

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

## Untersuchungen über die Embryonalentwicklung und die embryonale Diapause bei *Baëtis vernus* CURTIS und *Baëtis rhodani* (Pictet) (Baëtidae, Ephemeroptera)

VON HANS WILHELM BOHLE

Mit 50 Abbildungen

### Summary

The embryogenesis of *Baëtis rhodani* and *B. vernus* (Ephemeroptera) has been investigated. Morphogenesis is very similar in both species, except for some differences which partially appear in connection with the diapause of *B. vernus*.

Both species have a chromosome number of  $n = 5$ . Their meiotic divisions and cleavage are identical. Dispermie occurs regularly. The nucleus of the second spermatozoon as well as the fusion products of the polar bodies may be observed until they desintegrate during blastoderm formation. Prior to this event the polar bodies develop into several polyploid nuclei through fusion and mitoses. The nucleus of the second spermatozoon remains haploid.

The germ anlage originates as a monolayer cap at the posterior pole. It gives rise to the amnion and then elongates to form the germ band. Because of the cell shapes the germ anlage of *B. rhodani* is thicker and more dense than that of *B. vernus*.

The cap like germ anlage shows a centrally located small pit, from which possibly cells migrate inwards to form the lower germ layer. Along with the elongating germ band the lower germ layer is expanding.

Prior to segmentation the germ band sinks into the yolk with the exception of the head and the presumptive mandibular and maxillar regions. Together with this process the neural anlage separates. Segmentation starts in the thoracic and gnathocephalic region and is succeeded by the appearance of the extremity knobs (Differenzierungszentrum).

During catatrepsis the germ band moves around the posterior pole and contracts. Development progresses by the differentiation of the organ anlagen.

The embryogenesis of *B. rhodani* is not interrupted by a dormant stage. The obligate diapause in *B. vernus* is marked by contraction of the embryo while it is still enclosed in the yolk.

The conditions for the beginning, progress, and the duration of diapause have been investigated by studying all developmental stages under different temperatures.

In the prediapause period morphogenesis leads up to stage 6 (see table 1). Between 0 and 20 °C this period becomes shorter with higher temperatures. At 24 °C morphogenesis is blocked in stage 4 already and the eggs die within a few days. If eggs are transferred from higher temperatures to 0 °C and are kept under this temperature until they reach stage 5, they will not undergo diapause later.

At 0 °C as well as 20 °C diapause begins in stages 6 or 7 with complete cessation of morphogenesis, between 3.6 and 15.6 °C with a retardation of morphogenesis. If development is only retarded it ends up with stage D 9, which is diapause specific, and in which the embryo will

remain until the end of diapause. The period of retarded development is shortest at 6.8 °C and becomes longer at higher as well as lower temperatures. We have named the retarded development from stage 7 to stage D 9 "diapause with morphogenesis" to distinguish it from the "diapause without morphogenesis" which may begin either in stage 7 or stage D 9.

The moment, at which morphogenesis is blocked completely (i.e. either stage 7 or D 9) has no influence on the duration of the diapause itself, which may last from 1 month at 0 °C to 12 months at 15.6 °C.

At a constant temperature of 15.6 °C about 75 % of the eggs become lethal during diapause. By transferring them prior to their death into 6.8 °C it was found, that in these eggs too diapause development takes place. The percentage of lethal eggs amounts to about 85 % if kept at 20 °C. The surviving eggs hatch after 1 to 5 months of diapause.

Diapause will last only about 2 days if the eggs are kept at -14 °C. Experiments at temperatures of -14 and -26 °C revealed a variation of cold resistance during the course of embryogenesis. There is no synchronie between periods of differing cold resistance and diapause periods.

The end of the dormant stage may be reached earlier if eggs are not kept at a constant temperature of 6.8 °C, but are transferred to 11 °C, and still earlier if they are brought into 15.6 °C during the late diapause phase.

A dormant period which follows diapause may be shown best at lower temperatures. Contrary to true diapause the duration of this period is influenced by temperature in the same way as postdiapause morphogenesis: It lasts about 11 months at 0 °C, but only 5 days at 15.6 °C.

Post diapause morphogenesis takes place between 0 and 24 °C, but the larvae will hatch only at temperatures above 3,6 °C.

Eggs which are kept constantly at 0 °C become lethal. While the reasons for the high percentage of lethals at high temperatures (15.6 °C, 20 °C) are to be found in diapause conditions, eggs at 0 °C become lethal because of postdiapause conditions.

### Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung . . . . .	495
II. Material und Methoden . . . . .	497
a) Gelegegewinnung . . . . .	497
b) Histologische Technik . . . . .	498
c) Haltung der Eier und experimentelle Methoden . . . . .	500
III. Die Embryonalentwicklung von <i>Baëtis rhodani</i> und <i>B. vernus</i> . . . . .	500
a) Gestalt und Struktur des Eies . . . . .	501
b) Eireifung, Furchung und Blastodermbildung . . . . .	502
c) Entstehung der Keimanlage . . . . .	513
d) Bildung des Keimstreifs und Differenzierung bis zur Vollendung der Körpergrundgestalt. . . . .	516
e) Kontraktion und Ausrollung des Embryos, Abschluß der Embryogenese . . . . .	520
IV. Geschwindigkeit und Verlauf der Embryogenese in Abhängigkeit von der Temperatur	524
a) Schlüpfintensität bei konstanten Temperaturen . . . . .	524
1. <i>Baëtis rhodani</i> . . . . .	525
2. <i>Baëtis vernus</i> . . . . .	526

b) Der Verlauf der Embryogenese bei verschiedenen Temperaturen bei <i>B. vernus</i> . . .	527
1. Methodisches. . . . .	527
2. Konstante Temperaturen . . . . .	529
α) Beschreibung des Embryogeneseverlaufs von <i>B. vernus</i> für verschiedene konstante Temperaturen . . . . .	529
β) Die Veränderung der Entwicklungsgeschwindigkeit in den Morphogenese-phasen der Embryogenese durch die Temperatur . . . . .	534
γ) Zusammenfassung und Schlußfolgerungen . . . . .	538
3. Kombination zweier Temperaturstufen . . . . .	541
α) Prüfung der Beeinflussung der Diapause bei konstanter Temperatur von 15,6 °C durch Übertragung der Eier nach 6,8 °C . . . . .	541
β) Untersuchung der bei 0 °C auftretenden Dormanz . . . . .	543
γ) Untersuchung der bei 6,8 °C auftretenden Dormanz durch Übertragung der Eier nach 15,6 °C . . . . .	546
δ) Die Folgen vorübergehender Einwirkung von Temperaturen unter dem Gefrierpunkt: Beeinflussung der Diapause und die Kälteresistenz . . . . .	550
ε) Die Beeinflussung des Diapauseauftretens während der Praediapause durch eine Temperatur von 0 °C . . . . .	553
ζ) Die zur Letalität führenden Temperaturbedingungen . . . . .	555
η) Zusammenfassung und Schlußfolgerungen . . . . .	556
Diskussion der Ergebnisse . . . . .	559
Die Praediapause . . . . .	560
Die Diapause . . . . .	561
a) Der Diapausebeginn und der Diapausestatus . . . . .	561
b) Die Beendigung der Diapause . . . . .	564
Die Postdiapause . . . . .	566
a) Die Postdiapause ohne Morphogenese . . . . .	566
b) Die Postdiapause mit Morphogenese . . . . .	567
Zur Letalität führende Vorgänge . . . . .	567
Entwicklungsvorgänge bei 20 °C . . . . .	568
Übersicht über den Verlauf der diapausebezogenen Entwicklungsabschnitte . . . . .	568
Zusammenfassung der Hauptergebnisse . . . . .	570
Literatur . . . . .	572

## I. Einleitung

Über alle Formen der Dormanz sind an Insekten sehr viele Untersuchungen gemacht worden (Zusammenfassungen bei ANDREWARTHA 1952, BÜCKMANN 1962, LEES 1955, DANILEWSKII 1965, H. J. MÜLLER 1966). Unter den Objekten treten die Formen des Süßwassers, speziell des Fließwassers zurück. Immerhin wurde auch hier für verschiedene Arten eine vorübergehende, natürliche Sistirung der Entwick-

lung aufgewiesen oder wahrscheinlich gemacht (PLESKOT 1958, 1961a und b; LAUDA 1962; HYNES 1962). Eine genaue Charakterisierung der Dormanz auf Grund experimenteller Prüfung erfolgte in diesen Fällen nicht. Die Untersuchung der Temperaturabhängigkeit der Dormanz erscheint insbesondere für die Besiedler der mehr oder weniger stenothermen Bachbereiche aus ökologischen Gründen als wichtig.

Wohl der erste Nachweis einer Diapause im Embryonalstadium bei Ephemeropteren gelang EDMUNDS, NIELSEN und LARSEN (1956) für *Ephoron album* (SAY). Sie fanden, daß die Embryonen in fast schlupffreiem Stadium überwintern und daß Kälteeinwirkung notwendige Voraussetzung für die Weiterentwicklung ist. Weitere Hinweise auf die Erscheinung embryonaler Dormanz für diese Insektenordnung erbrachte die Feststellung der jährlichen Häufigkeitsverteilung der Larvenstadien: Nach Untersuchungen in englischen Bächen schloß MACAN (1957) für *Ephemera ignita* (vgl. auch MAITLAND 1965), *Baëtis rhodani* und *B. pumilus* auf Eiüberwinterung, da ihre Junglarven in Freilandproben des Winters fehlten oder gegenüber ihrer Zahl zu Beginn der nächstjährigen Saison stark zurücktraten. Zum gleichen Ergebnis kam GERTRUD PLESKOT (1958) mit gleichen Methoden für *Ephemera ignita*, *Habrophlebia lauta*, *Baëtis rhodani*, *B. bioculatus* und *B. vernus* in einem österreichischen Fließgewässer. ILLIES (1959) wies durch Beobachtungen von *Baëtis*-Gelegen unbekannter Artzugehörigkeit die Überwinterung für Eier von Arten dieser Gattung direkt nach. Offen blieb die Frage nach der Art der Dormanz, zumal die von ILLIES beobachteten Gelege sich uneinheitlich verhielten.

Für die vorliegende Arbeit wurden Gelege von ♀♀ der Gattung *Baëtis* untersucht. Wie sich herausstellte, handelte es sich um Eier zweier Arten, von denen nur eine, *B. vernus*, Eiüberwinterer ist. In der Embryogenese von *B. rhodani* tritt dagegen eine Dormanz nicht auf.

