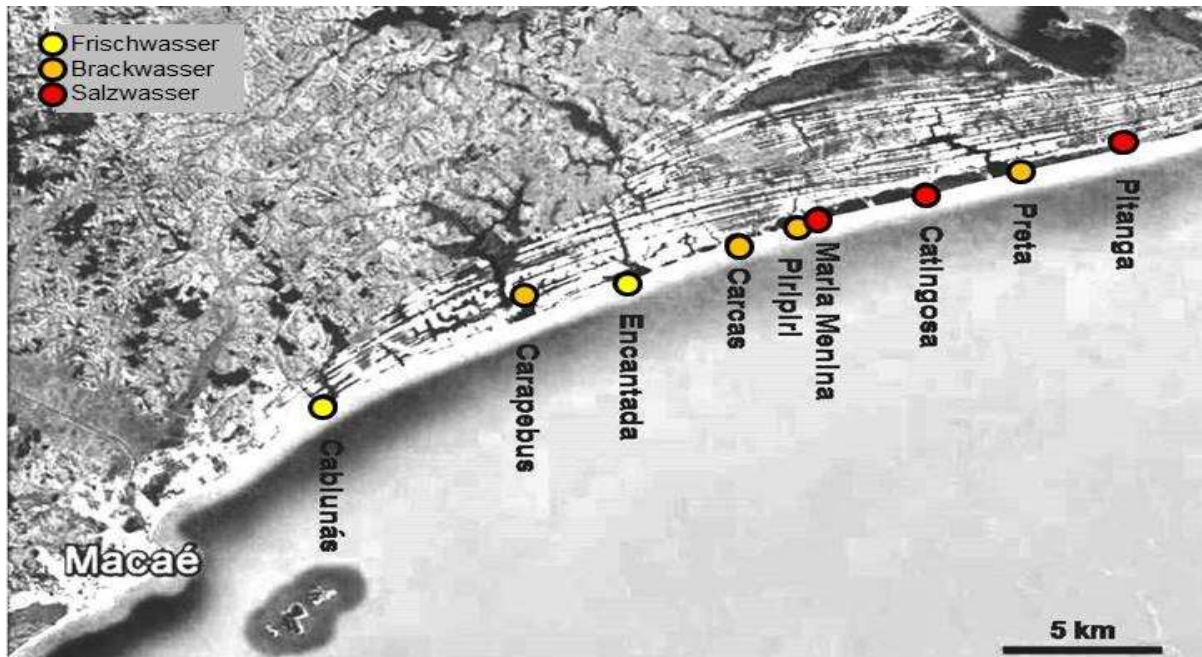


Abbildung 6: Übersicht über das Studiensystem Restinga de Jurubatiba Nationalpark, Brasilien und die neun beprobten Küstenlagunen (Frischwasserlagunen / gelb: Cabiunás, Encantada; Brackwasser-Lagunen / orange: Carapebus, Carcas, Piri-piri und Preta; Salzwasserlagunen / hyperhalin; rot: Maria Menina, Catingosa und Pitanga), die sich in abiotischen und biotischen Standortfaktoren unterscheiden. (Eigene Darstellung)

Zur Durchführung dieser Studie wurden die Standardlänge und Augengröße (maximaler Durchmesser von 10 % Formalinfixierten und 70 % Ethanolkonservierten Proben ($N_{\text{Total}} = 211$) mit einer Schieblehre bis auf 0,05 mm genau gemessen. Alle Proben wurden – wie in Studie eins und zwei – verarbeitet und die Messungen folgten dem Protokoll von Pollen, et al. (2007).

Für den Vergleich verschiedener Umgebungsparameter wurden alle limnologischen Daten während der Probenahme von Probanden gesammelt. Als Indikator für die Wassertransparenz wurden Chlorophyll-a-Konzentrationen sowie die visuelle Auswertung von Wasserproben verwendet (Details, siehe Abbildung S1 A: Sommer-Trembo, et al., 2017). Die Salzgehaltkonzentrationen reichen von Süßwasser bis zu hypersalinem Salzwasser, die von lokalen Niederschlägen, Verdunstung, Eindringen von Meerwasser, Wassereinzugsgebieten sowie dem Überschreiten der Sandbarriere abhängen (Esteves, et al., 2008). Lagunen, die näher am Meer liegen, weisen brackiges bis salziges Wasser auf (manchmal sogar mehr Salz als in Meerwasser), während die weiter vom Meer entfernten Gewässer Süßwasser enthalten. Santoro & Enrich-Prast (2009) postulierten, dass der fehlende Zusammenhang zwischen potenzieller Nitrifikation und Chlorophyll-a auf die geringe

Algendichte zurückzuführen ist. Für Lagunen mit reduzierter Sedimentalgenbesiedlung ist der Salzgehalt des Wassers wahrscheinlich ein wichtiger Regulierungsfaktor für die Sedimentnitrifikation. In hypersalinen Lagunen sind die Konzentrationen von Chlorophyll-a, Phosphat und Nitrat (Abb. 10, Tabelle 8) sehr hoch. Die Nitrifikation ist in Salzwasserlagunen geringer, weil die geringere Sauerstofflöslichkeit bei höheren Salzgehalten die Penetration und Verfügbarkeit in den Sedimenten (Revsbeck, et al., 1980) und die Dicke der Nitrifikationsaktivitätsschicht verringert (Santoro & Enrich-Prast, 2009). Dies führt zu einer hohen Nitratkonzentration. Einige Lagunen wiesen eine hohe Wassertrübung auf (hohe Phosphatkonzentrationen; Abb. 10), obwohl keine Hinweise auf vom Menschen verursachte Eutrophierungsquellen vorlagen (z. B. sind keine industriellen oder häuslichen Abwässer mit den jeweiligen Lagunen verbunden). Diese Lagunen verzeichneten im Jahr der Probenahme einen drastischen Wasserspiegelabfall, der sich auch in einem hohen Salzgehalt des Wassers niederschlug. Es ist daher wahrscheinlich, dass hohe Phosphatwerte auf die Zersetzung von organischem Material, wie Wasserpflanzen und Tieren (einschließlich Fischen) zurückzuführen sind.

Es ist zu erwarten das Telenzepale Lappen, Corpus cerebelli und Riechkolben sollten bei Fischen aus Salzwasser (hoher Salzgehalt, geringer Wassertransparenz und hohem Prädationsrisiko) vergrößert vorliegen. Die telenzephalen Lappen erhalten chemischen Input (olfaktorisch und geschmacklich: Bshary, et al., 2014) und sind an der assoziativen Verarbeitung von Signalen aus sich ändernden Umgebungen beteiligt. Das Kleinhirn ist für die motorische Koordination und Körperorientierung verantwortlich (Broglia, et al., 2003; Butler & Hodos, 2005; Kotrschal, et al., 1998). Die Umwandlung von mechanischen Reizen in neuronale Signale (engl. mechanosensation; vgl. Riesch, et al., 2010; Tobler, 2009) könnte für Fische eine wichtige Rolle spielen. Zum einen, um Bewegungen zu koordinieren und zum anderen, um Raubtieren in Gewässern mit geringer Wassertransparenz (Chlorophyll-a, hoher Phosphatgehalt) zu entgehen. Die Vergrößerung verleiht einen kognitiven Vorteil, denn es könnte die Leistung bei hohem Prädationsrisiko verbessern. Die Zunahme der relativen Größe nur bestimmter Gehirnregionen, beispielsweise (bspw.) telenzepale Lappen und Kleinhirn, scheint mit größeren Gehirnen verbunden zu sein (Kotrschal, et al., 2017). Da zunehmende Salzkonzentrationen die Wassertrübung beeinflussen (z. B. Habitatstruktur: Hollanda-Carvalho, et al., 2003; physikalisch-chemische Eigenschaften von Wasser: Gomes Jr. & Monteiro, 2008; Nitrifikation: Santoro & Enrich-Prast, 2009), sollten die optischen Tekta und

Augen in Populationen aus Salzwasser (hoher Salzgehalt, geringer Wassertransparenz und hohem Prädationsrisiko) reduziert werden. Der Salzgehalt ist auch für die Erhöhung der Wachstumshormonkonzentrationen (Deane & Woo, 2009) und die Effizienz des Stoffwechsels verantwortlich (Haney & Walsh, 2003). Es wurde daher erwartet, dass in Fischen aus Salzwasserlagunen mit geringer Wassertransparenz ein größerer Hypothalamus vorliegt.

2.3.2 Statistik

Wie in der ersten Studie und in Übereinstimmung mit Studien zu anderen Teleostier-Arten (Huber, et al., 1997; Lisney & Collin, 2006; Pollen, et al., 2007) wurde das Volumen (V) für jeden der fünf Hirnareale (Riechkolben, telenzepale Lappen, optisches Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus) angenähert sowie das gesamte Hirnvolumen unter Verwendung einer idealisierten Ellipsoidformel $V = (L * W * H) * 3,14 / 6$ nach einem Ellipsoidmodell unter der Annahme, dass diese Bereiche die Form eines idealisierten Ellipsoids aufweisen, berechnet. Alle erhaltenen Residuen wurden dann lg10-transformiert, um normale Fehlerverteilungen zu erreichen. Die Volumina der telenzepalen Lappen, optisches Tektum, Corpus cerebelli und Hypothalamus wurden in einer multivariaten Kovarianzanalyse (MANCOVA) als abhängige Variable verwendet.

- a) Das Prädationsrisiko und Phosphat wurden als faktoriell erklärende Variablen (d. h. niedrig gegen hoch) einbezogen, da sie bimodale Verteilungsmuster zeigten (Abb. 10). Der Faktor "Geschlecht" wurde – wie in Studie ein und zwei – einbezogen, um den bekannten sexuellen Dimorphismus der Gehirnmorphologie bei Teleostier zu erklären (Bass & Grober, 2001; Kotrschal, et al., 2012a; Kotrschal, et al., 2012b). Andere erklärende Variablen ("Salzgehalt", "Nitrat" und "Wassertransparenz", bewertet als Chlorophyll-a) zeigten kontinuierliche Verteilungsmuster (Abb. 10) und wurden als Kovariaten eingeschlossen. Modellbedingt wurden post-hoc ANCOVAs mit einzelnen abhängigen Variablen mit ansonsten identischer Modellstruktur durchgeführt. Daten für die Riechkolben waren nicht für alle Individuen verfügbar. Es erfolgte die Berechnung von ANCOVAs für das Gesamthirn (Wechselbeziehung mit allen Hirnflächenvolumina) und das Riechkolbenvolumen, die Augendurchmesser und die Kopfgröße mit einer ähnlichen Modellstruktur und schrittweiser Eliminierung nicht signifikanter Interaktionsterme, wie oben beschrieben.

- b) Um die Richtung signifikanter Effekte von Kovariaten (d. h. positive oder negative Beziehungen) zu charakterisieren, wurde unter Verwendung von Residuen (d. h. um andere Modellterme korrigiert) die Spearman-Rangkorrelationen (Timischl, 2013; Horn, 1942) berechnet. Die signifikanten Auswirkungen der wichtigsten Faktoren und Wechselwirkungen wurden mit geschätzten marginalen Mittelwerten dargestellt. Alle Analysen wurden mit SPSS v. 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt.

2.3.3 Ergebnisse

In diesem Teil der Studie wurde die phänotypische Variation der Hirnareale und der Körpermorphologie von *Poecilia vivipara* ($N_{Total} = 229$) Populationen untersucht aus Standorten, die sich in abiotischen Umgebungsbedingungen, insbesondere in Salzgehalt, Trübung, Komponenten der Wasserchemie und Habitat-Heterogenität sowie biotischen Faktoren (Prädatorendichte) unterschieden. Erwartet wurde, dass sich unterschiedliche abiotische und biotische Bedingungen auf verschiedene Hirnregionen an verschiedenen Standorten verschieben. Die multivariate Kovarianzanalyse (Kovariaten „Salzgehalt“, „Nitrat“ und „Lebensraumproduktivität“; Feste Faktoren: „Geschlecht“, „Wassertrübung“ und „Prädationsrisiko“) ergab einen wesentlichen Effekt für den Faktor „Wassertrübung“, „Geschlecht“ und „Prädationsrisiko“. Desweiteren wurden Haupteffekte für die Interaktionsterme „Geschlecht * Wassertrübung“, „Sex * Predationrisiko“, „Wassertrübung * Prädationsrisiko“ und „Geschlecht * Prädationsrisiko * Wassertrübung“ nachgewiesen, wenn der Einfluss der Kovariate konstant gehalten wurde. Der Einfluss der Kovariate war signifikant für den „Salzgehalt“, „Nitrat“ und die „Wassertransparenz“. Schlussfolgerung daraus ist, dass ein Zusammenhang zwischen den Änderungen in der Art der Kovariate und der Änderungen im Mittelwert der Antwortvariablen besteht (Tabelle 9). Zuerst wurde vorausgesagt, dass Riechkolben (Abb. 8 A), telenzepale Lappen (Abb. 8 C) und Corpus cerebelli (Abb. 8 E) bei Fischen von Lagunen mit hohem Salzgehalt, Wassertrübung und Prädationsrisiko vergrößert sein sollten. Ein wesentlicher Effekt wurde für den Faktor Wassertrübung bei den telenzepalen Lappen, Corpus cerebelli und Riechkolben Volumen gefunden. Verifiziert wurde ein Haupteffekt für den Faktor „Prädationsrisiko“ für telenzepale Lappen, Corpus cerebelli und Riechkolben Volumen (Tabelle 10). Es wurden signifikante Interaktionsterme für telenzepale Lappen für „Geschlecht * Wassertrübung“, „Geschlecht * Prädationsrisiko“, „Wassertrübung * Prädationsrisiko“ und „Geschlecht *