Als Grundlage für Untersuchungen über die Dormanz war die Embryonalentwicklung beider Arten gesondert zu beschreiben und bildlich darzustellen. Für die experimentelle Prüfung stellte sich die Aufgabe, die Abschnitte der Embryogenese, insbesondere die Dormanz, auf Grund ihrer Temperaturabhängigkeit zu charakterisieren. Zu diesem Zweck kontrollierte ich Geschwindigkeit und Verlauf der Differenzierungsvorgänge.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. FRIEDRICH SEIDEL, danke ich außerordentlich für die großzügige Unterstützung meiner Arbeit sowie für mannigfache Anregungen. Einen Teil der Untersuchungen führte ich in der Fuldastation der Hydrobiologischen Anstalt der Max-Planck-Gesellschaft in Schlitz (Hessen) durch, und ich möchte dem damaligen Leiter des Instituts, Herrn Dozenten Dr. KARL MÜLLER, für die Bereitstellung der Arbeitsmöglichkeiten sowie für die fortwährende Hilfsbereitschaft und Unterstützung, die er mir gewährte, besonderen Dank sagen. Zu danken habe ich ebenfalls Frau Professor Dr. G. PLESKOT und Frau Dr. I. MÜLLER-LIEBENAU für die Determinierung der Arten.

## II. Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden 1960 begonnen und nach längerer Unterbrechung vom Frühjahr 1964 bis zum Winter 1966/67 fortgeführt. Die meisten Eier von *B. vermus* entstammen entsprechend der Hauptflugzeit dieser Art im untersuchten Gebiet der Zeit zwischen Ende Juni und Mitte Juli. Gelege von *B. rhodani* sammelte ich zwischen Mitte Mai und Ende September.

### a) Gelegegewinnung

Alle Gelege stammen aus dem „Breitenbach“, der etwa 5 km oberhalb der Stadt Schlitz in die Fulda mündet. Über den Jahreslauf der Temperatur informiert die Abb. 1. Es handelt sich danach um ein Fließgewässer mit relativ geringen jährlichen Temperaturschwankungen. Das hat relativ niedrige Sommer- und hohe Wintertemperaturen zur Folge. Weitere physiographische Angaben finden sich bei K. MÜLLER (1966).

Um den Zeitpunkt der Eiablage zu bestimmen, wurden saubere Steine im Bach ausgelegt und regelmäßig im Abstand von einigen Stunden kontrolliert.

Die Eiablage beobachtete ich Anfang August 1961 an *B. rhodani*. Die ♀♀ landen auf den Steinen, welche über den Wasserspiegel hinausragen, und steigen anschließend in das Wasser ein, wobei eine bestimmte Orientierung zur Strömungsrichtung sich nicht feststellen läßt. Im Wasser bleiben die Tiere mit Ausnahme der Cerci unbenetzt. Sie legen die Eier an der Unterseite der Steine ab (vgl. WESENBERG-LUND 1943). So ist die Eiablage selbst nicht zu beobachten. Spätestens 2 Std. nachdem das ♀ hinabstieg, findet man frische Gelege vor. Möglicherweise verteilen die ♀♀ Gelege unterschiedlicher Größe auf mehrere Stellen. Werden die Steine aus dem Wasser herausgenommen, findet man die Tiere meistens noch unbenetzt und flugfähig neben einzelnen toten ♀♀.

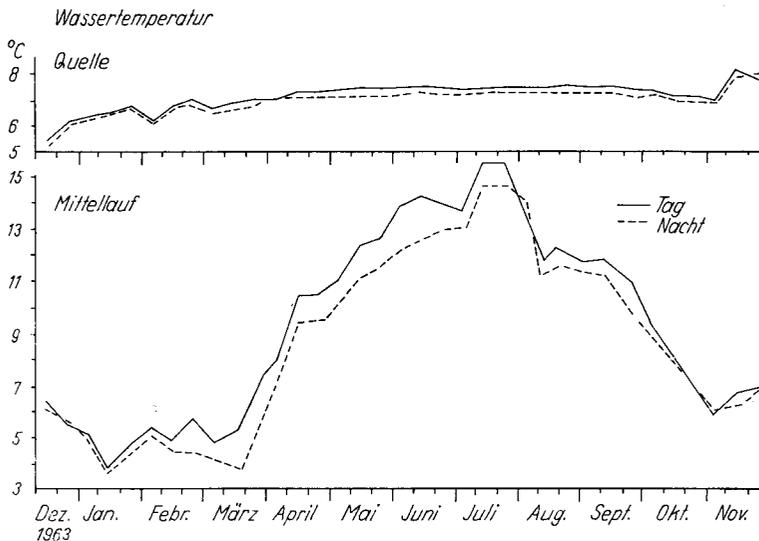
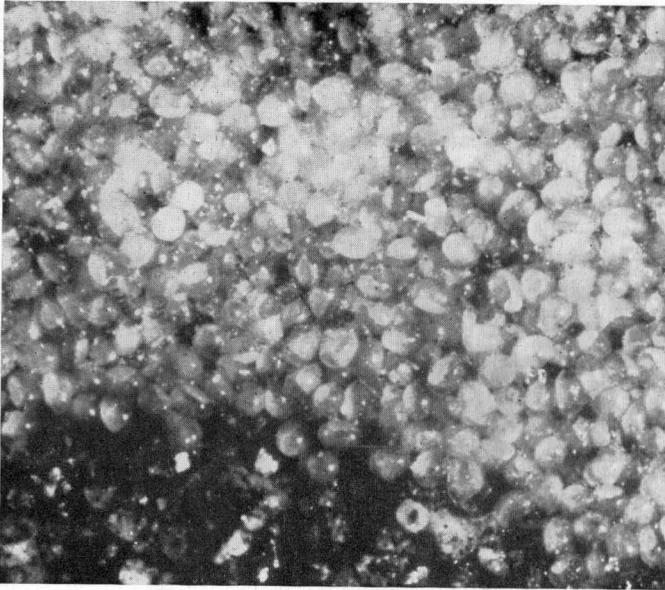


Abb. 1. Temperaturverlauf im Breitenbach während des Jahres 1964. Obere Darstellung: wenige Meter unterhalb einer Quelle. Untere Darstellung: etwa 600 m unterhalb der Quelle. Registrierung der Temperaturen mit einem Lambrecht-Fernthermographen, dessen Fühler in der Bachmitte ausgelegt war. Diese Abbildung stellte mir Herr Dr. KARL MÜLLER freundlicherweise zur Verfügung.



2 a

Abb. 2. Gelege von a) *Baëtis rhodani* (Vergr. etwa 40fach), b) *Baëtis vernus* (Vergr. etwa 20fach). Die Eier von *B. rhodani* sind lockerer und unregelmäßiger gelagert als bei *B. vernus*.

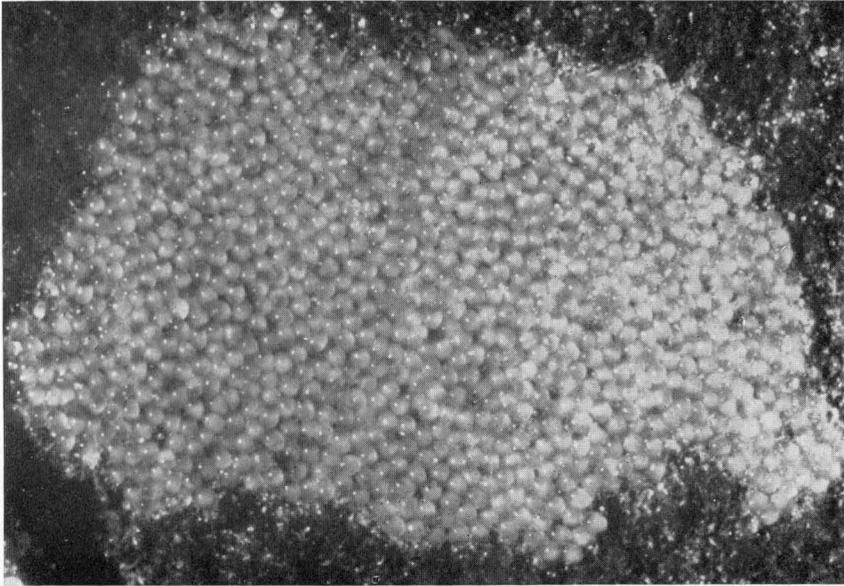
Alle untersuchten *Baëtis*-Gelege gehören 2 nach der Art des Aufbaus und nach Eimerkmalen unterscheidbaren Typen an. Im 1. Fall sind die Eier locker, unregelmäßig und vielfach in mehreren Schichten übereinander angeordnet: es handelt sich um die Gelege von *B. rhodani*, wie nähere Nachprüfung ergab (vgl. nächsten Absatz). Im 2. Fall, bei *B. vernus*, bestehen sie meist aus einer Schicht eng und regelmäßiger nebeneinander liegender Eier (Abb. 2).

Die Aufzucht der aus den Eiern geschlüpften Larven gelang nicht. Da innerhalb der Gattung *Baëtis* eine Bestimmung der Arten weder nach den Eilarven noch nach den Imagines ♀♀ möglich ist, mußte eine indirekte Methode für diesen Zweck herangezogen werden. Die Untersuchungen der 1960, 1961 und 1962 gesammelten Larven durch Frau Professor PLESKOT und Frau Dr. MÜLLER-LIEBENAU ergaben, daß im „Breitenbach“ nur 2 *Baëtis*-Arten vorkommen. Größere Larven von *B. rhodani* tauchen in allen Proben von Juli bis Oktober auf. Ältere Larven von *B. vernus* fanden sich nur in den Proben des Monats Juli, in der gleichen Zeit, während welcher fast alle untersuchten Gelege des 2. beschriebenen einschichtigen Typs gesammelt wurden. Vom 3. bis 11. 8. 1961 gesammelte schlupffreie Larven und Imagines ♂♂ dagegen gehörten sämtlich zur Art *B. rhodani*, alle zu dieser Zeit frisch abgelegten Gelege zum 1. Typ<sup>1)</sup>.

### b) Histologische Technik

Fixierung und Färbung der Eier begegnen relativ großen Schwierigkeiten, da die Eihüllen, besonders bei *B. vernus*, für die meisten der gebräuchlichen Mittel schwer oder gar nicht durchdringbar sind. 80%iger Alkohol, auch im Gemisch mit Eisessig und Formol, führt nur eine lang-

1) Eine Determination von am „Breitenbach“ gesammelten Imagines durch Herrn Dr. D. E. KIMMINS, London, ergab ebenfalls nur das Vorkommen der 2 genannten Arten: mündl. Mitt. von Herrn Dr. KARL MÜLLER.



2b

same Entquellung herbei, doch beeinträchtigt selbst eine Einwirkungsdauer von  $\frac{1}{2}$  Std. die Entwicklungsfähigkeit des Eies nicht. Aus diesem Grund müssen die Eier in den meisten Fixierungsmitteln und für sämtliche Färbungen angestochen werden. Lediglich die Fixierung im Gemisch nach PETRUNKEWITSCH (ROMEIS 1948, § 341) bei 50 °C gelingt ohne Anstich. Neben dieser Methode ergibt noch das von KAHLE (1908) angegebene Fixierungsgemisch aus 6 Teilen 40%igem Formol, 15 Teilen 96%igem Alkohol, 1 Teil Eisessig und 30 Teilen Wasser befriedigende Ergebnisse.

Vor oder nach der Fixierung läßt sich das Exochorion mit Hilfe von 2 Metallnadeln entfernen. Das Anstechen geschieht unter dem Stereomikroskop mit Glasnadeln, die für diesen Zweck über dem Mikrobrenner ausgezogen werden, so daß kurze, nicht elastische Spitzen entstehen.

Zur Färbung der Totalpräparate muß jedes Ei 2–4mal angestochen werden. Nach der Fixierung mit dem Gemisch nach PETRUNKEWITSCH eignet sich am besten eine Anfärbung mit Thionin. Zu diesem Zweck wird eine Stammlösung in 96%igem Alkohol 1:1 mit Wasser verdünnt. Die Färbezeit beträgt etwa 10 Std., die Differenzierung geschieht in 96%igem Alkohol. Färbung nach diesem Verfahren ergibt gute Übersichtsbilder der auf die Blastodermbildung folgenden Stadien, da auch das Plasma, nicht aber der Dotter tingiert wird. Interphasekerne erscheinen ungefärbt. Zur Kernfärbung wurde alkoholische Borax-Karminlösung verwendet. Die Färbedauer beträgt mindestens 7 Tage.

Von Reifungs- und Furchungsstadien fertigte ich Quetschpräparate an: Die in Carnoyscher Flüssigkeit (ROMEIS 1948, § 226) fixierten Eier werden angestochen und etwa 4 Wochen lang in Orceinessäure aufbewahrt. Dabei quellen sie so stark, daß das Chorion zerreißt. Zum Quetschen genügt das Auflegen des Deckglases.

Alle mikroskopischen Beobachtungen geschahen mit dem Stereomikroskop und dem Laborluxmikroskop der Firma LEITZ, Wetzlar. Zeichnungen fertigte ich mit Hilfe eines Zeichenspiegels an.

Da das Chorion der *Baëtis*-Eier unstrukturiert und durchsichtig erscheint, lassen sich viele Vorgänge der Embryogenese auch im Leben unter dem Mikroskop beobachten und photographieren.

### c) Haltung der Eier und experimentelle Methoden

Die für die Untersuchung ins Laboratorium gehaltenen Gelege wurden in der Regel in belüfteten Aquarien gehalten. Nur bei 0 °C dienten dafür flache Schalen ohne Belüftung.

Temperaturversuche wurden bei Temperaturen zwischen 0 und 24 °C sowie bei etwa -14 und -26 °C durchgeführt. Temperaturen unter +6 °C erzeugte ein Kühlschranks, doch mußten dort Schwankungen bis  $\pm 1$  °C in Kauf genommen werden, trotz fast täglicher Kontrolle. Die Versuchsgefäße befanden sich in einem Polystyrolgehäuse, um kurzfristige Schwankungen zu vermeiden. Für die übrigen Versuche standen eine Klimakammer mit einer Temperatur von etwa 7 °C sowie Brutschränke und ein Einhäng-Thermostat Thermomix II der Firma B. BRAUN, Melsungen, zur Verfügung. Die Temperaturschwankungen lagen hier meist bei oder unter  $\pm 0,2$  °C. Falls sie in Einzelfällen größer waren, wird bei der Darstellung der Versuche darauf hingewiesen werden. Die Kälteresistenz konnte im Gefrierfach des Kühlschranks mit Temperaturen zwischen -12 und -16 °C geprüft werden, im folgenden kurz als -14 °C, und in einer Kühltruhe bei -24 bis -28 °C, im folgenden kurz als -26 °C benannt.

Die Gelege blieben während der Temperaturversuche an den Steinen, oder es wurden Teile daraus abgelöst und in Blockschälchen oder Reagenzgläsern aufbewahrt.

Um den Entwicklungsstand der Embryonen festzustellen, fertigte ich anfangs gefärbte Totalpräparate an, später, nach einigen Erfahrungen, reichte die Lebendbeobachtung für seine Beurteilung meistens aus. Die Schlüpfintensität wurde bei *B. vernus* durch Auszählen der zurückbleibenden leeren Eihüllen und, meist parallel, der frisch geschlüpften Larven bestimmt. Bei *B. rhodani* ließ sich nur die 2. Methode anwenden.

Die Eier in den Versuchen befanden sich im allgemeinen bei Dauerdunkel, von den für die Kontrolle notwendigen Zeiten abgesehen. Nur bei etwa 7 und 11 °C gab es aus technischen Gründen in einigen Versuchen eine tägliche Beleuchtungsperiode von 12 Std. Um hier den möglichen Einfluß einer Photoperiode festzustellen, wurde das Ergebnis für eine konstante Temperatur von 6,8 °C und 12 Std. tägliche Beleuchtung für Dauerdunkel überprüft. Der Unterschied ist geringfügig, so daß er bei der Versuchsauswertung vernachlässigt werden darf. Auch zeigt der Vergleich mit den im natürlichen Biotop gebliebenen Gelegen und mit anderen, die 16 Std. tägliche Beleuchtung erhielten, daß der Einfluß der Photoperiode allenfalls gering sein kann.

## III. Die Embryonalentwicklung von *Baëtis rhodani* und *B. vernus*

Über die Embryogenese der Ephemeropteren liegen bisher 2 die gesamte Entwicklung umfassende Darstellungen vor. R. HEYMONS (1896a) schildert Beobachtungen an *Ephemera vulgata* L. In wenigen Absätzen wird dort die Bildung und Differenzierung des Keimstreifs beschrieben. 2 Zeichnungen, die nur die Lage des Keimstreifs im Ei veranschaulichen, Einzelheiten seiner Formung aber nicht erkennen lassen, bringt eine andere Arbeit desselben Autors (HEYMONS 1896b). ANDO und KAWANA (1956) untersuchten *Ephemera strigata* EATON. Sie berücksichtigen im Gegensatz zu HEYMONS die Furchung und Blastodermbildung und geben eine etwas genauere Übersicht über alle Stadien der Embryogenese. 2 Photographien des segmentierten Keimstreifs von *Cloëon dipterum* L., Angaben über die Furchung sowie wenig zur Keimstreifbildung enthält die Arbeit WOLFS (1960), die sich im übrigen mit cytologischen Problemen beschäftigt. Die Abbildung eines schlupffreien Embryos findet sich bei MURPHY (1922).

Da die Kenntnis der normalen Entwicklung notwendige Voraussetzung für die Deutung der experimentellen Befunde ist, eine Darstellung über die hier untersuchten Arten sowie Normentafeln über diese sowie auch für die übrigen Ephemeropterenarten noch fehlen, wird eine Schilderung der Morphogenese beider *Baëtis*-Arten an den Anfang gestellt (vgl. Tabelle 1).

Die Embryogenese beider Arten verläuft weitgehend gleich. Dennoch erscheinen an manchen Stellen für diese gattungsgleichen Arten bemerkenswert große Unterschiede; auch solche, die nicht unmittelbar mit dem Vorkommen der Dormanz bei *B. vernus* korreliert sind. Der Darstellung wird die dormanzfreie Entwicklung von *B. rhodani* zugrunde gelegt. Nur bei Ergebnissen, die ausschließlich an *B. vernus* gewonnen wurden oder bezüglich derer die Arten sich unterscheiden, soll im folgenden die Art jeweils genannt werden.

### a) Gestalt und Struktur des Eies

Die Eier beider *Baëtis*-Arten sind von symmetrisch-ovaler Form. Sie messen lebend einige Tage nach der Ablage durchschnittlich  $126 \times 160 \mu\text{m}$  bei *B. rhodani* und  $128 \times 165 \mu\text{m}$  bei *B. vernus*, sind auf Grund ihrer Größe also nicht zu unterscheiden (Mittelwerte für jeweils 30 Eier des gleichen Stadiums: Die Variationsbreite beträgt für *B. rhodani*  $110 \times 143$  bis  $120 \times 174 \mu\text{m}$  und für *B. vernus*  $126 \times 155$  bis  $126 \times 174 \mu\text{m}$ ). Das Chorion ist 2schichtig. Das Exochorion wird überall von feinen Poren durchsetzt, die senkrecht zur Oberfläche verlaufen, deren feinere Ausbildung aber bei den beiden Arten auffällig verschieden ist. *B. rhodani* hat enge Poren einheitlichen Durchmessers (unter  $1 \mu\text{m}$ ) und regelmäßiger Verteilung, während sie bei *B. vernus* ungleichmäßig groß und unregelmäßig angeordnet sind und bis zu  $2 \mu\text{m}$

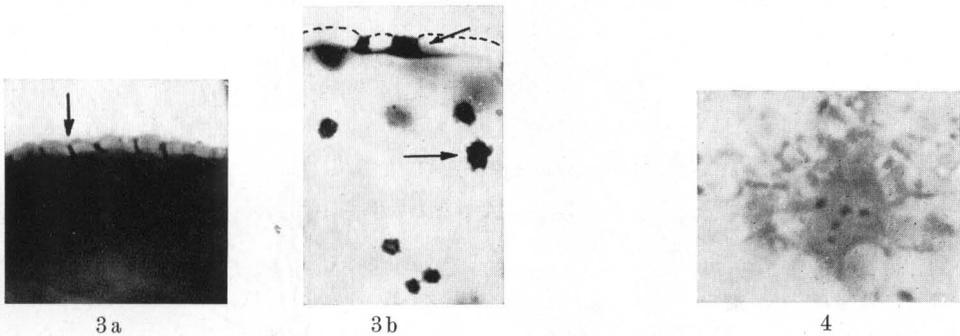


Abb. 3. Poren des Exochorions von a) *B. rhodani*: optischer Querschnitt, b) *B. vernus*: im oberen Teil optischer Querschnitt, die äußere Kontur ist punktiert ergänzt, im unteren Teil des Bildes Aufsicht auf das Chorion. Die Pfeile bezeichnen Poren, die durch Ansammlung von Thionin dunkel erscheinen. Vergr. etwa 500fach.