Wassertrübung * Prädation“ gefunden. Ebenfalls wurden für das Corpus cerebelli Volumen für „Wassertrübung * Prädationsrisiko“ ein effekt gefunden. Für Riechkolben wurden keine signifikanten Wechselwirkungsterme nachgewiesen. Der stärkste Haupteffekt (unterteilt nach Cohens, 1988) wurde bei den telencephalen Lappen für den Faktor Prädationsrisiko ($\eta^2 = 0,125$) und den Wechselwirkungsfaktor Wassertrübung * Prädationsrisiko ($\eta^2 = 0,116$, Abb. 8 C) festgestellt. In einer Spearman-Rank-Korrelationsanalyse für telencephale Lappen zeigten sich negative Korrelationen (Verringerung des Volumens) zwischen den Lebensraummessungen, jedoch eine positive Korrelation (Vergrößerung des Volumens) für das Prädationsrisiko (Details siehe Tabelle 10), mit Ausnahme des Corpus cerebelli Volumens, das positiv mit Lebensraummessungen (Kovariaten und Wassertrübung) korreliert. Zweitens wurde vorausgesagt, dass in Populationen aus Lagunen mit hohem Salzgehalt, geringer Wassertransparenz (Chlorophyll-a) und hohem Prädationsrisiko ein verringertes optisches Tektum (Abb. 8 D) und kleinere Augen (Abb. 9 B) zu finden sind, da zunehmende Salzkonzentrationen die Wassertransparenz beeinflussen (z. B. Habitatstruktur: Hollanda-Carvalho, et al., 2003; physikalisch-chemische Eigenschaften von Wasser: Gomes Jr. & Monteiro, 2008; Nitrifikation: Santoro & Enrich-Prast, 2009). ANCOVA´s für jede abhängige Variable (Kovariaten: „Salzgehalt“, „Nitrat“ und „Wassertransparenz“; „Feste Faktoren“: „Geschlecht“, „Phosphat“ und „Prädationsrisiko“; Tabelle 10) ergaben einen wesentlichen Effekt für das optische Tektum-Volumen für den Faktor „Wassertrübung“ und einen Haupteffekt für den Faktor „Prädationsrisiko“. Es wurden signifikante Wechselwirkungsterme für das Volumen des optischen Tektums für den Faktor „Geschlecht * Wassertrübung“, „Sex * Prädationsrisiko“, „Wassertrübung * Prädationsrisiko“ und „Geschlecht * Wassertrübung * Prädationsrisiko“ gefunden. Der stärkste Haupteffekt (unterteilt nach Cohens, 1988) für das optische Tektum wurde für die Kovariate Nitrat ($\eta^2 = 0,172$), die Faktoren Geschlecht ($\eta^2 = 0,177$) und Wassertrübung ($\eta^2 = 0,124$) sowie für den Wechselwirkungsterm Wassertrübung * Prädationsrisiko ($\eta^2 = 0,110$) gefunden. Eine Spearman-Rang-Moment-Korrelationsanalyse zeigte, dass das Volumen des optischen Tektums und die Augengröße negativ (Verringerung des Volumens und Durchmessers) mit den Kovariaten Salzgehalt, Nitrat und Lebensraumproduktivität korreliert sind, jedoch positiv (Vergrößerung des Volumens und Durchmessers) mit dem Prädationsrisiko. Zusätzlich wurde ein größerer Hypothalamus (Abb. 8 F) in Fischen aus Lagunen mit hohem Salzgehalt und Wassertrübung vorhergesagt, da der Salzgehalt auch für die Erhöhung der Wachstums-hormonkonzentrationen (Deane & Woo, 2009) und die Effizienz des Stoffwechsels verantwortlich ist (Haney & Walsh, 2003).

Die Analyse ergab einen Haupteffekt (ANCOVA) für den Faktor "Wassertrübung" und einen Haupteffekt für den Faktor "Prädationsrisiko" im Hypothalamusvolumen. Signifikante Interaktionsterme wurden für die Faktoren „Geschlecht * Wassertrübung“ „Sex * Prädationsrisiko“ "Wassertrübung * Prädationsrisiko" und "Geschlecht * Wassertrübung * Prädationsrisiko" gefunden. Der stärkste Haupteffekt wurde für den Faktor Geschlecht ($\eta^2 = 0,211$) und die Wechselwirkung zwischen Wassertrübung und Prädationsrisiko ($\eta^2 = 0,135$) festgestellt. Die Spearman-Rang-Moment-Korrelationsanalyse zeigt keine direkte Korrelation zwischen Habitatmessungen und dem Prädationsrisiko für Hypothalamusvolumen (Tabelle 10). Da der Salzgehalt die Energiekosten bei der Osmoregulation senkt (vgl. Boeuf & Payan, 2001), wurden kleinere Gehirne (Abb. 8 B) und größere Köpfe (Abb. 9 A) (vgl. z. B. von *Limia*: Weaver, et al., 2016) in Fischen aus Lagunen mit hohem Salzgehalt und geringer Wassertransparenz erwartet. Dies könnte das Resultat der energetischen Konsequenzen in Umgebungen mit niedriger und hoher Salzkonzentration sein, welche für die phänotypische Vielfalt und die Verringerung der Gesamtkörpergröße verantwortlich ist. Die Analyse ergab einen Haupteffekt für den Faktor „Wassertransparenz“ für das gesamte Gehirnvolumen und die Kopfgröße (Tabelle 11). Die Spearman-Produkt-Moment-Korrelation zeigt, dass die Kopfgröße positiv (Vergrößerung) mit den Habitat-Maßen (Kovariaten und Wassertransparenz) korreliert, aber negativ (Verringerung) mit dem Prädationsrisiko. Für das gesamte Gehirnvolumen wurden negative Korrelationen mit Kovariaten und Wassertransparenz, aber keine korrelierten Indikationen für das Prädationsrisiko nachgewiesen. Ein Geschlechtseffekt wurde für alle Messungen festgestellt (in allen Fällen $P < 0,001$ für die telenzephalen Lappen, das optische Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus, Gesamthirn, Riechkolben Volumen (Tabelle 11), Augengröße (Tabelle 4) und Kopfgröße (Tabelle 12). Es wurde ein Geschlechtseffekt für das optische Tektum, den Corpus cerebelli, das Hypothalamusvolumen und die Kopfgröße festgestellt. Diese zeigen, dass die mittleren Unterschiede (in allen Fällen $P < 0,05$) in allen Hirnarealvolumina zwischen hoher und niedriger Wassertransparenz, zwischen hohem und niedrigem Prädationsrisiko und zwischen den Geschlechtern signifikant unterschiedlich sind. Weibchen zeigen kleinere Hirnareale und ein geringeres Hirnvolumen (Abb. 8 B - F). Auffällig jedoch ist, dass es bei Weibchen und Männchen zu unterschiedlichen Verschiebungen kommt. Bei erhöhtem Prädationsrisiko verringerten sich die Hirnareale bei Weibchen, aber lagen bei Männchen vergrößert vor (Riechkolben, Gesamthirn, Telenzephalen Lappen, Corpus cerebelli und Hypothalamus). Die Ergebnisse zeigen, dass das

Prädationsrisiko die Größe der telencephalen Lappen und des optischen Tektums erhöht, aber die Kopfgröße verringert. Entgegen der Annahme, dass hohe Prädation zu größeren Gehirnen führt, wurde kein Hinweis auf eine Vergrößerung des Gehirns unter hohem Prädationsrisiko verifiziert. Ein umgekehrter Effekt wurde für Fische aus Lagunen mit hoher Wassertrübung, Habitatproduktivität und Salzgehalt festgestellt, da Fische kleinere telencephale Lappen, optische Tekta, Augengröße und Gesamthirngröße, jedoch größere Corpus cerebelli und Kopfgröße aufwiesen.

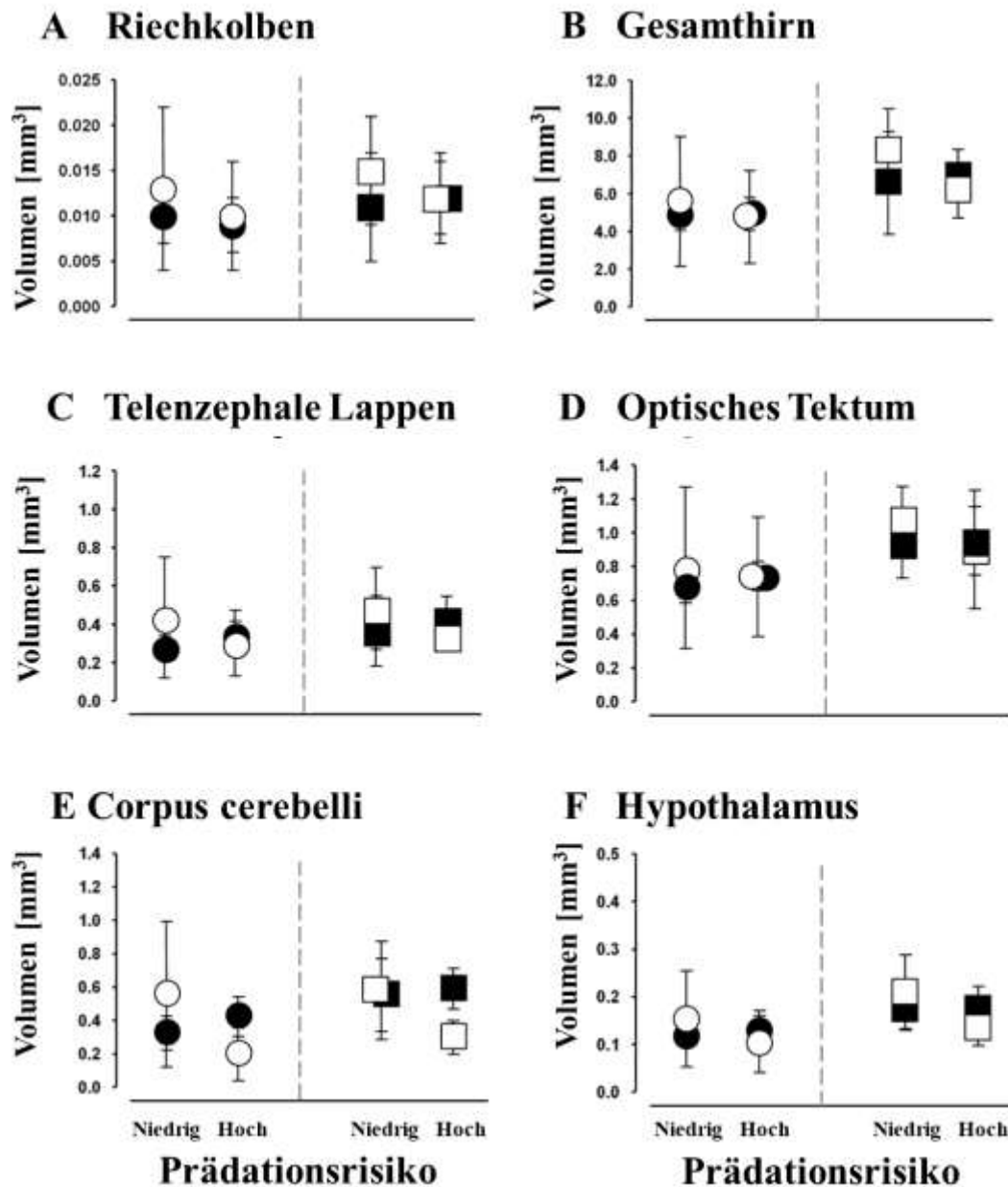


Abbildung 7: Dargestellt sind die Volumina (EMM \pm SD) von **A.** Riechkolben, **B.** Gesamthirn, **C.** telenzephale Lappen, **D.** optisches Tektum, **E.** Corpus cerebelli und **F.** Hypothalamusvolumen von *Poecilia vivipara* unter Einfluss der Phosphatkonzentration (niedrig / hoch) und Prädationsrisiko (niedrig / hoch); (weiße Symbole: niedrige Phosphatkonzentration (hohe Wassertransparenz); schwarze Symbole: hohe Phosphatkonzentration (niedrige Wassertransparenz)). Kreise zeigen Weibchen, Quadrate zeigen Männchen an. (Eigene Darstellung)

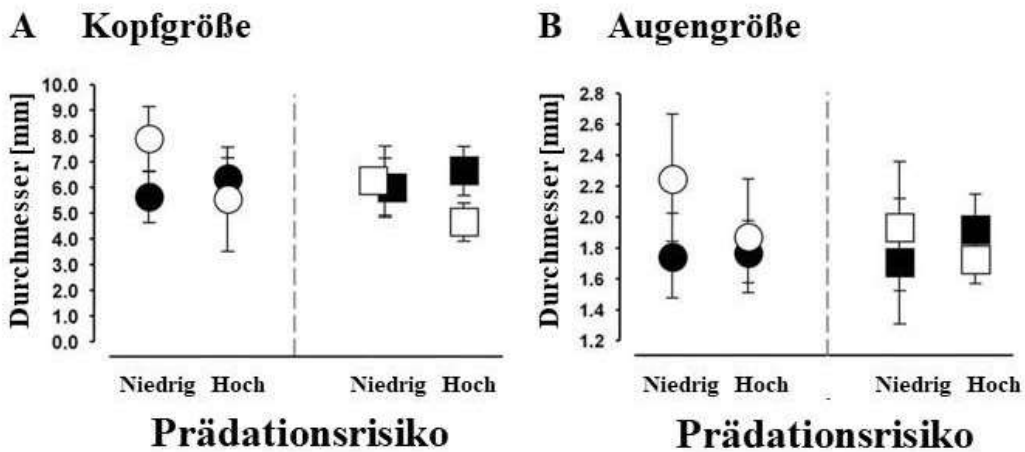


Abbildung 8: Dargestellt sind Unterschiede im Durchmesser (EMM \pm SD) von **A.** Kopf und **B.** Augengröße von *Poecilia vivipara* unter dem Einfluss von niedriger / hoher Phosphatkonzentration und Prädationsrisiko von Fischen aus neun Lagunen des Nationalparks Restinga de Jurubatiba, Brasilien. (weiße Symbole: niedriges Phosphat, Frisch- und Brackwasser; schwarze Symbole: hohe Phosphatkonzentration, hypersalin). Kreise zeigen Weibchen, Quadrate zeigen Männchen an. (Eigene Darstellung)

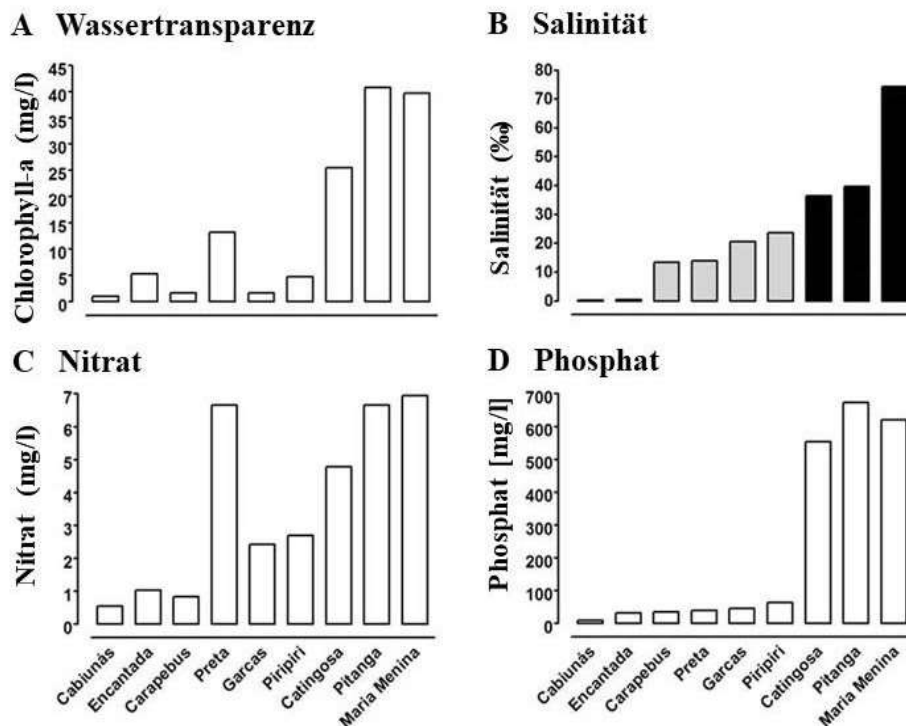


Abbildung 9: Dargestellt sind die untersuchten Umweltparameter (mg / l; Salzgehalt in Promille) der neun Lagunen des Restinga de Jurubatiba Nationalparks, Brasilien. Gemessen im März 2014. **A.** Wassertransparenz (Chlorophyll-a); **B.** Salzgehalt (weiß: Süßwasser, grau: Brackwasser schwarz: Salzwasser (hypersalin)); **C.** Nitrat; **D.** Phosphat (aufgrund der bimodalen Verteilung als hoch und niedrig eingestuft). (Eigene Darstellung)

Tabelle 8: Umweltparameter mit geografischen Koordinaten der ab März 2014 beprobten Lagunen des Nationalparks Restinga de Jurubatiba (Brasilien). Salzgehalt in Promille (‰). Die Lagunen wurden nach dem Salzgehaltsgradienten von Süßwasser zu Salzwasserlagunen zugeordnet. PR (Prädationsrisiko); WT (Wassertransparenz); P (Phosphat aufgrund der bimodalen Verteilung als hoch und niedrig eingestuft) (Eigene Tabelle).

Standort	N_m	N_f	Salinität	PR	WT	P	Breitengrad	Längengrad
Cabiunás	20	20	0.20	Hoch	Hoch	Niedrig	22°18'06.02"S	41°41'36.56"W
Encantada	10	-	0.40	Niedrig	Hoch	Niedrig	22°14'07.62"S	41°32'50.11"W
Carapebus	-	9	13.40	Niedrig	Hoch	Niedrig	22°14'37.70"S	41°35'48.00"W
Preta	5	-	14.00	Hoch	Hoch	Niedrig	22°10'26.06"S	41°21'01.01"W
Garças	14	15	20.50	Niedrig	Hoch	Niedrig	22°12'49.42"S	41°29'33.05"W
Piripiri	-	5	23.60	Hoch	Niedrig	Niedrig	22°12'14.14"S	41°27'42.32"W
Catingosa	24	50	36.40	Niedrig	Niedrig	Hoch	22°11'12.92"S	41°23'51.79"W
Pitanga	17	20	39.60	Hoch	Niedrig	Hoch	22°09'40.82"S	41°17'53.03"W
Maria Menina	20	-	74.30	Niedrig	Niedrig	Hoch	22°12'01.08"S	41°27'03.59"W

Tabelle 9: Ergebnisse der multivariaten Kovarianzanalyse (MANCOVA) zeigen Volumenunterschiede in den Gehirnanaren von Männchen und Weibchen zwischen den Standorten. Die abhängigen Variablen wurden SL / Hirnmasse korrigiert und die Volumina von telenzephalen Lappen, optischem Tektum, Corpus cerebelli und Hypothalamus lg 10 transformiert. Feste Faktoren waren „Geschlecht“, „Prädationsrisiko“ (niedrig / hoch), „Phosphat“ (aufgrund der bimodalen Verteilung als niedrig / hoch eingestuft, siehe Zusatzmaterial, Abb. 10) und Wechselwirkungsbedingungen. Kovariaten waren "Salinität", "Nitrat" und "Lebensraumproduktivität (Chlorophyll a). Die F -Verhältnisse wurden unter Verwendung der Lambda Werte von Wilks angenähert. Signifikante P -Werte sind fett gedruckt. Die Effektstärke (*Partiell η^2*) ist nach Cohens (1988) grau markiert und zeigt die wichtigsten Auswirkungen der Faktoren auf die einzelnen Bereiche. (Eigene Tabelle)

	Haupteffekte	df	F	P	Partiell η^2
Kovariaten	Salinität	4	9.466	< 0.001	0.163
	Nitrat	4	14.673	< 0.001	0.231
	Lebensraumproduktivität	4	5.034	0.001	0.094
Feste Faktoren	Geschlecht	4	19.048	< 0.001	0.281
	Phosphat	4	7.596	< 0.001	0.135
	Prädationsrisiko	4	8.302	< 0.001	0.146
Interaktions- terme	Geschlecht*Phosphat	4	3.031	0.019	0.059
	Geschlecht*Prädationsrisiko	4	2.478	0.045	0.048
	Prädationsrisiko*Phosphat	4	16,870	< 0.001	
	Geschlecht*Prädationsrisiko*Phosphat	4	2.494	0.044	0.049

Tabelle 10: Spearman-Rangkorrelationskoeffizient mit größenkorrigiertem Hirnvolumen (unlogarithmiert), Kovariaten: „Salzgehalt“, „Nitrat“, „Wassertransparenz“ (als Chlorophyll-a bewertet) und feste Faktoren („Phosphat“). Angezeigt wird der Korrelationskoeffizient Spearmans 'rho (r), der die statistische Abhängigkeit zwischen den Rankings zeigt und nach Cohen (1988) eingeteilt wird; signifikantes *P*-Level (*). (Eigene Tabelle)

	Salinität	Nitrat	Wasser- transparenz	Phosphat	Prädation
Salinität	1				
Nitrat	0.947 **	1			
Chlorophyll-a	0.966 **	0.947 **	1		
Phosphat	0.882 **	0.811 **	0.882	1	
Prädation	-0.163 *	-0.082	-0.079	-0.240 **	1
Telenzephalie	-0.172 *	-0.212 **	-0.165 *	-0.294 **	0.254 **
Lappen					
Optisches Tektum	-0.346 **	-0.375 **	-0.286 **	-0.343 **	0.221 **
Corpus cerebelli	0.451 **	0.388 **	0.432 **	0.293 **	-0.131
Hypothalamus	-0.022	-0.061	-0.001	-0.109	0.018
Gesamthirn	-0.198 **	-0.229 **	-0.162 *	-0.221 **	0.094
Augengröße	-0.344 **	-0.290 **	-0.317 **	-0.223 **	0.110
Kopfgröße	0.391 **	0.440 **	0.421 **	0.407 **	-0.269 **
Riechkolben	0.057	-0.028	0.013	0.082	0.021

** $p \leq 0.001$; * $p \leq 0.05$

Tabelle 11: Ergebnisse einer univariaten Kovarianzanalyse (ANCOVA) zeigen Volumenunterschiede zwischen den Standorten und / oder Geschlechtsdimorphismus von *P. vivipara*. Abhängige Variablen: (korrigiert mit kovariaten SL / BM- und Ig10-transformiert) Telenzephal Lappen, Optisches Tektum, Corpus cerebelli, Hypothalamus, Gesamthirn- und Riechkolben Volumen. Feste Faktoren: „Geschlecht“, „Prädationsrisiko“ (niedrig / hoch), „Phosphat“ (aufgrund der bimodalen Verteilung als niedrig / hoch eingestuft, Abb. 10) und Interaktionsterme. Kovariaten: "Salinität", "Nitrat" und "Wassertransparenz". Nicht signifikante Interaktionsterme wurden ausgeschlossen. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. Die Effektstärke wird nach Cohen (1988) grau hervorgehoben. Eigene Tabelle

Volumen	Kovariate / Faktor	d.f	<i>F</i>	<i>P</i>	Partiell η^2
Telenzephal Lappen	Salinität	1	20.241	< 0.001	0.095
	Nitrat	1	2.133	0.146	0.011
	Wassertransparenz	1	17.759	< 0.001	0.082
	Geschlecht	1	14.823	< 0.001	0.069
	Phosphat	1	21.963	< 0.001	0.099
	Prädationsrisiko	1	28.488	< 0.001	0.125
	Geschlecht*Phosphat	1	5.057	0.026	0.025
	Geschlecht*Prädationsrisiko	1	3.993	0.047	0.020
	Phosphat*Prädationsrisiko	1	26.349	< 0.001	0.116
	Geschlecht*Phosphat*Prädationsrisiko	1	8.658	0.004	0.041
Fehler		200			
Optisches Tektum	Salinität	1	15.227	< 0.001	0.071
	Nitrat	1	41.261	< 0.001	0.172
	Wassertransparenz	1	5.797	< 0.001	0.028
	Geschlecht	1	42.664	< 0.001	0.177
	Phosphat	1	27.946	< 0.001	0.124
	Prädationsrisiko	1	20.622	< 0.001	0.094
	Geschlecht*Phosphat	1	6.780	0.010	0.033
	Geschlecht*Prädationsrisiko	1	6.003	0.015	0.029
	Phosphat*Prädationsrisiko	1	24.502	< 0.001	0.110
	Geschlecht*Phosphat*Prädationsrisiko	1	5.204	0.024	0.026
Fehler		198			

Volumen	Kovariate / Faktor	d.f	F	P	Partiell η^2
Corpus cerebelli	Salinität	1	11.589	0.001	0.054
	Nitrat	1	3.628	0.058	0.018
	Wassertransparenz	1	3.287	0.071	0.016
	Geschlecht	1	23.296	< 0.001	0.103
	Phosphat	1	9.496	0.002	0.045
	Prädationsrisiko	1	4.293	0.040	0.021
	Phosphat* Prädationsrisiko	1	21.511	< 0.001	0.096
Fehler	203				
Hypothalamus	Salinität	1	10.685	0.001	0.051
	Nitrat	1	1.068	0.303	0.005
	Wassertransparenz	1	14.912	< 0.001	0.069
	Geschlecht	1	53.606	< 0.001	0.211
	Phosphat	1	21.586	< 0.001	0.097
	Prädationsrisiko	1	14.323	< 0.001	0.067
	Geschlecht*Phosphat	1	7.357	0.007	0.035
	Geschlecht*Prädationsrisiko	1	4.504	0.035	0.022
	Phosphat*Prädationsrisiko	1	31.089	< 0.001	0.135
	Geschlecht*Phosphat*Prädationsrisiko	1	8.811	0.003	0.042
Fehler	200				
Gesamthirn	Salinität	1	0.001	0.970	0.000
	Nitrat	1	3.051	0.082	0.015
	Wassertransparenz	1	0.008	0.928	0.000
	Geschlecht	1	16.978	< 0.001	0.077
	Phosphat	1	4.692	0.031	0.022
	Prädationsrisiko	1	1.834	0.177	0.009
	Fehler	204			
Riechkolben	Salinität	1	1.447	0.230	0.007
	Nitrat	1	0.188	0.665	0.001
	Wassertransparenz	1	4.835	0.029	0.024
	Geschlecht	1	8.226	0.005	0.040
	Phosphat	1	12.387	0.001	0.059
	Prädationsrisiko	1	6.256	0.013	0.031
	Error	196			

Tabelle 12: Ergebnisse einer univariaten Kovarianzanalyse (ANCOVA) zeigen Durchmesserunterschiede und / oder Geschlechtsdimorphismus von *P. vivipara*. Die abhängigen Variablen, wie Augengröße und Kopfgröße wurden größenkorrigiert mit Kovariate SL und Ig10 transformiert. Feste Faktoren waren Geschlecht, Prädationsrisiko (niedrig / hoch), Phosphatkonzentration (aufgrund der bimodalen Verteilung als niedrig / hoch eingestuft, Abb. 10) und Wechselwirkungsbedingungen. Kovariaten waren "Salzgehalt", "Nitrat" und "Wassertransparenz". Nicht signifikante Interaktionsterme wurden aus dem Modell ausgeschlossen. Signifikante *P*-Werte sind fett gedruckt. Die Effektstärke wird nach Cohen (1988) grau hervorgehoben. (Eigene Tabelle)

Durchmesser	Kovariate/Faktor	d.f.	<i>F</i>	<i>P</i>	Partiell η^2
Augengröße	Salinität	1	2.905	0.090	0.014
	Nitrat	1	1.810	0.180	0.009
	Chlorophyll-a	1	2.014	0.157	0.010
	Geschlecht	1	5.641	0.018	0.027
	Phosphat	1	2.191	0.140	0.011
	Prädationsrisiko	1	0.091	0.763	0.000
	Fehler		203		
Kopfgröße	Salinität	1	0.567	0.452	0.003
	Nitrat	1	54.764	< 0.001	0.215
	Chlorophyll-a	1	8.816	0.003	0.042
	Geschlecht	1	26.400	< 0.001	0.117
	Phosphat	1	14.051	< 0.001	0.066
	Prädationsrisiko	1	2.054	0.153	0.010
	Geschlecht*Phosphat	1	6.145	0.014	0.030
	Geschlecht*Prädationsrisiko	1	30.898	< 0.001	0.134
	Phosphat*Prädationsrisiko	1	11.274	0.001	0.053
	Geschlecht*Phosphat*Prädationsrisiko	1	26.459	< 0.001	0.117
Fehler		200			