Abb. 4. *B. rhodani*, Richtungsplasma mit Chromosomen der Anaphase der 2. Reifungsteilung, optischer Schnitt senkrecht zur Spindelachse. Totalpräparat. Boraxkarmin. Vergr. etwa 1800fach.

im Durchmesser messen können (Abb. 3). Das Endochorion erscheint lichtmikroskopisch unstrukturiert und porenlos. Nach der Ablage sind die Eier zunächst weißlich opak. Durch eine Umfärbung des Chorions, die etwa innerhalb der ersten 3 Tage der Entwicklung geschieht und bei *B. vernus* stärker ausgeprägt ist, werden sie gelblich. Die Eier gehören zum plasmaarmen Typus: Ein Plasmaretikulum ist nur in Quetschpräparaten nach Quellung in Orceinessäure sichtbar, während ein sehr dünnes Ektoplasma sich auch an Totalpräparaten von Furchungsstadien erkennen läßt. Der Dotter enthält vorwiegend Lipoide, denn nach der Behandlung mit Alkohol und Xylol bleibt nur noch eine grobwabige Netzstruktur zurück.

Die Beurteilung mancher cytologischer Details wird schwierig, weil die Interphasekerne bis gegen Ende der Furchung bei beiden Arten nicht unmittelbar beobachtbar sind, sondern sich nur die ganze Energide durch stärkere Anfärbbarkeit mit basischen Farbstoffen aus der Umgebung heraushebt.)

#### b) Eireifung, Furchung und Blastodermbildung

Zum Zeitpunkt der Ablage enthalten die Eier am späteren Vorderpol das Richtungsplasma mit sehr lang gestreckten, dünnen, senkrecht zur Eioberfläche ausgerichteten Chromosomen. Wie eine Aufsicht auf den Eipol erkennen läßt, ist der haploide Chromosomensatz  $n = 5$  (Abb. 4). Eine Analyse der Vorgänge der Reifungsteilung gelang nur bei *B. vernus* an Quetschpräparaten. Die Reifungsteilungen führen aber bei *B. rhodani* zum gleichen Ergebnis und man darf annehmen, daß auch der Ablauf grundsätzlich der gleiche ist. Während in den früheren Stadien die Anzahl und Verteilung der Chromosomen nicht bestimmbar ist, wird im Laufe

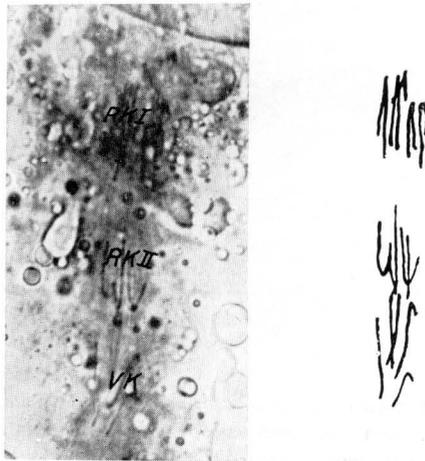


Abb. 5. *B. vernus*, Anaphase der 2. Reifungsteilung. Quetschpräparat, Orceinessäure. VK = Chromosomen des ♀ Vorkerns, RK I und RK II = Chromosomen des 1. und 2. Richtungkörpers. Vergr. etwa 1000fach.

der Anaphasebewegung von *B. vernus* eine Trennung in 3 von außen nach innen aufeinander folgende Gruppen sichtbar (Abb. 5). An der Eioberfläche liegt eine Gruppe von 10 Chromosomen, unregelmäßiger angeordnet als in den beiden übrigen. Die mittlere und innere Gruppe enthalten je 5 Chromosomen, welche im Laufe dieser Anaphasebewegung voneinander getrennt werden. Die äußeren 10 Chromosomen entsprechen dem 1., die mittleren 5 dem 2. Richtungskörper und die zu innerst gelegenen dem Eikern. Da an der Eioberfläche später 15 Chromosomen erscheinen, dürften 1. und 2. Richtungskörper sich miteinander vereinigen. Kurz nach der Ablage befinden die Eier sich demnach in der Anaphase der 2. Reifungsteilung (Abb. 5). Die sehr langgestreckte Form und die damit verbundene wenig kompakte Struktur der Chromosomen dieses Stadiums ist für die Reifungsteilungen charakteristisch.

Die fadenförmigen Spermien lassen sich bei frisch abgelegten Eiern gelegentlich in größerer Zahl auf der Oberfläche des Chorions auffinden. Schon  $\frac{1}{2}$  Std. nach Eiablage sind im Eiinnern regelmäßig 2, gelegentlich 3 Spermien nachweisbar, erkenntlich an dem mit Boraxkarmin kräftig rot gefärbten Schwanzfaden, an dessen Vorderende eine Energide ausgebildet ist. Die Lage der Spermien läßt eine Regel nicht erkennen: Sie können in unterschiedlichem Abstand voneinander und in verschiedenen Regionen des Dotters vorkommen. Da sie sich zu dieser Zeit nicht mehr nahe der Eioberfläche befinden, ist ein Rückschluß auf den Ort des Eindringens ebenfalls nicht möglich. Poren im Endochorion, die als Mikropylen dienen können, wurden von mir nicht beobachtet, doch berichtet DEGRANGE (1960) für 3 *Baëtis*-Arten

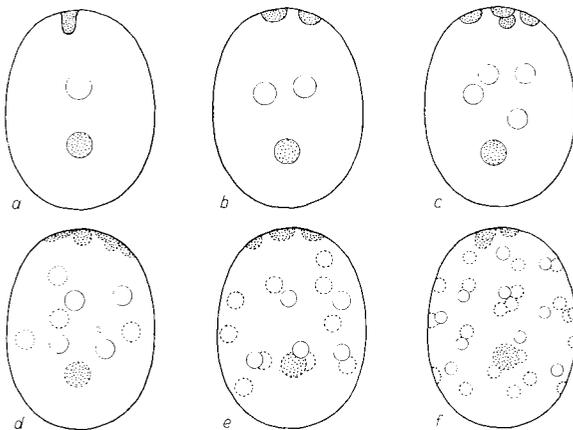


Abb. 6. *B. rhodani*, Übersicht über den Verlauf der Furchung (halbschematisch). Flächig punktiert, polar: aus den Richtungskörpern hervorgegangene Energiden. Flächig punktiert, im Eiinnern gelegen: überzählige Spermienenergide. Übrige: Furchungenergiden: ausgezogen umrandet: in der oberen Eiregion, gestrichelt umrandet: in tieferen Ebenen gelegen. a) Nach Abschluß der Reifungsteilungen, vor Beginn der Furchung b–f) Stadium mit 2, 4, 8, 16 und 32 Energiden. Bei e) und f) ist jeweils eine Energide von den übrigen verdeckt.

Tabelle 1 Normentafel der Eientwicklung von *Baëtis rhodani* (Pictet) und *Baëtis vernus* CURTIS für 6,8 °C

Zeit nach Eiablage Tage/Std.		<i>Baëtis rhodani</i>		<i>Baëtis vernus</i>		Abb. Nr.	
Nr.	Bezeichnung	Stadienbeschreibung	Abb. Nr.	Stadien <sup>1</sup>	Bezeichnung	Stadienbeschreibung	Abb. Nr.
0 3	—	Am späteren Vorderpol des Eies gelegenes Richtungsplasma mit 2. Reifungsteilung (Anaphase).	4	—	—	—	—
0 5	Reifungsteilung und Zygotenbildung	Gleichzeitig mit Zygotenbildung Entstehung einer polaren Energie mit 15 (Verschmelzungsprodukt des 1. und 2. Richtungskörpers) und einer Nachfolgeenergie eines 2. Spermiums mit 5 Chromosomen im Innern des Dotters	6a	—	—	—	—
0 9	1 Furchung	1. Furchungsschritt	6b	—	Reifungsteilung und Zygotenbildung	wie bei <i>B. rhodani</i>	5
0 13	—	2. Furchungsschritt	6c	—	—	—	8
0 15	—	3. Furchungsschritt	6d	1	Furchung	1. Furchungsschritt	11
0 19	—	4. Furchungsschritt	6e	—	—	—	—
0 22	—	5. Furchungsschritt: Energidien erreichen Dotteroberfläche	6f	—	—	—	—
1 1	—	6. Furchungsschritt	—	—	—	2. Furchungsschritt	—
1 6	2 Blastoderm	Dünnes Epithel mit flach auf der Oberfläche des Dotters ausgebreiteten Kernen. Dotterkontraktion gibt am	12, 13	—	—	3. Furchungsschritt	—

2	2	Hinterpol des Eies Raum für die Keimanlage frei							
2	22								5. Furchungsschritt: Energiden erreichen Dotteroberfläche
3	3	Frühe Keimanlage	14	2	Blastoderm				6. Furchungsschritt wie bei <i>B. rhodani</i> , Stadium 2
5		Keimanlage kontrahiert, aus einer Schicht hoher, prismatischer Zellen bestehend	15						
6	4	Amnionbildung	19, 20, 21	3	Frühe Keimanlage				Wie bei <i>B. rhodani</i> , Stadium 3, Zellen jedoch niedriger, annähernd isodiametrisch und lockerer geordnet
7	5	Keimstreifbildung	22						
		Verlängerung der kalottenförmigen Keimanlage zum 2schichtigen Keimstreif, der an der Oberfläche des Dotters an der Dorsalseite des Eies liegt	24, 25						

1) Angegeben sind die Werte für jeweils ein Gelege mittlerer Entwicklungsgeschwindigkeit. Die Unterschiede der Entwicklungsgeschwindigkeit verschiedener Gelege derselben Art sind groß: Zum Beispiel wurde das Stadium 8 in 3 verschiedenen Gelegen von *B. vermus* nach 28, 32 und 35 Tagen erreicht. Mit dem Fortschreiten der Entwicklung nimmt auch die Streuung der Entwicklungsdauer innerhalb eines Geleges zu.