3. Gesamt-Diskussion

In dieser Studie wurden Muster der Größenvariation in den einzelnen Hirnregionen bei *Poecilia*-Arten untersucht, welche in Lebensräumen mit unterschiedlichen abiotischen Bedingungen leben. Diese Studie sollte überprüfen, ob die Divergenz in der Gehirnmorphologie in freilebenden Fischen hauptsächlich durch die evolutionäre Diversifizierung (d. h. lokale Anpassung) verursacht wird oder das Ergebnis umweltbedingter phänotypischer Plastizität ist. Gestützt auf frühere Studien zu *P. mexicana* wurde für die Ökotypen ein starker Selektionsdruck vorhergesagt, der durch giftiges H₂S in EA und CA, limitierter Ressourcen in LA und Dunkelheit in CA und LA zu kleineren Gehirnen führt. Darüber hinaus könnte die vielleicht selektionsbedingte Verbesserung der nicht-visuellen Sinne mit einer Vergrößerung der jeweiligen Hirnregionen verbunden sein. Die erhobenen Daten von freilebenden Fischen unterstützen sowohl die Vorhersagen als auch die Hypothese zur Mosaikentwicklung. Die Ergebnisse des Laborversuchs lassen jedoch darauf schließen – auch im Vergleich zu früheren Untersuchungen an anderen Fischarten (z. B. Kotrschal, et al., 1998; Kotrschal, et al., 2012a; Kotrschal, et al., 2012b; Pollen, et al., 2007; Gonzalez-Voyer, et al., 2009; Gonzalez-Voyer, et al., 2010), dass diese Variation bei *P. mexicana*-Gehirnen das Resultat einer phänotypischen Plastizität ist und die oben genannten ökologischen Faktoren daher hauptsächlich die Entwicklung des Gehirns (bzw. einer Gehirnregion) während der Ontogenese beeinflussen. Mehrere abgeleitete Merkmale in *P. mexicana* aus diesem Studiensystem haben eine erblich bedingte Basis, darunter die vergrößerten Köpfe, veränderte Körperform und reduzierte Augengröße (Tobler, et al., 2008a) sowie erhöhter Nachwuchsgröße und der damit verbundenen reduzierten Fruchtbarkeit (Riesch, et al., 2009; Riesch, et al., 2010). Es stellt sich daher die Frage, was die Gründe für die phänotypische Plastizität des Gehirns (Hirnregionen) sind. Gonda, et al. (2013) postulierten, dass die Plastizität des Gehirns selbst ein Ziel der Selektion sein könnte. Während in Gonda, et al. (2012) gezeigt wurde, dass marine Populationen des Stichlings (*Pungitius pungitius*), welche an hohes Prädationsrisiko angepasst sind, größere Riechkolben – ungeachtet der Aufzuchtbedingungen – entwickelten (keine Prädation gegen Prädation), zeigten Teichpopulationen im Experiment eine ausgeprägte phänotypische Plastizität durch deutlich größere Riechkolben, wenn sie Prädatoren ausgesetzt waren. Diese habitatabhängige Plastizität wurde nicht in *P. mexicana* gefunden, denn bei den Laborpopulationen waren die Gehirne und Gehirnregionen insgesamt ähnlich groß. Theoretisch wäre die phänotypische Plastizität der Gehirngröße für *P. mexicana* vorteilhaft, wenn Fische noch erhebliche

Migrationsraten zwischen den verschiedenen Lebensräumen zeigen würden, um diese für den Bedarf der Fähigkeit und die Entwicklung des Gehirns (Größe) nach dem Vorhandensein oder Nichtvorhandensein der Stressoren Dunkelheit und toxischem H₂S anzupassen. Hierzu postulierten Plath, et al. (2007), dass die Migration zwischen den beiden Lebensräumen, die sich in Gegenwart mindestens eines abiotischen Stressors unterscheiden ("Licht" oder "H₂S") sehr gering ist. Auch wenn frühere Studien eine gewisse Menge der Gehirngrößen Plastizität zeigten, wurde argumentiert, dass die Gehirngröße hauptsächlich genetisch bestimmt sein sollte, da sie von herausragender funktioneller Bedeutung ist und Gehirngewebe ein energetisch teures Gewebe darstellt (Gonda, et al., 2013). Lokal angepasste *P. mexicana* durchlaufen in diesem Studiensystem eine beginnende Artbildung und befinden sich im frühen Stadium entlang des Artbildungskontinuums zwischen Panmixis und vollständiger reproduktiver Isolierung (Pollen, et al., 2007; Plath, et al., 2013; Tobler, et al., 2008a; Tobler, et al., 2009a; Plath & Tobler, 2010). So sind zwar andere Merkmale in *P. mexicana* schon genetisch bedingt fixiert, aber die Unterschiede in der Gehirngröße in freilebenden Populationen könnten erst zu einem späteren Zeitpunkt im Stadium des Artbildungsprozesses genetisch verankert werden. Insgesamt wurde auch in früheren Studien über eine verringerte Gehirngröße von im Labor gezüchteten Fischen an anderen Fischarten berichtet. F1-Generationen von im Labor aufgezogenen Stichlingen (*Pungitius pungitius*) haben bspw. zwischen 2 % (Optisches Tektum) und 67 % (Cerebellum) kleinere Hirnregionen als freilebende Fische (Gonda, et al., 2011). F1-Generationen von im Labor gezüchteten Guppies (*P. reticulata*) zeigten hingegen kleinere Telenzephal (19 %) und optische Tekta (17 %; vgl. Burns, et al., 2009). Die Gründe für insgesamt kleinere Gehirne in Labor gezüchteten Fischen, wie sie in *P. mexicana* zu sehen sind, sind noch unklar. Mehrere Autoren argumentierten, dass die reduzierte Gehirngröße von im Labor gezüchteten Fischen das Resultat der geringeren strukturellen Komplexität der Umwelt im Labor im Vergleich zu natürlichen Umgebungen sein könnten (z. B. für *Oncorhynchus mykiss*: Kihslinger & Nevitt, 2006; Gonda, et al., 2011). Studien, in denen diese Annahme getestet wurde, ergaben keine eindeutigen Ergebnisse und es gab keine Korrelation für Komplexität der Laborumgebung und Fischhirngröße (für *O. tschawytscha*: Kihslinger & Nevitt, 2006; für *P. reticulata*: Burns, et al., 2009). Da Fische ein lebenslanges Wachstum aufweisen, ist es möglich, davon auszugehen, dass das Wachstum der Augen und des optischen Tektums in einer konzertierten Weise auftreten, um die korrekte sensorische physiologische Funktion sicherzustellen (Zupanc, 2001; Cervený, et al., 2012). Aus diesem Grund ist die Feststellung, dass Unterschiede in der Augengröße vererbbar sind,

wenn keine Unterschiede im optischen Tektum vorhanden sind, rätselhaft. Studien zu Höhlen- und Oberflächenformen von *Astyanax mexicanus* (Soares, et al., 2004) oder *Medaka*-Mutanten (*Oryzias latipes*) (Ishikawa, et al., 1999; Ishikawa, et al., 2001) zeigen, dass sich der visuelle Input (d. h. die Lichtmenge) positiv auf Wachstum und / oder Aufrechterhaltung des Tektums auswirkt. Dies zeigten auch Körner, et al. (2006) bei Höhlenbewohnenden *P. mexicana*, welche verringerte Augengrößen aber funktionsfähige Augen aufwiesen (Körner, et al., 2006). Es ist daher zu spekulieren, dass *P. mexicana* aus der Laboraufzucht einen ähnlich großen optischen Tektum entwickelt, da in Oberflächen- und Höhlenformen funktionale Augen vorhanden sind, die im Laborversuch die gleiche Menge an visuellen Informationen erkennen. Kleinere optische Tektum in freilebenden Oberflächenfischen aus schwefelhaltigen (trüben) Gewässern und insbesondere in freilebenden Höhlenfischen können wiederum eine Reaktion auf reduzierte Lichtmengen oder die vollständige Dunkelheit sein. Der visuelle Beitrag ist jedoch nur ein Faktor, der möglicherweise die Größe des optischen Tektums beeinflusst, da auch Studien zum Vergleich verschiedener sozialer Umgebungen (isolierte versus gruppenaufgezogene) Unterschiede in der Größe des optischen Tektums aufzeigen (Gonda, et al., 2009a). Da das Gehirn ein metabolisch teures Organ ist (Isler & van Schaik, 2006; Kotrschal, et al., 2013), könnte die Verringerung des optischen Tektums und der Gesamtgröße des Gehirns in freilebenden Höhlenfischen und Fischen aus sulfidischen Lebensräumen auch eine plastische Reaktion auf den Energieverbrauch, die Entgiftung von H₂S (CA) und die niedrige Energieverfügbarkeit (LA; Tobler, 2008) sein. Kleinere Gehirne könnten dazu beitragen, den Energieverbrauch in energiebegrenzten sulfidischen Lebensräumen und Höhlenlebensräumen zu senken, von denen bei *P. mexicana* bekannt ist, dass sie dort eine schlechtere körperliche Verfassung aufweisen (Tobler, et al., 2006; Riesch, et al., 2010; Riesch, et al., 2011). Darüber hinaus üben wahrscheinlich sowohl die Toxizität als auch die Nahrungsknappheit einen erheblichen Stress auf die in CA, EA und LA lebenden Fische aus, der auch die Gehirnentwicklung beeinflussen kann. Übereinstimmend wurde auch bei *O. tshawytscha* (Kihlslinger & Nevitt, 2006) gezeigt, dass Stress aufgrund hoher Populationsdichte oder Hypoxie zu einem verminderten Gehirnwachstum, bei *Hemichromis bimaculatus* (Burgess & Coss, 1981) zu einem verminderten dendritischen Wachstum des optischen Tektums oder zu kleineren Gehirnen bei Mormyriden (Chapman & Hulen, 2001) führt. Bei Ratten und Singvögeln führt die Nahrungsbeschränkung während der ontogenetischen Entwicklung zu einer Verringerung des Nervenwachstums und einer Verringerung der Größe der Gehirnerne (Buchanan, et al., 2004; Mirescu, et al., 2004).

Insgesamt verringerte sich die Größe des optischen Tektums und die gesamte Gehirngröße in Fischen aus EA, CA und LA, welche sich aus einer Kombination von weniger visuellen Informationen, die das Wachstum und / oder die Aufrechterhaltung des Tektums beeinflussen ergeben könnte, sowie durch energetische Einschränkungen, die durch die H₂S-Entgiftung und erhöhtem Stress in Form von Toxizität und Nahrungsbeschränkung entstehen. In diesem Teil der Studie zeigten *P. Mexicana* Männchen vergrößerte optische Tekta, Corpus cerebelli und Gesamthirnvolumina. Größere Hirne bei Männchen wurden auch für die Stichlinge gezeigt (Kotrschal, et al., 2012a) und durch eine höhere kognitive Anforderung aufgrund von Partnerattraktion und männlicher Brutpflege erklärt. In *P. mexicana* weisen weder Männchen noch Weibchen eine Brutpflege nach der Geburt auf, sondern zeigen andere Verhaltensunterschiede und unterschiedliche zeitliche Zuordnungen zwischen Männchen und Weibchen, die für die Gewinnung von Partnern, die Aggressivität oder das Futtersuchverhalten identifiziert wurden (Parzefall, 2001; Plath & Tobler, 2010; Köhler, et al., 2011; Bierbach, et al., 2012), welche diese geschlechtsabhängigen Unterschiede in der Gehirngröße erklären können. Kotrschal, et al. (2012b) haben neben intrinsischen Geschlechtsunterschieden auch gezeigt, dass die Variation der Gehirngröße eine geschlechtsspezifische plastische Komponente hat. Z. B. besaßen die Männchen bei Guppies, die in gleichgeschlechtlichen Gruppen aufgezogen wurden, ein kleineres Gehirn und die Weibchen ein größeres optisches Tekta als das jeweilige Geschlecht in gemischtgeschlechtlichen Gruppen. Die erste Studie ergab, dass der Umweltfaktor H₂S zu morphologisch unterschiedlichen Gehirntypen führte, was darauf hinweist, dass Gehirne in Reaktion auf die jeweiligen Umweltbedingungen plastisch sind. Eifert, et al. (2014) sagten ein hohes Maß an phänotypischer Plastizität in Bezug auf Größe und Form des Gehirns bei freilebenden Populationen sowie bei im Labor aufgezogenen *P. mexicana* voraus. Von Kotrschal, et al. (2013) wurden für die Untersuchung der großen und kleinen Gehirngröße im Verhältnis zur Körpergröße Guppies (*Poecilia reticulata*) selektiv gezüchtet. Dabei stellten sie fest, dass sich die Gehirngröße als Reaktion auf divergierende Selektion schnell entwickelte.

Wenn auch unregelmäßig, wurden in den telenzephalen Lappen, im optischen Tektum und im Gesamthirnvolumen geschlechtsspezifische Unterschiede für *P. mexicana* in der ersten Studie (Eifert, et al., 2014) gefunden, jedoch nicht für Hypothalamus und Corpus cerebelli. Verhaltens- und hormonelle Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen

P. mexicana (Parzefall, 2001; Plath & Tobler, 2010) erklären diese geschlechtsabhängigen Unterschiede in der Gehirnmorphologie (Kotrschal, et al., 2012a; Kotrschal, et al., 2012b). Kleine Molly-Männchen, die in Habitaten nahe an der Oberfläche leben, sind laut Plath, et al. (2004) in der Regel sexuell aktiver als große. Zudem korreliert die Körpergröße des Männchens signifikant positiv mit der Häufigkeit sexuellen Verhaltens (Plath, et al., 2004). Während die meisten Studien zur vergleichenden Anatomie Unterschiede zwischen Arten untersuchen, lieferte die erste sowie die zweite Studie einen Vergleich der Populationen von Poeciliiden und zeigte auf, dass sie genetisch zu homogen sind, um die Vielfalt der sehr unterschiedlichen Gehirnmorphologien zu erklären. In Eifert, et al. (2014) zeigte sich, dass die Vererbbarkeit für jeden Hirnbereich zu gering ist und nur die Augengröße signifikant vererbbar war. Ein Trend war jedoch erkennbar. Plath, et al. (2013) untersuchte die Mechanismen der reproduktiven Isolierung in den drei Flusssystemen bei Poeciliiden Fischen, welche in sulfidischen und nicht-sulfidischen Habitaten leben. Sie stellten die Frage, ob sich die reproduktive Isolierung auch konvergierend entwickelt hat, weil Fische aus sulfidischen Habitaten konvergierende Phänotypen entwickelt haben. Durch die Anwendung von Mikrosatelliten fanden sie einen stark verringerten Genfluss zwischen benachbarten Populationen verschiedener Ökotypen. Dies deutet darauf hin, dass die lokale Anpassung an sulfidische Lebensräume erneut die Entstehung einer reproduktiven Isolierung zur Folge hatte (Plath, et al., 2013).

3.1 Gibt es konvergente Anpassungen in der Gehirnmorphologie bei verschiedenen nahe verwandten Arten?

In allen drei Flusssystemen (Kap. 2.2.3) besteht eine genetische Differenzierung zwischen beiden Ökotypen (Schulz-Mirbach, et al., 2016). Es gibt Ökotypen (sulfidisch vs. nicht-sulfidisch), die im Río Pichucalco noch stärker und im Río Puyacatengo am schwächsten sind. Im Tacotalpa- und Pichucalco-System und im Río Puyacatengo wurde eine vollständige reproduktive Isolierung zwischen den lokal angepassten *P. mexicana*-Populationen beobachtet. Es gab jedoch einen bidirektionalen Genfluss zwischen den verschiedenen Lebensräumen (Dipl. Arbeit: Slattery, 2012). Bei *P. mexicana* (Tac-S und Puy-S) und *P. sulphuraria* (Pich-S) aus sulfidischen Lebensräumen wurden starke Hinweise auf eine konvergente Anpassung der plastischen Hirnmorphologie für optische Tekta und Corpus cerebelli verifiziert. Kocher, et al. (1993) postulierten zum Beispiel hochgradig abgeleitete

Morphologien bei Arten von Buntbarschen in den Seen Ostafrikas. Sie legen nahe, dass die Ähnlichkeiten dieser Cichliden aus einer alten Abstammungslinie stammen, die die wichtige Implikation für das Verständnis des Musters der morphologischen und auch der Verhaltensentwicklung bei Cichliden zeigt. Die erste Studie sowie eine weitere Studie von Burns, et al. (2009) zeigen bei *P. mexicana* einen hohen Grad an phänotypischer Plastizität in der Gehirnmorphologie. Aufgrund dieser Tatsache ist die Plastizität des Gehirns ein guter Indikator für die Wirkung des Selektionsfaktors H_2S in freilebenden Populationen. Vorausgesagt wurde, dass H_2S und die korrelierte Hypoxie zu einer Verringerung der Gehirngröße führt (Chapman & Hulen, 2001; Crispo & Chapman, 2010), was mit der Theorie der metabolischen Erhaltungskosten von Gehirngewebe übereinstimmt (Isler & van Schaik, 2006). Die Ergebnisse zeigen, dass bei Fischen aus sulfidischen Lebensräumen kein reduziertes Gesamtgehirnvolumen gefunden wurde. Tobler, et al. (2011) zeigten, dass Kopf- und Kiemengröße in sulfidischen Lebensräumen zunehmen. Vergrößerte Köpfe und damit verbundene vergrößerte Kiemen verbessern, aufgrund der erhöhten Oberflächenbeschaffenheit der Kiemenfilamente, die Sauerstoffaufnahme in einem sauerstoffarmen Lebensraum. Mollies aus schwefelhaltigen Habitaten (Tac-S, Puy-S) hatten vergrößerte telencephale Lappen (mit Ausnahme der endemischen Spezies *P. sulphuraria*; Pich-S), was durch den chemischen Eintrag in den Riechnerv und den Riechkolben erklärt werden konnte, die die telencephalen Lappen kreuzen. Die erste Studie (Eifert, et al., 2014) zeigt, dass Riechkolben in H_2S -adaptierten *P. mexicana* etwas vergrößert sind. Der zweite Teil dieser Studie zeigte reduzierte optische Tekta, die auf eine energiesparende Nutzung in ressourcenbeschränkten sulfidischen Lebensräumen hindeuten (Schulz-Mirbach, et al., 2016). Aufgrund der Trübung des Wassers tritt der visuelle Sinn in den Hintergrund, was mit einer Reduzierung anderer visueller Bereiche einhergeht. Die Augengröße war bei *P. mexicana* und *P. sulphuraria* reduziert. Eine reduzierte Augengröße in *P. mexicana* wurde auch von Tobler, et al. (2011) postuliert, was mit der reduzierten Opsin-Genexpression übereinstimmt. In Eifert, et al. (2014) zeigten sich bereits Hinweise darauf, dass bei Schwweifischen (*P. mexicana*) reduzierte optische Tekta und Augen vorhanden sind, was durch die hier vorgestellten Ergebnisse erneut bestätigt werden kann. Schwweifische hatten einen vergrößerten Corpus cerebelli, von dem vorhergesagt wurde, dass er bei Fischen aus schwefelhaltigen Habitaten (Tac-S, Puy-S, Pich-S) zunimmt.

Das Kleinhirn verarbeitet hauptsächlich Informationen aus allen Gehirnbereichen und ist für die motorische Koordination und die Augenbewegung verantwortlich. Der zweite Teil dieser Studie zeigte vergrößerte Corpus cerebelli in Fischen aus sulfidischen Habitaten, aber auch in Höhlenfischen des Cueva del Azufre-Systems im Rio Tacotalpa (siehe Studie 1). Schwimmverhalten und -wahrnehmung müssen an jeden Lebensraum angepasst werden, was bedeutet, dass Fische aus sulfidischen Lebensräumen schneller auf äußere Einflüsse reagieren, weil Raubtiere aufgrund der Trübung von Weitem nicht erkennbar sind und dadurch die Überlebenswahrscheinlichkeit in extreme Lebensräume steigt. Auch die Nahrungssuche könnte teurer sein und erfordert somit (mit olfaktorischer und lateraler Seitenlinienanpassung) ein erweitertes Schwimmverhalten (könnte evtl. durch mehr Muskeln ausgeglichen werden), da die Nahrung nicht sofort erkennbar oder wahrnehmbar ist und die Vorteile einer erhöhten Gehirngröße die damit verbundenen Kosten überwiegen müssen (Aiello & Wheele, 1995; Atwell & Laughlin, 2001; Kotrschal, et al., 2013). Auch eine Studie von van Staaden, et al. (1995), in dem sie die Hirnmorphologie von Cichliden Arten aus den ostafrikanischen Seen und Madagaskar analysierten, zeigt ähnliche Unterschiede in der Form der Hirnstrukturen (Sehen, Riechverhalten und die laterale Seitenlinie); die größten Unterschiede wurden für das Telenzephalon beobachtet. Eine kürzlich durchgeführte Studie (Kihslinger & Nevitt, 2006) zeigte, dass bei Lachsen (*Oncorhynchus mykiss*) die Verlagerung zu einer größeren Kleinhirngröße wiederum mit Veränderungen des Bewegungsverhaltens einherging, indem die Habitat-Heterogenität geändert wurde. Hierbei wurden nur wenige Steine in das Aquarium eingebracht. Das Bewegungsverhalten ist stark mit der Funktion des Kleinhirns korreliert. Weitere Studien an Goldfischen (*Carassius auratus*: Durán, et al., 2004; Rodríguez, et al., 2005) zeigte, dass das Schwimmverhalten / die Schwimmbewegungen nach der Kleinhirnläsion eingeschränkt sind und es für den Fisch praktisch unmöglich ist zu schwimmen. Die Ergebnisse (räumliches Erkennen) von Durán, et al. (2004) & Rodríguez, et al. (2005) haben ebenfalls gezeigt, dass die Ablation des Kleinhirns bei Goldfischen eine kritische Komponente der Schaltkreise beeinflusst, die für die Erfassung der konditionierten Reaktion erforderlich sind, jedoch die Fähigkeit des Tieres – die Reaktion selbst auszuführen – nicht beeinträchtigt (129; 130). Das Kleinhirn spielt eine wichtige Rolle bei der Steuerung und Koordination von Bewegungen. Bewegungen entstehen, weil Tiere sich bewegende Objekte verfolgen müssen. Das erhöhte Volumen von Corpus cerebelli in Fischen aus sulfidischen Habitaten könnte auch durch den erhöhten Informationsfluss des Seitenlinienorgans erklärt werden (Butler & Hodos, 2005). Bei Knochenfischen wurde mehrmals über elektrische Reaktionen des Kleinhirns

durch Input von visuellen, olfaktorischen, lateralen und auditorischen Systemen berichtet (Butler & Hodos, 2005).

3.2 Wiederholte ("konvergente") anatomische Veränderungen des Gehirns bei *Poecilia vivipara*

In Kap. 2.3 wurde untersucht, ob wiederholte ("konvergente") anatomische Veränderungen des Gehirns auch bei *P. vivipara*-Populationen auftreten, die sich an abiotische und biotische Faktoren, wie dem Salzgehalt im Wasser (von Konzentrationen von weniger als 1 ‰ bis über 35 ‰), Nitratgehalt, Phosphat, Wassertransparenz (basierend auf Chlorophyll-a-Konzentrationen) und Prädationsrisiko (niedrig / hoch; Tabelle 8) angepasst haben. Die Plastizität des Gehirns bezieht sich – wie ausführlich erläutert – auf die Fähigkeit, Struktur und Funktionen zu ändern, die durch Erfahrungen ausgelöst wurden. Die Erfahrungen stellen einen wesentlichen Stimulanzfaktor für die Plastizität des Gehirns dar (Veränderung der Habitat-Heterogenität beeinflusst die Gehirngröße von im Labor aufgezogenen Guppies: Burns & Rodd, 2008; Burns, et al., 2009; beeinflusst die Gehirngröße bei Stichlingen nicht: Toli, et al., 2017). Die erste und zweite Studie wies darauf hin, dass Unterschiede in der Gehirngröße bei freilebenden *P. mexicana* (Eifert, et al., 2014), aber auch bei Stichlingen und Guppies (Gonda, et al., 2011; Gonda, et al., 2012) durch Plastizität in der Umwelt verursacht werden. Hofmann, et al. (2003), Gonda, et al. (2009a, b) & Kotrschal, et al. (2012b) postulierten, dass das Gehirn ein hochplastisches Organ ist, das sich schnell an die Umgebung anpassen kann (4; 63; 5). Pollen, et al. (2007) haben an ostafrikanischen Cichliden dokumentiert, dass die Komplexität der Umwelt und auch die soziale Organisation das Gehirn unterschiedlich formen, wobei Umweltfaktoren einen stärkeren Einfluss auf eine Reihe von Gehirnbereichen haben. Darüber hinaus berichtete Northcutt (2002), dass die Größen von Gehirn und Körper hoch geordnet sind, wobei „die Gehirngröße mit der Körpergröße zunimmt“. Studien zur Körperform erlauben es, Anpassungsprozesse zu analysieren, da die Körperform die Fortbewegungseffizienz und folglich die Ernährung und Ausweichmanöver beeinflussen (Neves & Monteiro, 2003). Auffällig war, dass der in der Regel im Brackwasser lebende Fisch *P. vivipara* in Salzwasserlagunen mit Salzkonzentrationen über 35 ‰ vermehrt auftrat. Populationen in den Brackwasserlagunen (38,45 mm; Carapebus, Preta, Garcas, Piripiri) waren größer als Fische in Salzwasserlagunen (31,97 mm³; Catingosa, Pitanga, Maria Menina). Die kleinsten Fische stammen aus Frischwasserlagunen (27,25 mm; Cabiunas und

Encantada). Kleinere Körpergrößen in Süßwasser als in Salzwasser stimmen mit anderen Studien überein (Trexler & Travis, 1990), da der Salzgehalt auch für die Erhöhung der Wachstumshormonkonzentrationen (Deane & Woo, 2009) und die Effizienz des Stoffwechsels verantwortlich ist (Haney & Walsh, 2003). Ein weiterer Erklärungsansatz könnte darin bestehen, dass in Salzwasserlagunen keine Prädatoren (Fische) vorhanden waren (Araújo, et al., 2014), was wiederum ein weitaus geringeres oder gar kein Prädationsrisiko, aber eine höhere Populationsdichte bedeutet. Trexler & Travis (1990) dokumentierten in einem Freilandversuch, dass *P. latipinna*-Populationen im Salzwasser signifikant schneller wuchsen und größere Körpergrößen erreichten als ihre Artgenossen im Süßwasser. Araújo, et al. (2014) stellten eine direkte Assoziation der mittleren Körpergröße mit einem Salzgehaltsgradienten fest, und auch andere Adult-Größen wie Fruchtbarkeit und Nachkommensgröße korrelieren. Unter den Populationen stellten Araújo, et al. (2014) eine erhebliche Variation der Körpergröße und korrelierte Formänderungen fest. Dies legt nahe, dass die Größe die wichtigste Dimension darstellt, die der Variation der Form unter den Populationen von *P. vivipara* in diesem System zugrunde liegt. Araújo, et al. (2014) weisen auf einen Kompromiss bei Körpergrößenschwankungen zwischen Salzgehalt und Prädationsrisiko hin, obwohl Trexler (1989) auch Einflüsse auf den Stoffwechsel in Betracht zieht (146). Der Mechanismus, der nicht-selektive Größenschwankungen verursacht, ist jedoch nicht klar (Araújo, et al., 2014).

Es ist ein nützlicher Ansatz, den Salzgehalt des Wassers als relevanten Faktor für die Plastizität des Gehirns zu beobachten, da davon ausgegangen wird, dass der Salzgehalt die Artenverteilung sowie Komponenten der Fitness und Fitnessmerkmale, wie Verhalten, Wachstumsrate oder auch Lebenszyklusmerkmale beeinflusst (Torres-Dowdall, et al., 2013). Die Ergebnisse zeigen, dass verschiedene Umweltfaktoren die Variationen der Gehirnregionen in *P. vivipara* beeinflussen können, was eine signifikante plastische Reaktion auf physiochemische Variationen in seiner Umgebung zeigt. Die Größendivergenz für das gesamte Gehirn (Riechkolben, telenzepale Lappen, optisches Tektum, Corpus cerebelli und Hypothalamus) und für die gesamte Gehirngröße konnte entlang eines Salzgehaltsgradienten beobachtet werden und zeigte enthaltene Geschlechtsunterschiede. Insgesamt hatten Weibchen aus allen Lagunen ein kleineres Gehirn als Männchen. Telenzepale Lappen empfangen olfaktorische und geschmackliche Informationen (Bshary, et al., 2014) und sie sind an der assoziativen Verarbeitung von Signalen aus sich ändernden Umgebungen

beteiligt. Die Ergebnisse zeigten, dass die telencephalen Lappen negativ mit den Habitatmessungen korreliert sind, aber positiv mit dem Prädationsrisiko. Daher ist zu schlussfolgern, dass die Vergrößerung einen kognitiven Vorteil mit sich bringt, der auch die Leistung im Zusammenhang mit Raubtieren bei hohem Prädationsrisiko verbessert (Kotrschal, et al., 2017). Die Abnahme des Volumens der telencephalen Lappen entlang der Brackwasserlagunen könnte von den Salzkonzentrationen abhängen, die die Wassertrübung erhöhen. Pollen, et al. (2007) erwähnte, dass dieser Hirnbereich mit sozialen Faktoren korreliert (70). Die Kombination eines abiotischen Stressors und der Populationsdichte könnte eine Erklärung liefern. Die höchste Populationsdichte wiesen die Salzwasserlagunen mit Salzkonzentrationen über 35 ‰ auf. Populationen von Brackwasserlagunen zeigen im Gegensatz dazu eine Vergrößerung der telencephalen Lappen, möglicherweise zur Verbesserung der nicht-visuellen Sinne. Pollen, et al. (2007) bestätigten (mit der Annahme, dass diese Populationen eine Verarbeitung sensorischer Informationen und kognitiver Fähigkeiten für Navigation, Paarung und Lernen höherer Ordnung benötigen), dass die Größe des Telencephalons positiv mit stark strukturierten Lebensräumen korreliert (70). Der Riechkolben spielt wieder eine Rolle bei der Wahrnehmung von Gerüchen (chemische Reize nachweisen: z. B. pelagische Haie: Lisney & Collin, 2006) und hat in Organismen scheinbar vergrößerte Größen. Variationen dieser Hirnregion werden im Allgemeinen durch Lichteinfall (Höhle, in der *P. mexicana* lebt: Eifert, et al., 2014) sowie durch den Nahrungstyp (ostafrikanische Cichliden: Huber, et al., 1997) bestimmt. Pollen, et al. (2007) fanden zudem heraus, dass Medulla und Riechkolben negativ mit den Habitatmessungen korrelieren. Das Kleinhirn ist für die motorische Koordination und Körperorientierung verantwortlich (Broglia, et al., 2003; Butler & Hodos, 2005; Kotrschal, et al., 1998). Es könnte daher in trüben Gewässern eine wichtige Rolle spielen, um Bewegungen zu koordinieren und Raubtieren durch Mechanosenstation vorzubeugen (Riesch, et al., 2010; Tobler, 2009). Meine Erwartungen hierzu wurden bestätigt, da das Corpus cerebelli-Volumen positiv mit den Habitatmessungen (Kovariaten und Wassertrübung) korreliert. Darüber hinaus korrelierte die Gesamthirn- und Kleinhirngröße sogar positiv mit der Artenzahl und der individuellen Anzahl (Pollen, et al., 2007), was wiederum mit der Komplexität des Lebensraums korreliert. Die vergrößerten Corpus cerebelli-Größen könnten auf diesen Zusammenhang zurückzuführen sein.