## Fortsetzung von Tabelle 1

Zeit nach Eiablage Tage/Std.	<i>Baëtis rhodani</i>		<i>Baëtis vernus</i>		Abb. Nr.	Stadien <sup>1)</sup>	Bezeichnung	Stadienbeschreibung	Abb. Nr.
	Nr.	Bezeichnung	Nr.	Bezeichnung					
8	6	Einsenkung des Keim- streifs	26, 27	4	Amnionbildung	wie bei <i>B. rhodani</i> , Stadium 4	23		
12	7	Extremitäten- anlagen	28	5	Keimstreif- bildung	wie bei <i>B. rhodani</i> , Stadium 5			
13				6	Einsenkung des Keimstreifs	wie bei <i>B. rhodani</i> Stadium 6			
16	8	Vollendung der Körper- grundgestalt	29						

des Labrums, der Cerei und der Palpen an Labium und Maxille, schleifenförmige Lagerung der jetzt gegliederten Thoraxextremitäten



7 Extremitätenanlagen wie bei *B. rhodani*, Stadium 7

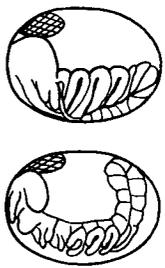
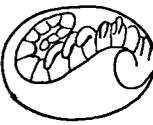
18

29 N 9 Ausrollung und nachfolgende Kontraktion

Ausrollung des Embryo um den Dotter, dabei Erreichen der endgültigen Lage im Ei.  
 Ausbildung eines sekundären Dorsalorgans aus Amnion und Serosa. Anschließend Kontraktion des Embryos auf seine endgültige Länge: „Nachausrollungs-Kontraktion“ : N 9

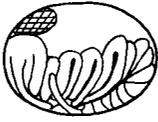
30,  
31

Fortsetzung von Tabelle 1

Zeit nach Eiablage Tage/Std.		<i>Baëtis rhodani</i> Stadien <sup>1)</sup>		<i>Baëtis vernus</i> Stadien <sup>1)</sup>			
Nr.	Bezeichnung	Stadienbeschreibung	Abb. Nr.	Nr.	Bezeichnung	Stadienbeschreibung	Abb. Nr.
32				8	Vollendung der Körpergrundgestalt	wie bei <i>B. rhodani</i> , Stadium 8	
							
38	10	Differenzierung der Organanlagen	Mitteldarmanlage in Form paariger Zellstreifen, Organ-differenzierung, Auflösung des sekundären Dorsalorgans, Rückenschluß	D 9	Kontraktion, später nachfolgende Ausrollung	Kontraktion und Ausklappen des distalen Teils des Abdomens; „Vorausrollungs-Kontraktion“; D 9 Weiteres Wachstum und zunehmende Differenzierung des Embryos ohne vorhergehende Ausrollung; Verlängerung der Extremitätenanlagen, Differenzierung des Kopfklappens zur Kopfkapsel, Mitteldarmanlage. Sistierung der Morphogenese; Diapause	34
46	11	fast schlüpfreifer Embryo	Bildung der pigmentierten Augenanlagen und Entwicklung bis zum Schlüpfen				

35,  
36,  
37

Nach Abschluß der Dia-  
pause: Ausrollung, Be-  
wegungsverlauf wie bei  
*B. rhodani*



wie bei *B. rhodani*,  
Stadium 10

10 Differenzie-  
rung der Or-  
gananlagen

wie bei *B. rhodani*,  
Stadium 11

11 Fast schlüpf-  
reifer Embryo

ca.  
140

ca.  
150

ca.  
156

von jeweils 2 engen, kanalförmigen Mikropylen im Endochorion an der Längsseite des Eies. Spätestens 3 Std. nach Ablage haben sich die Energiden in der aus Abb. 6a hervorgehenden Art geordnet. In 6 Std. alten Eiern sind alle Chromosomen verschwunden. An Stelle des zapfenförmig in den Dotter hineinragenden Richtungsplasmas ist ein dünner, oberflächlicher Plasmasaum entstanden, dessen Stärke nur wenig über die des übrigen Periplasmas hinausgeht und der sich nur durch etwas stärkere Färbbarkeit mit basischen Farbstoffen hervorhebt.

Der zeitliche Ablauf der Furchung ist der Tabelle 1 zu entnehmen (Stadium I). Die Furchungsenergiden enthalten bei beiden Arten 10 etwa gleich lange Chromosomen mit endständigem Centromer. Die Länge der Chromosomen ist erheblich geringer als in der Reifungsteilung (Abb. 7). Ob darunter ein Homologenpaar ungleicher Länge war, ein Paar Geschlechtschromosomen, wie sie WOLF (1960) bei *Cloëon* fand, ließ sich an den untersuchten Stadien nicht feststellen. Die Mitosen verlaufen weitgehend synchron. In späteren Furchungsstadien kann man auf Grund der Verteilung ihrer Phasen im Ei erkennen, daß die Mitosenwellen vom Hinter- zum Vorderpol sich ausbreiten.

Erst mit der Bildung des Blastoderms weicht dieser Ablauf einer anscheinend regellosen Asynchronie.

Der Synchronie der Furchung folgen die Energiden des Richtungsplasmas und die überzählige Spermienenergide. In der Region des Richtungsplasmas erscheinen gleichzeitig mit dem 1. Furchungsschritt jene 15 Chromosomen, welche als Verschmelzungsprodukt der beiden Richtungskörper entstanden (Abb. 8). Sie teilen sich normal mitotisch unter Bildung von 2 Tochterenergiden, ein Vorgang, der sich bei jeder Furchung wiederholt. Bei der Verteilung scheinen allerdings Unregelmäßigkeiten vorzukommen, denn manche der Folgekerne enthalten um 1—2 von 15 abweichende Chromosomenzahlen. Alle auf diese Weise entstandenen

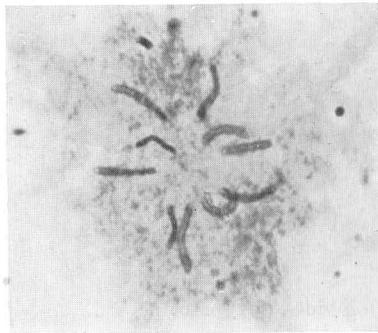


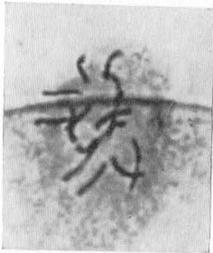
Abb. 7. *B. rhodani*, Metaphase einer Furchungsenergide. Quetschpräparat, Orceinessäure. Vergr. etwa 1000fach.

Energiden bleiben an der Oberfläche in der Nähe des Vorderpols des Eies. Bei *B. rhodani* verschmelzen sie nach den ersten Mitosen zu 3—6 polyploiden Aggregationen von Chromosomen, die sich anscheinend endomitotisch weiter vermehren (Abb. 9). Bei *B. vernus* läuft dieser Verschmelzungsprozeß anfangs weniger intensiv ab, setzt aber spätestens nach der 4. Furchung ein. Zur Zeit, in der das Blastoderm entsteht, verschmelzen hier die polaren Kerne zu etwa 10 Riesenkernen. Ob sich daran außer den Richtungskörperabkömmlingen Kerne aus der Furchung beteiligen, ist nicht zu entscheiden, weil beide Formen zu dieser Zeit etwa gleich aussehen. In diesem Stadium werden die polaren Kerne auch in der Interphase von Boraxkarmin kräftig tingiert, und ihr Inhalt erscheint granuliert, so daß sie neben den übrigen sehr auffallen. Das muß man als Anzeichen beginnender pyknotischer Entwicklung deuten.

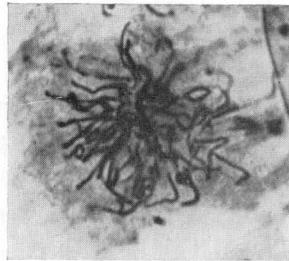
Im späten Blastodermstadium lösen sich die polaren Riesenkern bei beiden Arten auf. Sie werden stark vergrößert, zeigen unregelmäßige, gelappte Konturen und grob granulierten mit Boraxkarmin kräftig gefärbten Inhalt (Abb. 10). Auch die solitäre Spermienenergide verschwindet etwa gleichzeitig.

In der Energide des 2., überzähligen Spermiums treten bei jeder Furchungswelle 5 Chromosomen hervor, die in je 2 Chromatiden längs gespalten sind und sich nach der Art einer Metaphasenplatte ordnen (Abb. 11). In jeder Interphase verschwinden sie wie die Chromosomen der Furchungsenergiden, und an ihrer Stelle bleibt ein mit basischen Farbstoffen schwach tingierbarer Plasmahof zurück.

WOLF (1960) beschreibt für *Cloëon dipterum* ebenfalls einen polaren zunächst triploiden, später polyploiden Riesenkern und vermutet, daß er aus den Richtungskörpern hervorgegangen sei. WOLF konnte auch die Auflösung des Kerns unter Chromosomenzerfall nachweisen und hält ihn für ein „trophisches Organell“, vergleichbar mit Vitellophagen. Ebenso gibt es bei *Cloëon* den im Innern des Dotters gelegenen, primär haploiden Kern. WOLF erwähnt die — nunmehr bewiesene — Möglichkeit, daß er durch regelmäßige Dispermie entstehen könne, hält dies aber



8



9

Abb. 8. *B. vernus*, Nachfolgeenergide der Richtungkörper mit 15 Chromosomen (14 erkennbar). Quetschpräparat, Orceinessigsäure. Vergr. etwa 1000fach.

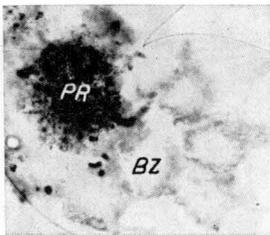
Abb. 9. *B. rhodani*, Polyploide, polare Riesenergide (Nachfolgeenergide der Richtungkörper), Quetschpräparat, Orceinessigsäure. Vergr. etwa 1000fach.

für wenig wahrscheinlich. Anders als bei *Baëtis* soll bei *Cloëon* auch dieser Kern später polyploid werden.

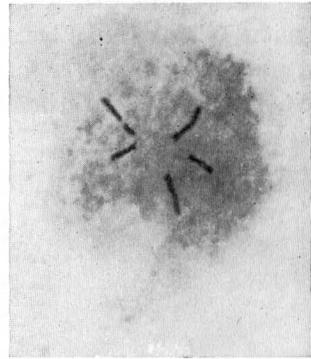
Im ganzen stimmen die geschilderten, mit der Furchung gekoppelten Vorgänge bei *Cloëon* und den beiden *Baëtis*-Arten annähernd überein. Das gilt auch für die Chromosomenzahl. Bei *Ephemera strigata* dagegen fehlen nach der Abbildung bei ANDO und KAWANA (1956) die überzähligen polaren und zentralen Energiden. Es erscheint erwähnenswert, daß die Gattungen *Baëtis* und *Cloëon* als Angehörige derselben Familie untereinander näher verwandt sind als mit der Gattung *Ephemera*.