Für Populationen die aus Salzwasserlagunen mit geringer Wassertransparenz und hohem Prädationsrisiko stammen, lauteten die Vorhersagen, dass das optische Tektum und die Augen reduziert werden sollten, da eine zunehmende Salzkonzentration die Wassertrübung beeinflussen (Habitatstruktur: Hollanda-Carvalho, et al., 2003; physikalisch-chemische Eigenschaften von Wasser: Gomes Jr. & Monteiro, 2008; Nitrifikation: Santoro & Enrich-Prast, 2009). Das optische Tektum zeigt zugegebenermaßen signifikante Unterschiede in der Volumengröße entlang der Brackwasserlagunen (Carapebus, Garcas, Preta, Piripiri), wobei die Analyse dieser Bereiche ergab, dass das optische Tektum die größere sensorische Gehirnstruktur im Vergleich zum Riechkolbenvolumen darstellt und einen Hinweis auf die sensorische Orientierung gibt. Die Erwartungen wurden bestätigt, da die Größe des optischen Tektums und der Augen entlang der Standorte abnimmt. Das optische Tektum als visuelles Zentrum und die Augen sind wichtig für die sensomotorische Integration und werden in Fischen aus Salzwasserlagunen reduziert, wenn man bedenkt, dass eine Erhöhung des Salzgehalts die Wassertrübung erhöht. Die Vorhersage lautete, dass in Populationen aus Salzwasserlagunen mit geringer Wassertransparenz ein größerer Hypothalamus vorliegen sollte, da der Salzgehalt auch für die Erhöhung der Wachstumshormonkonzentrationen (Deane & Woo, 2009) und die Effizienz des Stoffwechsels verantwortlich ist (Haney & Walsh, 2003). Ein vergrößerter Hypothalamus ist ein Kontrollzentrum für vegetative Funktionen wie Homöostase, Nahrungssuche, Verteidigung und sexuelles Verhalten. Es konnten aber keine Hinweise auf eine Volumenänderung gefunden werden. Aus diesem Grund ist davon auszugehen, dass die Größenunterschiede auf sexuellen Dimorphismus zurückzuführen sind. Pollen, et al. (2007) dokumentierten, dass der Hypothalamus vergrößert erscheint, wenn sich die Männchen der Art polygam paaren und *Poecilia* keine Brutpflege leistet. Aufgrund der energetischen Konsequenzen, welche durch den Salzgehalt als Treiber für die phänotypische Vielfalt und Reduzierung der Gesamtkörpergröße entstehen sowie der Senkung der Energiekosten bei der Osmoregulation (Boeuf & Payan, 2001) lautete die Vorhersage für Fische aus Salzwasserlagunen mit geringer Wassertransparenz, dass kleinere Gehirne und größere Köpfe (*Limia*: Weaver, et al., 2016) entwickelt werden könnten. Aufgrund der Tatsache, dass Fische aus Salzwasserlagunen wesentlich kleiner sind, könnten die Ergebnisse einer kleineren Gehirngröße diesen Zusammenhang herstellen.

Männchen zeigten in allen Hirnregionen konstant deutlich größere Volumen; gesamte Hirngröße wie auch Augen- und Kopfgröße. Identische Ergebnisse wurden in anderen Studien

bei Stichlingen (Kotrschal, et al., 2012a) und *P. mexicana* (Eifert, et al., 2014) berichtet und dem sexuellen Dimorphismus zugeschrieben. Kotrschal, et al. (2012a) verwiesen die Entdeckung größerer Gehirngrößen bei Männchen einerseits auf allgemein unterschiedliche Selektionsdrücke, die auf die Geschlechter einwirken und andererseits auf die Forderung nach größeren kognitiven Fähigkeiten für die Anziehung von Partnern und die Versorgung uniparenter Brut.

Zusammenfassend hat diese Studie gezeigt, dass die Veränderung von Umweltparametern bemerkenswerte Veränderungen der Gehirn- und Körpermorphologie bei *P. vivipara*-Populationen zur Folge hat. Salzgehalt, Wassertransparenz (hoher / niedriger Chlorophyll-a), Phosphatgehalt, Prädationsrisiko innervieren komplexe Wechselwirkungen und müssen für weitere Studien berücksichtigt werden, um verlässliche Aussagen über morphologische Veränderungen in Hirnarealen von freilebenden Tieren treffen zu können.

4. Schlussfolgerung und Erkenntnisgewinn

Abschließend ist mir bewusst, dass das Studiendesign aller drei Studien nur empfindlich auf Unterschiede in der Morphologie des äußeren Gehirns reagiert (ähnlich wie Studien an Cichliden (Pollen, et al., 2007) und Guppies (Kotrschal, et al., 2012a; Kotrschal, et al., 2012b)). Die feineren Unterschiede in der Gehirnmorphologie und -struktur sind möglicherweise unbemerkt geblieben.

Die freilebende Fische von *P. mexicana*, *P. sulphuraria*, *P. petenensis*, *P. vivipara* zeigten ausgeprägte Unterschiede im Volumen der Hirnregionen. Dies scheint zu den Rahmenbedingungen der Mosaik-Evolution zu passen. Die Analyse von Laborpopulationen (*P. mexicana*) jedoch ergab zur Vererbbarkeit im breiteren Sinne einen hohen Grad an phänotypischer Plastizität. Meine Studien zu verschiedenen Ökotypen von Poeciliiden

- a) unterstreichen die Notwendigkeit intraspezifischer Studien zur Gehirnentwicklung, zur Untersuchung der Variabilität des Gehirns in freilebenden Fischen und vergleicht die Ergebnisse mit denen von im Labor gezüchteten Individuen, um Schätzungen der Erbllichkeit für vermutete evolutionäre Veränderungen zu erhalten.
- b) liefern zusätzliche Einblicke in die Auswirkungen des Faktors „Licht“ und den ökologischen Faktoren (H_2S , Salinität, Wassertransparenz, Phosphat, Nitrat, Prädation) für die ontogenetische Entwicklung von Gehirngröße und -architektur in Poeciliiden. Sie zeigt bemerkenswerte mosaikartige Verschiebungen auf, die für zukünftige Studien berücksichtigt werden sollten.

4. Referenzen

- Aiello, L. C. & Wheele, P., 1995. The expensive tissue hypothesis - the brain and digestive system in human and primate evolution. *Current Anthropology*, (36), 199-221.
- Araújo, M. S., Perez, S. I., Magazoni, M. J. C. & Petry, A. C., 2014. Body size and allometric shape variation in the molly *Poecilia vivipara* along a gradient of salinity and predation. *BMC Evolutionary Biology*, (14), 251.
- Arnold, W., Eysenck, H. J. & Meili, R., 1996. Lexikon der Psychologie. p. 2519.
- Atarhouch, T.; Rüber, L.; Gonzalez, E.; Albert, E.; Rami, M.; Dakkak, A.; Zardoya R. (2006). Signature of an early genetic bottleneck in a population of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*). In *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 39 (2), 373–383.
- Atwell, D. & Laughlin, S. B., 2001. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, (21), 1133-1145.
- Bagarinao, T., 1992. Sulfide as an environmental factor and toxicant: tolerance and adaptations in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, (24), 1-2; 21-62.
- Bagarinao, T. & Lantin-Olaguer, I., 1999. The sulfide tolerance of milkfish and tilapia in relation to fish kolls in farms and natural waters in the Philippines. *Hydrobiologica*, (382), 137-150.
- Bagarinao, T. & Vetter, R. D., 1990. Oxidative detoxification of sulfide by mitochondria of the California killifish *Fundulus parvipinnis* and the speckled sanddab *Citharichthys sitgmaeus*. *Journal of Comparative Physiology B*, 160(5), 519-527.
- Bartko, J. J., 1966. The intraclass correlation coefficient as a measure of reliability. *Physiology Report*, (19), 3-11.
- Barton, R. A. & Harvey, P. H., 2000. Mosaic evolution of brain structure in mammals. *Nature*, (405), 1055-1058.
- Bass, A. H. & Grober, M. S., 2001. Social and neural modulation of sexual plasticity in teleost fish. *Brain Behavior and Evolution*, (57), 293-300.

Bierbach, D., Klein, M., Sassmannshausen, V., Schlupp, I., Riesch, R., Parzefall, J. & Plath, M. (2012). Divergent evolution of male aggressive behaviour: another reproductive isolation barrier in extremophile poeciliid fishes? *International Journal of Evolutionary Biology*. 1–14.

Boeuf, G. & Payan, P. 2001. How should salinity influence fish growth? *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. **130(4)**, 411-423.

Broglio, C., Rodriguez, F. & Salas, C., 2003. Spatial cognition and its neural basis in teleost fishes. *Fish and Fisheries*, **(4)**, 247-255.

Bshary, R., Gingsins, S. & Vail, A. L., 2014. Social cognition in fishes. *Trends Cognitive Science*, **(18)**, 465-471.

Buchanan, K.L., Leitner, S., Spencer, K.A., Goldsmith, A.R. & Catchpole, C.K. 2004. Developmental stress selectively affects the song control nucleus HVC in the zebra finch. *Proceedings of the Royal Society B*. **271**, 2381–2386.

Burgess, J. W. & Coss, R. G., 1981. Short-term juvenile crowding arrests the developmental formation of dendritic spines on tectal interneurons in jewel fish. *Developmental Psychobiology*, **(14)**, 389-396.

Burns, J. G. & Rodd, F. H., 2008. Hastiness, brain size and predation regime affect the performance of wild guppies in a spatial memory task. *Animal Behavior*, **(76)**, 911-922.

Burns, J. G., Saravanan, A. & Rodd, F. H., 2009. Rearing environment affects the brain size of guppies: lab-reared guppies have smaller brains than wild-caught guppies. *Ethology*, **(115)**, 122-133.

Butler, A. B. & Hodos, W., 2005. *Comparative Vertebrate Neuroanatomy: Evolution and Adaptation, Second Edition*. Hoboken: Wiley-Interscience.

Caliman, A., Carneiro, L.S., Santangelo, J.M., Guariento, R.D., Pires, A.P.F., Suhett, A.L., Quesado, L.B., Scofield, V., Fonte, E.S., Lopes, P.M., Sanches, L.F., Azevedo, F.D., Marinho, C.C., Bozelli, R.L., Esteves, F.A., & Farjalla, V.F. 2010. Temporal coherence among tropical coastal lagoons: a search for patterns and mechanisms. *Brazilian Journal of Biology*. **70(3, Suppl.)**, 803-814.

- Calow, P., 1989. Proximate and ultimate responses to stress in biological systems. *Biological Journal of the Linnean Society*, (37), 173-50.
- Cervený, K. L., Varga, M. & Wilson, S. W., 2012. Continued growth and circuit building in the amniote visual system. *Developmental Neurobiology*, (72), 328-345.
- Chapman, L. J. & Hulén, K. G., 2001. Implications of hypoxia for the brain size and gill morphometry of mormyrid fishes. *Journal of Zoology (London)*, (254), 461-472.
- Charvet, C. J., Striedter, G. F. & Finlay, B. L., 2011. Evodevo and brain scaling: candidate developmental mechanisms for variation and constancy in vertebrate brain evolution. *Brain Behavior and Evolution*, (78), 248-257.
- Cohens, J., 1988. Set Correlation and contingency Tables. *Applied Psychological Measurement*, 12(4), 425-434.
- Crispo, E. & Chapman, L. J., 2010. Geographic variation in phenotypic plasticity in response to dissolved oxygen in an African cichlid fish. *Journal of Evolutionary Biology*, (23), 2091-2103.
- Day, L. B., Westcott, D. A. & Olster, D. H., 2005. Evolution of bower complexity and cerebellum size in bowerbirds. *Brain Behavior and Evolution*, (66), 62-72.
- de Jong, G., 1988. Consequences of a model of countergradient selection.. In: *Population genetics and evolution*. Heidelberg: Springer, 264-277.
- de Winter, W. & Oxnard, C. E., 2001. Evolutionary radiations and convergences in the structural organization of mammalian brains. *Nature*, (409), 710-714.
- Deane, E. E. & Woo, N. Y. S., 2009. Modulation of fish growth hormone levels by salinity, temperature, pollutants and aquaculture related stress: a review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, (19), 97-120.
- Dettman, J. R., Sirijusingh, C., Kohn, L. M. & Anderson, J. B., 2007. Incipient speciation by divergent adaptation and antagonistic epistasis in yeast. *Nature*, 477(7144), 585-8.

- Di Dario, F. et al., 2013. An update on the fish composition (Teleostei) of the coastal lagoons of the Restinga de Jurubatiba Nationalpark and the Imboassica Lagoon, northern Rio de Janeiro State. *Acta Limnolgia Brasiliensia*. doi.org/10.1590/S2179-975X2013000300006
- Durán, E. et al., 2004. Cerebellum and spatial learning in teleost fish. *FENS Forum Abstracts vol. 2, p. A112.15*, p. A112.15.
- Eifert, C. et al., 2014. Brain size variation in extremophile fish: local adaptation versus phenotypic plasticity. *Journal of Zoology*. doi:10.1111/jzo.12190
- Esteves, F. A. et al., 2008. Neotropical coastal lagoons: An appraisal of their biodiversity, functioning, threats and conservation management. *Brazilian Journal of Biology*, **68(4, Suppl.)**, 967–981.
- Falconer, D. S., 1981. Introduction to Quantitative Genetics, 2nd Edition, Longman Group Ltd., London. 1-133.
- Felice, B. C., 2014. Dinâmica de Mtacomunidades de peixes em ecossistemas costeiros: uma abordagem com lagoas e poças do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais e Conservação. Universidade Federal do Rio de Janeiro campus Maca. *Universidade Federal do Rio de Janeiro campus Macaé. Rio de Janeiro: UFRJ, 122p.*
- Finlay, B. L. & Darlington, R. B., 1995. Linked regularities in the development and evolution of mammalian brains. *Science*, (**268**), 1578-1584.
- Finlay, B. L., Darlington, R. B. & Nicastro, N., 2001. Developmental structure in brain evolution. *Behavior and Brain Science*, (**24**), 298-308.
- Funke, J. & Vaterrodt, B., 2009. Was ist Intelligenz?. In: s.l.:C. H. Beck oHG, München, 7.
- Glendenning, K. K. & Masterton, R. B., 1998. Comparative morphometry of mammalian central auditory systems: variation in nuclei and form of the ascending system. *Brain, Behavior and Evolution*, (**51**), 59-89.

- Gomes Jr., J. L. & Monteiro, L. R., 2008. Morphological divergence patterns among populations of *Poecilia vivipara* (Teleostei Poeciliidae): test of an ecomorphological paradigm. *Biological Journal of the Linnean Society*, (93), 799-812.
- Gonda, A., Herczeg, G. & Merilä, J., 2009a. Adaptive brain size divergence in nine-spined sticklebacks (*Pungitius pungitius*)?. *Journal of Evolutionary Biology*, (22), 1721-1726.
- Gonda, A., Herczeg, G. & Merilä, J., 2009b. Habitat dependent and -independent plastic response to social environment in the nine-spined stickleback (*Pungitius pungitius*) brain. *Proceedings of the Royal Society, B*. (276), 2085-2092.
- Gonda, A., Herczeg, G. & Merilä, J., 2011. Population variation in brain size of nine-spined sticklebacks (*Pungitius pungitius*) – local adaptation or environmentally induced variation?. *BMC Evolutionary Biology*, (11), 75.
- Gonda, A., Herczeg, G. & Merilä, J., 2013. Evolutionary ecology of intraspecific brain size variation: a review. *Ecology and Evolution*, (3), 2751-2764.
- Gonda, A., Välimäki, K., Herczeg, G. & Merilä, J., 2012. Brain development and predation: plastic responses depend on evolutionary history. *Biology Letters*, (8), 249-252.
- Gonzalez-Voyer, A., Kolm, N. & Iwaniuk, A., 2010. Sex, ecology and the brain: evolutionary correlates of brain structure volumes in Tanganyikan cichlids. *PLoS ONE*, Issue 5, p. e14355.
- Gonzalez-Voyer, A., Winberg, S. & Kolm, N., 2009. Brain structure evolution in a basal vertebrate clade: evidence from phylogenetic comparative analysis of cichlid fishes. *BMC Evolutionary Biology*, (9), 238.
- Grieshaber, M. K. & Völker, S., 1998. Animal adaptations for tolerance and exploitation of poisonous sulfide. *Annual Review of Physiology*, (60), 33-53.
- Hair Jr., J. F., Anderson, R. A., Tatham, R. L. & Black, W. C., 1995. Multivariate data analysis with readings. *Englewood Cliffs, NJ Prentice Hall*.
- Haney, D. C. & Walsh, S. J., 2003. Influence of Salinity and Temperature on the Physiology of *Limia melanonotata* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae): A Search for Abiotic Factors Limiting Insular Distribution in Hispaniola. *Caribbean Journal of Science*, 39(3), 327-337.

- Harayashiki, C. A. et al., 2013. Toxic effects of the herbicide Roundup in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to fresh water. *Aquatic Toxicology*, (**142-143**), 176-184.
- Hatfield, T. & Schluter, D., 1999. Ecological speciation in sticklebacks: environment-dependent hybrid fitness. *Evolution*, **53**(3), 866.
- Hofmann, H. A., 2003. Functional genomics of neural and behavioral plasticity. *Journal of Neurobiology*, (**54**), 272-282.
- Hollanda-Carvalho, P., Sanchez-Botero, J. I., Pellegrini-Caramaschi, E. & Bozelli, R. L., 2003. Temporal variation of fish community richness in coastal lagoons of the Restinga de Jurubatiba National Park, Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia*, **15**(3), 31-40.
- Horn, D., 1942. A correction for the effect of tied ranks on the value of the rank difference correlation coefficient. *Educational and Psychological Measurement*, (**3**), 686-690.
- Huber, R., van Staaden, M. J., Kaufman, L. S. & Liem, K. F., 1997. Microhabitat use, trophic patterns, and the evolution of brain structure in African cichlids. *Brain Behavior and Evolution*, (**50**), 167-182.
- Humphrey, N. K., 1976. The social function of intellect. In Bateson P. P. G., Hinde R. (Eds.): *Growing points in ethology*. Cambridge: Cambridge University Press. 303-317.
- Hüppop, K. & Wilkens, H., 1991. Bigger eggs in subterranean *Astyanax fasciatus* (Characidae, Pisces). In *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **29**(4), 280-288.
- Ishikawa, Y., Yoshimoto, M., Yamamoto, N. & Ito, H., 1999. Different brain morphologies from different genotypes in a single teleost species, the Medaka (*Oryzias latipes*). *Brain Behavior and Evolution*, (**53**), 2-9.
- Ishikawa, Y., Yoshimoto, M., Yamamoto, N., Ito, H., Yasuda, T., Tokunaga, F., Iigo, M., Wakamatsu, Y. & Ozato, K. 2001. Brain structures of a Medaka mutant, *el* (eyeless), in which eye vesicles do not evaginate. *Brain Behavior and Evolution*. **58**, 173–184.
- Isler, K. & van Schaik, C.P. 2006. Metabolic costs of brain size evolution. *Biological Letters*. **2**, 57–560.

Jeffrey, W.R. 2001. Evolution and development in the cavefish *Asyanax*. *Current Topics in Developmental Biology*. **86**, 191-221. doi:10.1016/S0070-2153(09)01008-4.

Jerison, H. J. 1976: Paleoneurology and the evolution of mind. In *Scientific American* **234** (1), 94–101.

Kihlslinger, R.L. & Nevitt, G.A. 2006. Environmental rearing conditions produce forebrain differences in wild Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Comparative Biochemistry and Physiology A*. **145**, 145–151.

Kocher, T.D., Conroy, J.A., McKaye, K.R, Stauffer, J.R. 1993. Similar morphologies of cichlid fish in Lakes Tanganyika and Malawi are due to convergence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **2**,158–165.

Köhler, A., Hildenbrand, P., Schleucher, E., Riesch, R., Arias-Rodriguez, L., Streit, B. & Plath, M. 2011. Effects of male sexual harassment on female time budgets, feeding behavior, and metabolic rates in a tropical livebearing fish (*Poecilia mexicana*). *Behavior Ecology and Sociobiology*. **65**, 1513–1523.

Körner, K.E., Schlupp, I., Plath, M. & Loew, R. 2006. Spectral sensitivity of mollies: comparing surface- and cavedwelling Atlantic mollies, *Poeciila mexicana*. *Journal of Fish Biology*. **69**, 54–65.

Kotrschal, A., S. Buechel, S. Zala, A. Corral Lopez, D. J. Penn, and Kolm, N. 2015a. Brain size affects female but not male survival under predation threat. *Ecology Letters*. **18**, 646–652.

Kotrschal, A., Deacon, A.E., Magurran, E., & Kolm, N. 2017. Predation pressure shapes brain anatomy in the wild. *Evolutionary Ecology*. **31**(5), 619-633

Kotrschal, A., Räsänen, K., Kristjánsson, B.K., Senn, M., Kolm, N. & Iwaniuk, A. 2012a. Extreme sexual brain size dimorphism in sticklebacks: a consequence of the cognitive challenges of sex and parenting? *PLoS ONE*. **7**, e30055.

- Kotrschal, A., Rogell, B., Bundsen, A., Svensson, B., Zajitschek, S., Brännström, I., Immler, S., Maklakov, A.A. & Kolm, N. 2013. Artificial selection on relative brain size in the Guppy reveals costs and benefits of evolving a larger brain. *Current Biology*. **23**, 168–171
- Kotrschal, A., Rogell, B., Maklakov, A.A. & Kolm, N. 2012b. Sex-specific plasticity in brain morphology depends on social environment of the guppy, *Poecilia reticulata*. *Behavior Ecology and Sociobiology*. **66**, 1485–1492.
- Kotrschal, K., van Staaden, M. & Huber, R., 1998. Fish brains: evolution and environmental relationships. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, (**8**), 373-408.
- Kranmer, D. & McClure, M. 1982. Aquatic surface respiration, a widespread adaptation to hypoxia in tropical freshwater fishes. *Environmental Biology of Fishes*. **7**(1), 47-55.
- Kurtz, B., Caruzo Gomes, J., Scarano F.R. 2013. Structure and phylogeographic relationships of swamp forest of Southeast Brazil. *Acta Botanica Brasilica*. **27**(4), 647-660. doi: 10-1590/S0102-3362013000400002
- Langerhans, R.B., Grifford, M.E., Joseph, E.O. 2007. Ecological speciation in *Gambusia* fishes. *Evolution. International Journal of Organic Evolution*. **61**(9), 2056-74.
Doi:10/1111/j.1558-5646.2007.00171.x.
- Lisney, T.J., Collin, S.P. 2006. Brain morphology in large pelagic fishes: a comparison between sharks and teleosts. *Journal of Fish Biology*. **68**, 1 – 23.
- Miller, R.R. 1998. Checklist and key to the mollies of Mexico (Pisces: Poeciliidae, *Poecilia*, subgenus *Mollienesia*). *Copeia*, **3**, 817-822.
- Mirescu, C., Peters, J.D. & Gould, E. 2004. Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. *Nature Neuroscience*. **7**, 841–846.
- Neves, F.M., Monteiro, L.R. 2003. Body shape and size divergence among populations of *Poecilia vivipara* in coastal lagoons of south-eastern Brazil. *Journal of Fish Biology*. **63**, 928 – 941.

- Nieuwenhuys, R. 1982: An overview of the organization of the brain of Actinopterygian fishes. In *American Zoologist*. **22**, 287–310.
- Northcutt, R.G. 2002. Understanding vertebrate brain evolution. *Integrative and comparative Biology*. **42**, 743 – 756.
- Nosil, P., Funk, D.J., Ortiz-Barrientos, D. 2009. Divergent selection and heterogeneous genomic divergence. *Molecular Ecology*. **18(3)**, 375-402, doi:10.1111/j.1365-294X.2008.03946.x.
- Nottebohm, F. 1981. A brain for all seasons: cyclical anatomical changes in song control nuclei of the canary brain. *Science* **214**, 1368–1370.
- Palacios, M., Arias-Rodriguez, L., Plath, M., Eifert, C., Lerp, H., Lamboj, A., Voelker, G., Tobler, M. 2013. The rediscovery of a long described species reveals additional complexity in speciation pattern of Poeciliid fishes in sulfide springs. *PloS ONE*. **8**, e71069
- Parzefall, J. 1970. Morphologische Untersuchungen an einer Höhlenform von *Mollienesia sphenops* (Pisces, Poeciliidae). *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere*. **68**, 323–342.
- Parzefall, J. 2001. A review of morphological and behavioural changes in the cave molly, *Poecilia mexicana*, from Tabasco, Mexico. *Environmental Biology of Fish*. **62**, 263–275.
- Paulin, M.G. 1993. The role of the Cerebellum in Motor control and perception. *Brain Behavior and Evolution*. **41**, 39-50
- Péqueux, A.J.R. 2008. Fish Osmoregulation in Special environments. In P.Sébert, D.W. Onyango & B.G. Kapoor (EDS.), *Fish Life in Special Environments* (1-39). Enfield, NH, USA: Science Publishers
- Pfenninger, M., Lerp, H., Tobler, M., Passow, C., Kelley, J.L., Funke, E., Geshake, B., Eroc, U.K., Berberich, T. & Plath, M. 2013. Parallel evolution of cox genes in H₂S-tolerant fish as key adaptation to a toxic environment. *Nature Communication*. **(5)**, 3873

Plath, M., Arndt, M., Parzefall, J. & Schlupp, I. (2004). Size dependent male mating behaviour in the Cave molly, *Poecilia mexicana* (Poeciliidae, Teleostei). *Subterranean Biology*. (2), 59-64

Plath, M., Hauswaldt, J.S., Moll, K.L.K., Tober, M., Garcia de León, F.J., Schlupp, I., Tiedemann, R. 2007a. Local adaptation and pronounced genetic differentiation in an extremophile fish, *Poecilia Mexicana*, inhabiting a mexican cave with toxic hydrogen sulphide. *Molecular ecology*. **16(5)**, 967-67, doi:10.1111/.1365-294X.2006.03212.x.

Plath, M., Pfenninger, M., Lerp, H., Riesch, R., Eschenbrenner, C., Slattery, P.A., Bierbach, D., Herrmann, N., Schulte, M., Arias-Rodriguez, L., Indy, J.R., Passow, C. & Tobler, M. 2013. Genetic differentiation and selection against migrants in evolutionarily replicated extreme environments. *Evolution*. **67**, 2647–2661.

Plath, M., Riesch, R., Oranth, A., Dzienko, J., Karau, N., Schiebl, A., Stadler, S., Wigh, A., Zimmer, C., Arias-Rodriguez, L., Schlupp, I. & Tobler, M. 2010. Complementary effect of natural and sexual selection against immigrants maintains differentiation between locally adapted fish. *Naturwissenschaften*. **97**, 769–774.

Plath, M. & Tobler, M. 2010. Subterranean fishes of Mexico. In *Biology of subterranean fishes*: 281–330. Trajano, E., Bichuette, M.E. & Kapoor, B.G. (Eds). Enfield: Science Publishers.

Plath, M., Tobler, M., Riesch, R., Garcia de León, F.J., Giere, O., Schlupp, I. 2007. Survival in an extreme habitat: the roles of behavior and energy limitation. *Naturwissenschaften*, **94(12)**, 991-6, doi:10.1007/s00114-007-0279-2.