Die ersten Furchungsenergiden verbreiten sich entsprechend der Lage der Zygote in der vorderen Eihälfte und erreichen den Bereich des Hinterpols nach dem 4. (Abb. 6e), die Dotteroberfläche nach dem 5. Teilungsschritt (Abb. 6f). Der Bereich des Vorderpols mit den polyploiden Riesenkernen wird zunächst von der Besiedlung ausgenommen. Im Innern des Dotters bleiben in der Regel außer der Spermienenergide 2 Provitellogophagen zurück. Sie nehmen an der folgenden 6. Mitose noch teil. Nach der Entstehung des Blastoderms wurden Mitosen der Vitellogophagen nicht mehr beobachtet.

Zur Bildung des Blastoderms (Tabelle 1, Stadium 2, vgl. auch Abb. 10) platten sich die Energiden an der Oberfläche ab. Es entsteht ein feiner Plasmasaum (Abb. 12), in dem die flach ausgebreiteten Kerne liegen. An Stellen mit Mitosen verstärkt sich dieser Saum vorübergehend (Abb. 13). Mit Hilfe der Thioninfärbung wird sichtbar, daß die Blastodermzellen ein zwar sehr dünnes, aber geschlossenes Epithel bilden, welches inzwischen auch die polaren Riesenkern eingeschlossen hat.



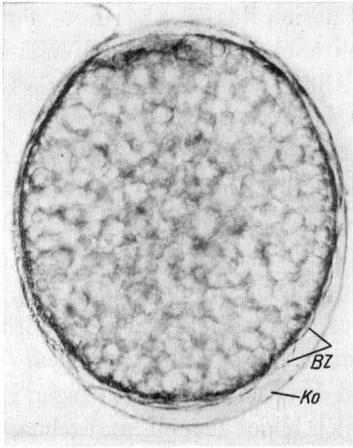
10



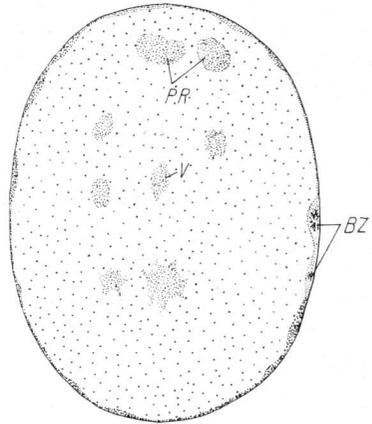
11

Abb. 10. *B. rhodani*, Auflösung der polaren Riesenergide, gekennzeichnet durch das Auftreten von Chromatinbruchstücken und basophilen Körnern. Daneben ist die Felderung des Blastoderms sichtbar. Quetschpräparat, Orceinssäure. PR = Polare Riesenergide, BZ = Blastodermzelle. Vergr. etwa 500fach.

Abb. 11. *B. vernus*, Chromosomen der überzähligen Spermienenergide, Quetschpräparat, Orceinssäure. Vergr. etwa 1000fach.



12



13

Abb. 12. *B. rhodani*, Blastoderm, Beginn der Dotterkontraktion. Lebendaufnahme, optischer Schnitt. BZ = Blastodermzelle, Ko = Kontraktionshöhle. Vergr. etwa 540fach.

Abb. 13. *B. rhodani*, Blastoderm (Entwicklungsstadium 2 nach Tabelle 1). PR = Polare Riesenergide, BZ = Blastodermzellen, V = Vitellophagen. Vergr. etwa 320fach.

Dieses steht im Gegensatz zum Befund WOLFS an *Cloëon*, doch ist es dort möglicherweise infolge ungünstiger Färbemethode übersehen worden (WOLF 1960).

### c) Die Entstehung der Keimanlage

Die Kerne in den verschiedenen Regionen des Blastoderms unterscheiden sich nach Form und Größe nicht. Der Beginn der Keimanlagenbildung manifestiert sich als Erhöhung der Kerndichte in der hinteren Eihälfte. Es entsteht eine einschichtige Kalotte unregelmäßiger Begrenzung (Abb. 14), die anfangs bis zu zwei Drittel der Eioberfläche bedeckt (Stadium 3, Tabelle 1). Der Plasmasaum in diesem Bereich verdickt sich, und eine polygonale Abgrenzung der Zellen gegeneinander wird sichtbar (vgl. Abb. 10). Gleichzeitig fängt die Keimanlage an, sich zu kontrahieren, so daß sie am Ende nur noch einen Bruchteil ihrer Ausgangsgröße besitzt. Es entsteht ein kappenförmiges Gebilde, welches dem Dotter am Eihinterende aufliegt und aus einer Schicht zylindrischer Zellen besteht (Abb. 15, vgl. Abb. 20).

Neben den Mitosen spielt die Zusammenscharung der Blastodermzellen eine Rolle für die Kernvermehrung im Bereich der Keimanlage: Gleichzeitig mit der Verdichtung am Hinterpol des Eies werden die in der vorderen Eihälfte gelegenen Kerne stark abgeflacht, so daß sie oft nicht sicher zu entdecken sind, und ihre Dichte wird dort etwas geringer. Mitosen gibt es nach dem Beginn der Keimanlagenbildung im präsumptiven Serosabereich nicht mehr.

Wie man bei Lebendbeobachtung erkennt, kontrahiert sich noch vor der sichtbaren Kernscharung der gesamte Eihalt, so daß am Vorder- und, meist

stärker, am Hinterpol zwischen Blastoderm und Chorion flüssigkeitserfüllte, dotterfreie Räume entstehen (vgl. Abb. 12). Sie bleiben auch, während die Keimanlage sich herausdifferenziert, anfangs noch erhalten (Abb. 14); später werden sie weitgehend verdrängt.

Da die Konturen der Blastodermkerne bei *B. rhodani* nicht so gut erkennbar sind wie bei *B. vernus*, sind die Voraussetzungen für die Beobachtung ihrer Differenzierung hier günstiger. So erkennt man, daß gleichzeitig mit der einsetzenden Zusammenscharung die Kerne der Serosa schnell größer werden, während die der Keimanlage noch etwa den Umfang der Blastodermkerne beibehalten (Abb. 16, 17). Die Serosakerne erreichen 8—9  $\mu\text{m}$  Längsdurchmesser gegenüber 4—5 in der frühen Keimanlage bei ungefähr gleichem Querdurchmesser. Abweichend von dem Vorgang bei *B. rhodani* lockert der epitheliale Verband der Keimanlage sich gegen Ende der Kontraktion auf. Besonders im zentralen Bereich bildet sich ein unregelmäßiger Blastomerenhaufen, dessen Kerne kugelige Gestalt haben (Abb. 18). Bei *B. rhodani* bleibt der Epithelverband dagegen erhalten mit seinen hohen prismatischen Zellen und lang gestreckten Kernen (Abb. 19, vgl. auch Abb. 15).

Das Amnion entsteht bei beiden Arten vom Rand der scheibenförmigen Keimanlage aus (Stadium 4, Tabelle 1). Dieser faltet sich auf, wächst und schließt sich blendenartig etwa über dem Zentrum der darunter liegenden Keimschicht. Dabei wird die mit dem Umschlagsrand verwachsene Serosa mitgezogen (Abb. 20 und 21).

Vor und während der Amnionbildung findet man im Dotter viele kleine Kerne, gehäuft unmittelbar unter der Keimanlage, aus deren Zellverband sie ausgewandert

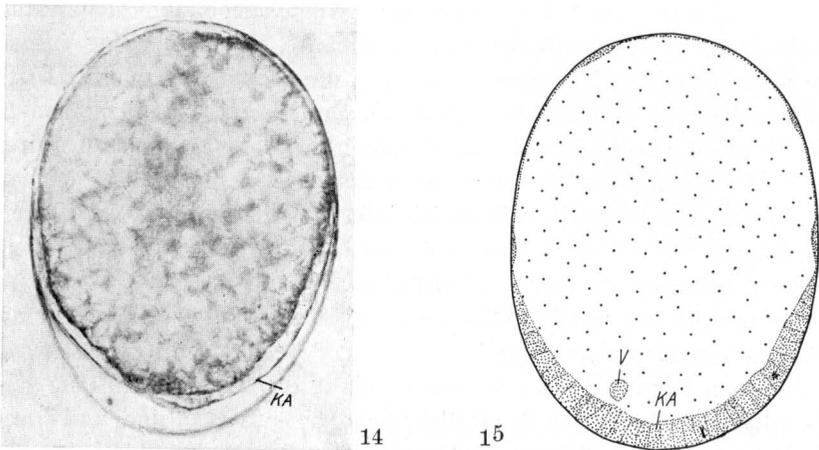


Abb. 14. *B. rhodani*, Beginn der Keimanlagenscharung, Dotter stark kontrahiert. Lebendaufnahme. Optischer Schnitt. KA = Keimanlage. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 15. *B. rhodani*, Einschichtige Keimanlage, medianer, optischer Schnitt (Entw.-stad. 3). KA = Keimanlage, V = Vitellophage. Vergr. etwa 320fach.

sein müssen (sekundäre Vitellophagen in Abb. 18). Sie sind durch geringe Größe und vorwiegend randliche Boraxkarminfärbung von Keimanlagenkernen zu unterscheiden. Sie vereinigen sich teilweise zu Kernhaufen und verschmelzen miteinander. Man kann sie als sekundäre Vitellophagen ansehen (Paracyten im Sinne HEYMONS 1895). Ihr weiteres Schicksal ist nicht bekannt.

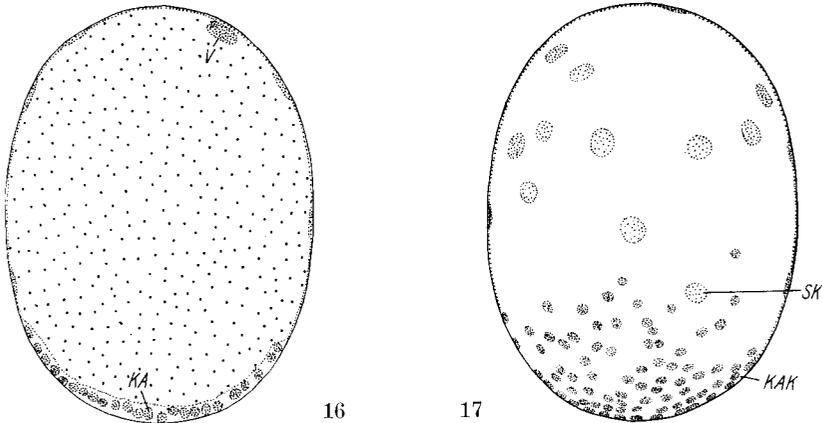


Abb. 16. *B. vernus*, Einschichtige Keimanlage, medianer optischer Schnitt. Bezeichnungen wie in Abb. 14. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 17. *B. vernus*, Stadium wie in Abb. 16, Aufsicht auf die Oberfläche. SK = Serosakerne, KAK = Keimanlagekerne. Vergr. etwa 320fach.

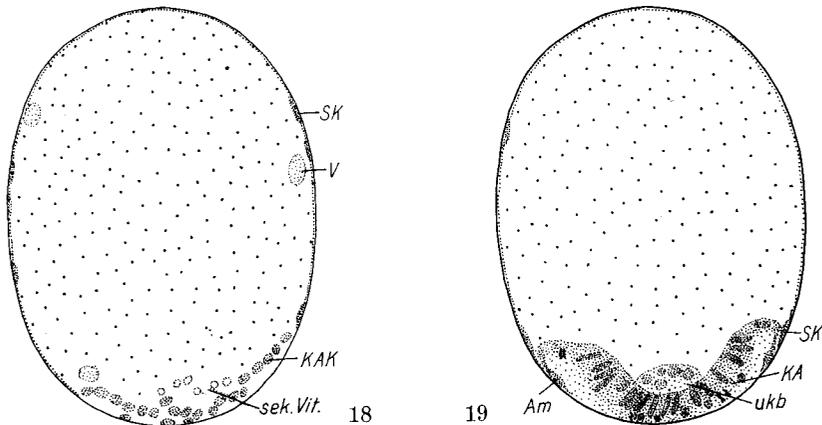
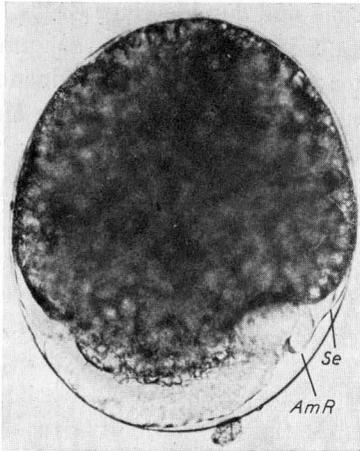
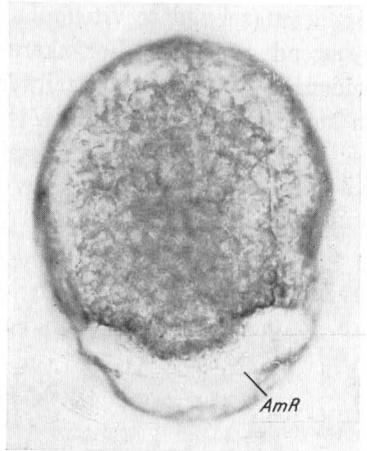


Abb. 18. *B. vernus*, Keimanlage in ihrer geringsten Ausdehnung vor Beginn der Amnionbildung (Entw.-stad. 3, vgl. Tabelle 1). Medianer optischer Schnitt. SK = Serosakerne, KAK = Keimanlagenkerne, sek. Vit. = sekundäre Vitellophagen, V = Vitellophagen. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 19. *B. rhodani*, Keimanlage mit Amnion. Beginnende mediane Unterlagerung durch das untere Keimblatt (Entw.-stad. 4, vgl. Tabelle 1). Optischer Querschnitt. Am = Amnion, SK = Serosakerne, KA = Keimanlage, UKb = unteres Keimblatt. Vergr. etwa 540fach.



20



21

Abb. 20. *B. rhodani*, Beginn der Amnionbildung. Lebendaufnahme, etwa medianer optischer Schnitt zur Darstellung der Amnionbildung. Se = Serosa, AmR = Amnionrand. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 21. Wie in Abb. 20, Einstellebene paramedian. Der Vorderrand des Amnions ist als Kontur über der Keimanlage sichtbar (AmR). Vergr. etwa 320fach.

#### d) Bildung des Keimstreifs und Differenzierung bis zur Vollendung der Körpergrundgestalt

Der Keimstreif bildet und differenziert sich bei beiden Arten gleich. Er entsteht aus der scheibenförmigen Keimanlage durch einseitiges Wachstum längs der Oberfläche der dorsalen Seite des Dotters in Richtung zum Vorderpol des Eies und erhält auf diese Weise zungenförmige Gestalt. Der am Hinterpol verbleibende Teil gliedert sich in die paarigen Kopflappen (vgl. Abb. 26) (Stadium 5, Tabelle 1).

Während die Keimanlage sich zu strecken beginnt, wird, etwas exzentrisch gelegen, eine trichterförmige Vertiefung sichtbar, an welcher der vordere Teil des Keimstreifs sich etwas gegen den hinteren abzusenken scheint (Abb. 22, Gr.). Diese Bildung tritt am deutlichsten in dem aus hoch zylindrischen Zellen bestehenden Epithel von *B. rhodani* hervor. Sie fehlt aber auch nicht bei *B. vernus*, wo sie nur unter den unregelmäßiger gelagerten Blastomeren weniger auffällt (Abb. 23). Noch bevor sich diese Vertiefung voll differenziert hat, ordnen sich einige Kerne zur ersten Anlage des unteren Keimblatts (Abb. 19, 22, 23). Dieses vergrößert sich, unterlagert den größten Teil der Keimanlage und wächst bei der Verlängerung des Keimstreifs fortlaufend mit, so daß es bereits kurz hinter dem caudalen Ende auftaucht. Die trichterförmige Vertiefung läßt auf Grund ihrer Form und nach Ort und Zeitpunkt ihrer Entstehung die Bildung des unteren Keimblatts durch Einwanderung von Zellen an dieser Stelle vermuten. Die untersuchten gefärbten Totalpräparate ermöglichen aber eine eindeutige Bestätigung dieser Annahme nicht.

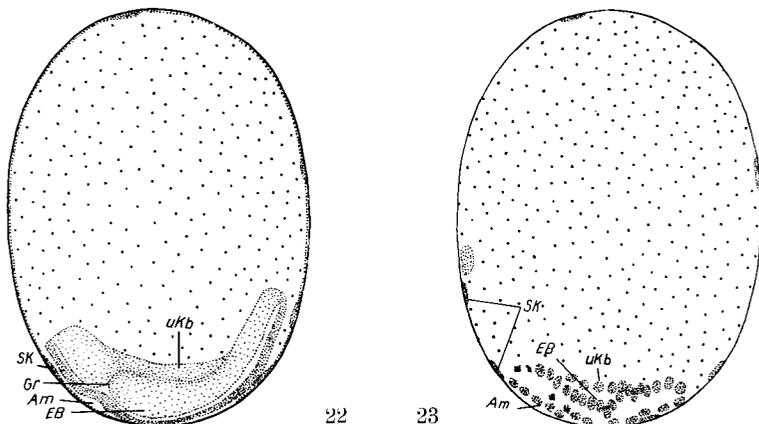


Abb. 22. *B. rhodani*, Keimanlage bei beginnender Verlängerung zum Keimstreif mit Amnion und unterem Keimblatt. (Entw.-stad. 4, vgl. Tabelle 1). Optischer Längsschnitt. Am = Amnion, EB = Ektoblastem, Gr = Grubenartige Einsenkung im Keimstreif, SK = Serosakern, UKb = unteres Keimblatt. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 23. *B. vernus*, Keimanlage mit Amnion und beginnender Bildung des unteren Keimblatts (Entw.-stad. 4, vgl. Tabelle 1). Optischer Längsschnitt. Am = Amnion, EB = Ektoblastem, SK = Serosakern, UKb = unteres Keimblatt. Vergr. etwa 320fach.

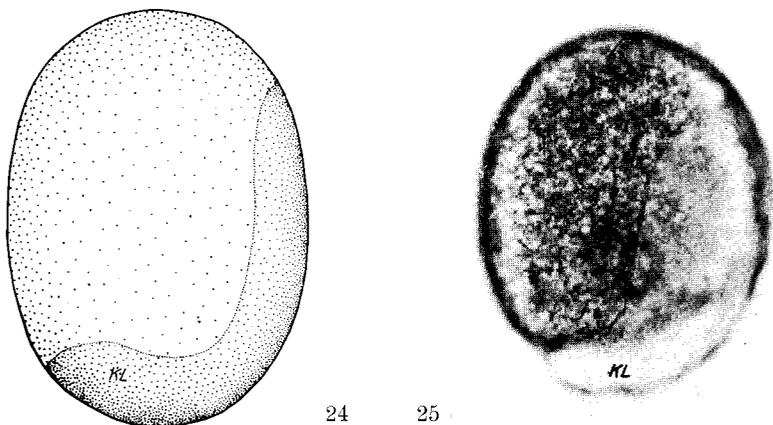


Abb. 24. *B. rhodani*, Keimstreif in seiner größten Ausdehnung an der Eioberfläche (Entw.-stad. 5, vgl. Tabelle 1). Aufsicht auf die Eioberfläche. KL = präsumptiver Kopflappenbereich: die Abgrenzung des Kopflappens ist noch nicht erfolgt. Vergr. etwa 320fach.

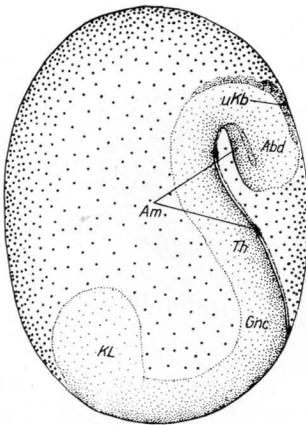
Abb. 25. *B. rhodani*, Aufsicht auf die rechte Seite des Keimstreifs an der Eioberfläche vor der Einsenkung. Lebendaufnahme. KL = Kopflappenbereich, noch nicht gegen den übrigen Keimstreif abgegrenzt. Vergr. etwa 320fach.

ANDO und KAWANA (1956) geben für *Ephemera strigata* an, daß das Mesoblastem durch Delamination entstehe.

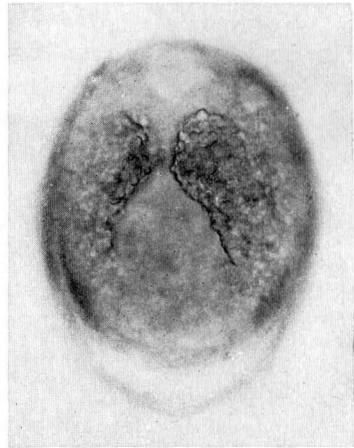
Wenn der Keimstreif etwa zwei Drittel der Eilänge erreicht hat (Abb. 24, 25), beginnt die Blastokinese. Es handelt sich bei *Baëtis* nicht um einen Einrollungsprozeß, sondern um ein Einsinken und Hineinwachsen in den Dotter. Die inzwischen herausgebildeten Kopflappen und der präsumptive Anlagenbereich für die Mandibeln und ersten Maxillen behalten ihre Lage an der Oberfläche bei. Der zwischen dieser Zone und dem caudalen Ende liegende Teil verlängert sich und senkt sich dabei schleifenförmig in den Dotter ein (Stadium 6, Tabelle 1). Der Dotter wird in diesem Bereich zunächst auseinandergedrängt und schließt sich später wieder über dem Keimstreif (Abb. 26 und 27). Nach weiterem Wachstum löst sich der caudale Teil von der Oberfläche, rollt sich spiralgig ein und legt sich unter die Dorsalseite des vorhergehenden Abschnitts (Abb. 26, 28, 29). Zu Anfang der Blastokinese treten ähnlich wie zur Zeit der Amnionbildung Kerne aus dem Blastem in den Dotter ein.