Pollen, A.A., Dobberfuhl, A.P., Scace, J., Igulu, M.M., Renn, S.C., Shumway, C.A. & Hofmann, H.A. 2007. Environmental complexity and social organization sculpt the brain in lake Tanganyikan cichlid fish. *Brain Behavior and Evolution*. **70**, 21–39.

Poulson, T.L. 1963: Cave adaptations in amblyopsid fishes. In *The American Midland Naturalist*. **70**, 257– 290.

Poulson, T.L.; White, W.B. 1969: The Cave Environment. In *Science* **165 (3897)**, 971–981. doi: 10.1126/science.165.3897.971.

Reddon, A.R., Chouinard-Thuly, L., Leris, I., & Reader, S.M. 2018. Wild and laboratory exposure to cues of predation risk increases relative brain mass in male guppies. *British Ecological Society*. **32(7)**, 1847-1856. <http://doi.org/10.1111/1365-2435.13128>.

Reiffenstein, R.J., Hulber, W.C., Roth, S.H. 1992. Toxicology of hydrogen sulfide. *Annual review of Pharmacology and Toxicology*. **32**, 109-34, doi:10.1146/annurev.pa.32.040192.000545.

Revsbech, N.P., Sorensen, J., Blackburn, T.H., Lomholt, J.P. 1980. Distribution of oxygen in marine sediments measured with microelectrodes. *Limnology and Oceanography*. **23(3)**, <https://doi.org/10.4319/lo.1980.25.3.0403>

Riesch, R., Martin, R.A., Langerhans, R.B. 2013. Predation's role in life-history evolution of a livebearing fish and a test of the Trexler-DeAngelis model of maternal provisioning. *American Society of Naturalists*. **181**, 78–93.

Riesch, R., Plath, M. & Schlupp, I. 2010. Toxic hydrogen sulfide and dark caves: life-history adaptations in a livebearing fish (*Poecilia mexicana*, Poeciliidae). *Ecology* **91**, 1494–1505.

Riesch, R., Plath, M. & Schlupp, L. 2011. Toxic hydrogen sulphide and dark caves: pronounced male life-history divergence among locally adapted *Poecilia mexicana* (Poeciliidae). *Journal of Evolutionary Biology*. **24**, 596–606.

Riesch, R., Tobler, M., Schlupp, I. & Plath, M. 2009. Offspring number in a livebearing fish (*Poecilia mexicana*, Poeciliidae): reduced fecundity and reduced plasticity in a population of cave mollies. *Environmental Biology of Fishes*. **84**, 89–94.

Rocha, T.L., Carvalho, R., Yamada, A.T., Sabóia-Morais, S.M.T. 2010. Morphologic analysis of developmental phases and gill ontogenesis in neotropical species *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) exposed to different salinities. *Zoologia*. **27 (4)**, 554 – 562.

Rodríguez, F.; Durán, E.; Gómez, A.; Ocaña, F. M.; Alvarez, E.; Jiménez-Moya, F.; Broglio, C.; Salas, C. 2005. Cognitive and emotional functions of the teleost fish cerebellum. In *Brain research bulletin*. **66 (4-6)**, 365–370. doi: 10.1016/j.brainresbull.2004.11.026.

Rosales Lagarde, L., Boston, P.J., Campell, A., Stafford, K.W. 2006. Possible structural connection between Chichón volcano and the sulfur-rich springs of Villa Luz Vave (aka Cueva de las Sardinas), Southern Mexico. *Association for Mexican vace Studies Bulletin*. **19**, 177-184

Rundle, H.D., & Nosil, P. 2005. Ecological speciation. *Ecology Letters*. **8(3)**, 336-52, doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00715.x.

R Rundle, H., Nagel, L., Boughman, J., Schluter, D. 2000. Natrual selection and parallel speciation in sympatric sticklebacks. *Science*. **287(5451)**, 306-8.

Sánchez-Botero, J.I., Sequeira Garçez, D., Pellegrini Caramaschi, E., Saad, A.M. 2009. Indicators of salinity in the resistance and resilience of fish community in a tropical coastal lagoon (southeastern Brazil). *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. **38 (1)**, 171 – 195.

Santoro, A.L., Enrich-Prast, A. 2009. Salinity control of nitrification in saline shallow coastal lagoons. *Acta Limnologica Brasiliensia*. **21 (2)**, 263 – 267.

Schluter, D. (2001). Ecology and the origin of species. *Trends in Evology & Evolution*. **16(7)**, 372.80

Schulz-Mirbach, T., Eifert, C., Riesch, R., Farnworth, MS., Zimmer, C., Bierbach, D., Klaus, S., Tobler, M., Streit, B., Rimber Indy, J., Arias Rodriguez, L., and Plath, M. 2016. Toxic hydrogen sulphide shapes brain anatomy: A comparative study of sulphide-adapted ecotypes in the *Poecilia mexicana* complex. *Journal of Zoology*. **300**, 163-176.

Sibly, R.M., & Calow, P. 1989. A life-cycle theory of responses to stress. *Biological Journal of the Linnean Society*. **37**, 101-16.

Slattery, P.A. 2012. Genetische Differenzierung schwefelwasserstofftoleranter Populationen lebendgebärender zahnkarpfen (*Poecilia Mexicana*, *Poecilia sulphuraria*). Diplomarbeit, Abteilung Ökologie und evolution, J.W. Goethe-Universität, Frankfurt a.M.

Soares, D., Yamamoto, Y., Strickler, A.G. & Jeffery, W.R. 2004. The lens has a specific influence on optic nerve and tectum development in the blind cavefish *Astyanax*. *Developmental Neuroscience*. **26**, 308–317.

Sommer-Trembo, C., Petry, A.C., Gomes Silva, G., Vurusic, S.M., Gismann, J., Baier, J., Krause, S., de Araujo, J., Iorio, C., Riesch, R., & Plath, M. 2017. Predation risk and abiotic habitat parameters affect personality traits in extremophile populations of a neotropical fish (*Poecilia vivipara*), *Ecology and Evolution*. 7(16), 6570-6581. Doi:10.1002/ece.3.3165.

Stearns, S. C., 1989. Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology*, **3(3)**, 259-268.

Streit, B., 1998. *Evolutionsprozesse im Tierreich*. Berlin: Birkhäuser Verlag.

Striedter, G.F. 2005. Principles of brain evolution. Sinauer Associates. Sunderland, MA, USA.

Suzuki, M.S., Ovalle, A.R.C., Pereira, E.A. 1998. Effects of sand bar openings on some limnological variables in a hypertrophic tropical coastal lagoon of Brazil. *Hydrobiologia*. **368**, 111 – 122.

Timischl, W. 2013. Angewandte Statistik. Eine Einführung für Biologen und Mediziner. **(3)**, 303.

Tobler, M. 2008. Divergence in trophic ecology characterizes colonization of extreme habitats. *Biological Journal of the Linnean Society*. **95**, 517–528.

Tobler, M. 2009. Does a predatory insect contribute to the divergence between cave- and surface-adapted fish populations? *Biological Letters*. **5**, 506–509.

Tobler, M., DeWitt, T.J., Schlupp, I., García de León, F.J., Herrmann, R., Feulner, P.G.D., Tiedemann, R. & Plath, M. 2008a. Toxic hydrogen sulfide and dark caves: phenotypic and

genetic divergence across two abiotic environmental gradients in *Poecilia mexicana*. *Evolution*. **62**, 2643–2659.

Tobler, M., Palacios, M., Chapman, L.J., Mitrofanov, I., Bierbach, D., Plath, M., Arias-Rodriguez, L., García de León, F.J. & Mateos, M. 2011. Evolution in extreme environments: replicated phenotypic differentiation in livebearing fish inhabiting sulfidic springs. *Evolution*. **65**, 2213–2228.

Tobler, M. & Plath, M., 2009. Threatened fishes of the world: *Poecilia sulphuraria* (Alvarez, 1948) (Poeciliidae). *Environmental Biology of Fishes*, August, **85**(4), 333-334.

Tobler, M. & Plath, M. 2011. Living in extreme environments. In *Ecology and evolution of poeciliid fishes*: 120–127. Evans, P., Pilastro, A. & Schlupp, I. (Eds). Chicago and London: The University of Chicago Press.

Tobler, M., Riesch, R., García de León, F.J., Schlupp, I. & Plath, M. 2008b. A new and morphologically distinct population of cavernicolous *Poecilia mexicana* (Poeciliidae: Teleostei). *Environmental Biology of Fish*. **82**, 101–108.

Tobler, M., Riesch, R. & Tobler, C.M. & Plath, M. 2009a. Compensatory behavior in response to sulfide-induced hypoxia affects time budgets, feeding efficiency, and predation risk. *Evolutionary Ecology Research*. **11**, 935–948.

Tobler, M., Riesch, R., Tobler, C.M., Schulz-Mirbach, T. & Plath, M. 2009b. Natural and sexual selection against immigrants maintains differentiation among microallopatric populations. *Journal of Evolutionary Biology*. **22**, 2298–2304.

Tobler, M., Schlupp, I., Heubel, K.U., Riesch, R., Garcia de León, F.J., Giere, O. & Plath, M. 2006. Life on the edge: hydrogen sulphide and the fish communities of a Mexican cave and surrounding waters. *Extremophiles*. **10**, 577–585.

Toli, E.A., Noreikiene, K., DeFaveri, J., & Merilä, J. 2017. Environmental enrichment, sexual dimorphism, and brain size in sticklebacks. *Ecology and Evolution*. **7**, 1691–1698.
<https://doi.org/10.1002/ece3.2717>

- Torrans, E.L. & Clemens, H.P. 1982. Physiological and biochemical effects of acute exposure of fish to hydrogen sulfide. *Comparative Biochemistry and Physiology. C: Comparative Pharmacology*. **71(2)**, 183-90.
- Torres-Dowdall, J., Dargent, F., Handelsman, C.A., Ramnarine, I.W., Ghalambor, C.K. 2013. Ecological correlates of the distribution limits of two poeciliid species along a salinity gradient. *Biological Journal of the Linnean Society*. **108**: 790 – 805.
- Trajano, E. 1994. Comparative study of the brain and olfactory organ of the troglobitic catfish *Pimelodella kroneri* (Ribeiro 1907), and its putative ancestor *P. transitoria* (Ribeiro 1912) (Siluriformes, Pimelodidae). *Tropical Zoology*. **7**, 145–160.
- Trexler, J.C. 1989. Phenotypic plasticity in poeciliid life histories. In: Meffe A., Snelson FF., eds. Ecology and evolution of poeciliid fishes (poeciliidae). Princeton, NJ: Prentice Hall, 201 – 213.
- Trexler, J.C., Travis, J. 1990. Phenotypic plasticity in the sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Pisces: Poeciliidae). I. Field experiments. *Evolution*. **44(1)**, 143 – 156.
- Turelli, M., Barton, N.H., Coyne, J.A., 2001. Theory and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*. **16(7)**, 330-43, doi:10.1016/S0169-5347(01)02177-2.
- van der Bijl, W., Thyselius, M., Kotrschal, A., & Kolm, N. 2015. Brain size affects the behavioural response to predators in female guppies (*Poecilia reticulata*). *Proceedings of the Royal Society B*. **282**, 20151132. <http://dx.doi.org/1098/2015.1132>.
- Van Dover, C. L., 2000. The Ecology of Deep-Sea Hydrothermal Vents. *Limnology and Oceanography*, **46(8)**.
- van Staaden, M.J., Huber, R., Kaufman, L.S., & Liem, F.K. 1995. Brain evolution in cichlids of the African Great Lakes: brain and body size, general patterns, and evolutionary trends. *Zoology*. **98(1994/95)**, 165-178.
- Weaver, P., Tello, O., Krieger, J., Marmolejo, A., Weaver, K.F., Garcia, J.V., & Cruz, A.I. 2016. Hypersalinity drives physiological and morphological changes in *Limia perugieae* (Poeciliidae). *Biology Open*. **5**, 1093-1101. Doi:10.1242/bio.017277.

Wittig, R., & Streit, B. 2004. Ökologie. Eugen Ulmer GmbH & Co. ISBN 3-8001.27777-6
(Ulmer)

Zupanc, G.K. 2001. Adult neurogenesis and neuronal regeneration in the central nervous system of teleost fish. *Brain Behavior and Evolution*. **58**, 250–275.

5. Annex

5.1 Publikationen als Teil der vorliegenden Arbeit

5.1.1 Erbllichkeit von Eigenschaften vs. hohe Variationsbreite

Eifert, C., Farnworth, M., Schulz-Mirbach, T., Riesch, R., Bierbach, D., Klaus, S., Wurster, A., Tobler, M., Indy, JR., Arias-Rodriguez, L., & Plath, M. (2014). Brain size variation in extremophile fish: local adaptation versus phenotypic plasticity. *Journal of Zoology*, doi:10.1111/jzo.12190

5.1.2 Konvergente anatomische Veränderungen des Gehirns durch H₂S

Schulz-Mirbach, T., **Eifert, C.**, Riesch, R., Farnworth, MS., Zimmer, C., Bierbach, D., Klaus, S., Tobler, M., Streit, B., Rimber Indy, J., Arias-Rodriguez, L., & Plath, M. (2016). Toxic hydrogen sulphide shapes brain anatomy: A comparative study of sulphide-adapted ecotypes in the *Poecilia mexicana* complex. *Journal of Zoology*. **300**, 163-176.

Erklärung

hiermit erkläre ich, dass ich bei der Ausarbeitung der Dissertation nur die in der Dissertation angegebenen Hilfen oder Hilfsmittel benutzt habe. Desweiteren erkläre ich das ich die Grundsätze der guten wissenschaftlichen Praxis beachtet habe.

Ort und Datum

Unterschrift

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während meines Studiums sowie während der Promotion unterstützt haben. Ich danke Herrn Prof. Dr. Bruno Streit, Herrn Prof. Dr. Martin Plath, Herrn PD Dr. Sebastian Klaus für die Anleitung und anregenden Gespräche sowie für den Kenntniserwerb, den ich während der Promotion erfahren habe. Sowie der AG Ökologie und Evolution und meinen geschätzten Kollegen für Gedankenaustausch und die Möglichkeit, meine Gedanken zu ordnen. Den Universitäten Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main; der Akademischen Abteilung für Biowissenschaften, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), Villahermosa, Tabasco, Mexiko, sowie der Universität Federal de Rio de Janeiro, Campus Macaé (UFRJ Macaé) und den externen Professoren, die meine unzähligen Fragen beantwortet haben. Zu guter letzt, bei meiner Familie, meiner Schwester Claudia, meinen beiden Kindern Adam und Janna sowie Abdelouahid für die Unterstützung und Trost spendenden Worte in schwierigen Phasen dieser Promotion.