Noch vor der Segmentierung des Keimstreifs bildet sich eine mediane, schmale Rinne in seiner Ventralseite, in der eine wenige Zellen breite Zone absinkt. Es dürfte sich um die Differenzierung der Neuralanlage handeln.

Die Segmentierung wird am frühesten im präsumptiven Thoraxbereich sichtbar. Zwar erscheint in einigen Präparaten die Grenze zwischen Labium und Pro-



26



27

Abb. 26. *B. rhodani*, der Keimstreif beginnt, sich in den Dotter einzusenken (Entw.-stad. 6, vgl. Tabelle 1). Abd = Präsumptiver Abdominalteil des Keimstreifs, Am = Amnion, Gnc = Präsumptiver Gnathocephalonbereich des Keimstreifs, KL = Kopflappen, bereits vom übrigen Keimstreif abgesetzt, Th = Präsumptiver Thorakalbereich, UKb = im Abdominalbereich sichtbares unteres Keimblatt. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 27. *B. rhodani*, Aufsicht auf die Dorsalseite des Eies, Beginn der Einsenkung des Keimstreifs (Kstr). Die Pfeile deuten die Bewegungsrichtung des Dotters an. Lebendaufnahme. Vergr. etwa 320fach.

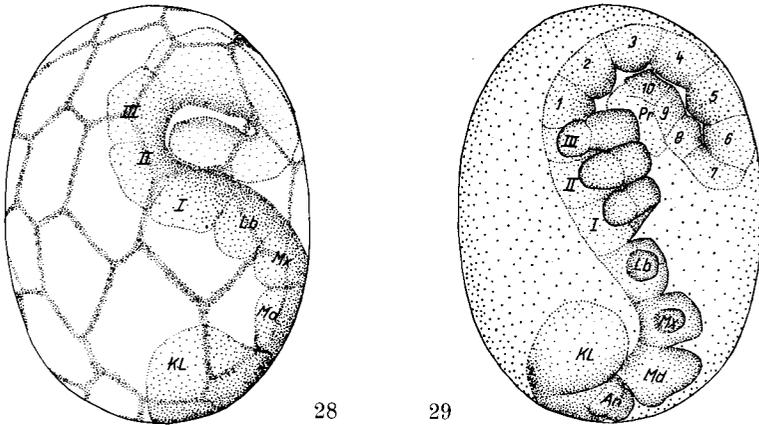


Abb. 28. *B. rhodani*, Gnathocephalon und Thorax segmentiert und mit Extremitätenknospen, Oberflächenfelderung (Entw.-stad. 7, vgl. Tabelle 1). KL = Kopflappen, Lb = Labial-, Md = Mandibel-, Mx = Maxillensegment, die römischen Ziffern bezeichnen die Thorakalsegmente. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 29. *B. rhodani*, vollständig segmentierter Keimstreif mit allen Extremitätenanlagen: fertige Körpergrundgestalt (Entw.-stad. 8, vgl. Tabelle 1). An = Antennenanlage, Lb = Labialanlage mit Labialtaster, Md = Mandibelanlage, Mx = Maxillaranlage mit Maxillartaster, KL = Kopflappen, Pr = Blastem, in dem später das Proctodaeum ausgebildet wird, I–III = Thorakalsegmente mit gegliederten Extremitätenanlagen. 1–10 = Abdominalsegmente, die proximalen 3 mit Extremitätenknospen. Vergr. etwa 320fach.

thorax besonders deutlich, doch ist dieser Entwicklungsvorsprung nicht sicher nachweisbar. Die Segmentierung schreitet anschließend schnell über das Gnathocephalon und langsamer und etwas später nach caudal über das Abdomen fort, das sich gleichzeitig noch verlängert. Das untere Keimblatt gliedert sich unterdessen ebenfalls segmental. Der Segmentierungsbeginn charakterisiert den präsumptiven Thoraxbereich morphologisch als Differenzierungszentrum (SEIDEL 1924, 1935, 1961).

Extremitätenknospen erscheinen zuerst an Gnathocephalon und Thorax (Stadium 7, Tabelle 1) (Abb. 28). Darauf folgen jene des Abdomens, von denen nur die ersten 3 Paare groß genug werden, um sie an Totalpräparaten eindeutig feststellen zu können. Während diese Prozesse zum Abschluß kommen, entstehen die Anlagen der Antennen, des Stomodaeums und des Labrums. Das Proctodaeum bildet sich nach der Beendigung der Segmentierung des Abdomens etwa gleichzeitig mit den Cerci. Unterdessen wachsen und differenzieren sich die Extremitätenknospen an Gnathocephalon und Thorax: Es entstehen die Anlagen der Palpen an Labium und Maxille. Die 3 Beinpaare verlängern und gliedern sich in Abschnitte und legen sich dabei schleifenförmig lateral dem Embryo an (Abb. 29) (Stadium 8, Tabelle 1). Mit diesen Vorgängen ist die Bildung der Körpergrundgestalt (SEIDEL 1935, 1960) abgeschlossen.

In den mit Thionin gefärbten Eiern wird kurz nach dem Beginn der Einsenkung des Keimstreifs auf der Oberfläche des Dotters ein Netz aus blau tingierten Plasmasträngen sichtbar, das unregelmäßig polygonale Flächen umschließt (Abb. 28). Inmitten einer derartigen Fläche liegt jeweils ein Serosakern. Dieses Muster erinnert an eine Dotterfurchung, wie sie für verschiedene hemimetabole Insekten beschrieben wurde und wie sie auch ANDO und KAWANA (1956) für *Ephemera strigata* abbilden. Nur fehlen bei dieser innerhalb der polygonalen Felder die Kerne. Die auf der Oberfläche ausgebildeten Grenzsäume lassen sich nicht bis ins Innere des Dotters verfolgen. Die Struktur verschwindet wieder, nachdem sich die Gliedmaßenknospen ausgebildet haben. Im Leben wurde sie nicht beobachtet.

e) Kontraktion und Ausrollung des Embryos,  
Abschluß der Embryogenese

Bei der Ausrollung oder Katatrepsis wandert der Embryo um den Hinterpol des Eies herum (Abb. 30) und erreicht seine definitive Lage auf dessen Ventralseite. Die Kontraktion des Keimstreifs verringert seine Länge etwa um die Hälfte. Sie tritt verbunden mit der Ausrollung auf, jedoch bei den beiden *Baëtis*-Arten in unterschiedlicher zeitlicher Beziehung, bedingt durch das ausschließliche Auftreten einer Dormanz bei *B. vernus* (Stadium 9, Tabelle 1).

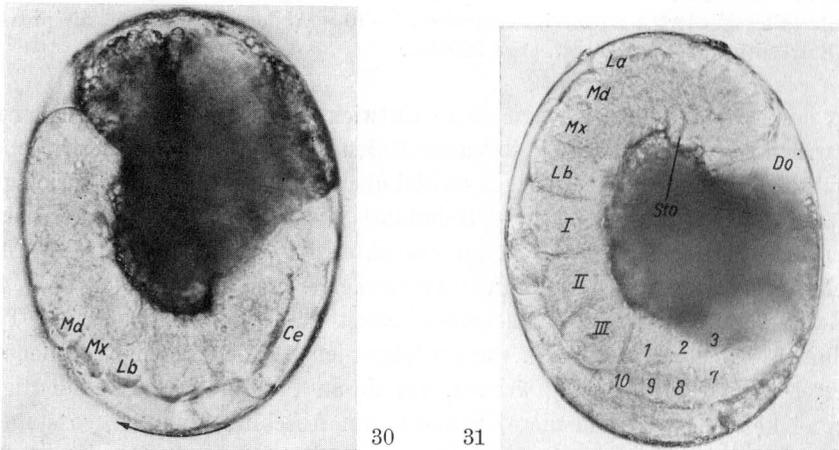


Abb. 30. *B. rhodani*, Katatrepsis. Lebendaufnahme, etwas paramedian. Abd = Abdomen, noch weitgehend im Dotter verborgen und nur als hellere Zone durchschimmernd, Ce = Cercus, Lb = Labium, Md = Mandibel, Mx = Maxille, I—III = 1.—3. Thorakalsegment, der Pfeil deutet die Bewegungsrichtung an. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 31. *B. rhodani*, Ende der Katatrepsis, vor Beginn der Kontraktion (Verkürzung) des Keimstreifs („Nachausrollungs-Kontraktion“). Lebendaufnahme, etwa medianer optischer Schnitt. Do = sekundäres Dorsalorgan, La = Labrum, Lb = Labium, Md = Mandibel, Mx = Maxille, Sto = Stomodaeum, I—III = Thoraxsegmente, 1—10 = Abdominalsegmente. Vergr. etwa 320fach.

*B. rhodani*

Bei *B. rhodani* folgt auf das letzte beschriebene Stadium (Stadium 8, Tabelle 1) unmittelbar die Katatrepsis, die ohne Unterbrechung in wenigen Stunden abläuft (Abb. 30, 31). Am Kopf zerreißen Serosa und Amnion, die vor ihm durch die Wanderung um den Dotter zusammengeschoben werden. Das Abdomen wird so weit entrollt, daß es ausgestreckt unter dem Thorax liegt (Abb. 30). Wenn die Kopflappen am Vorderpol ihre endgültige Lage im Ei eingenommen haben, die invers zur Ausgangslage steht, umgreift der Keimstreif noch etwa fünf Sechstel des Dotters (Abb. 31). Die nachfolgende Kontraktion („Nachausrollungs-Kontraktion“) reduziert seine Länge auf etwa die Hälfte, so daß der Embryo sich nachher nur noch über die Ventralseite des Eies erstreckt (Abb. 32, 33). Die gestauchte Serosa bildet ein kugeliges sekundäres Dorsalorgan mit stark aufgequollenen, pyknotischen Kernen, das sich bald auflöst (Do in Abb. 32). Zwischen Stomo- und Proctodaeum erscheint nach dem Verschwinden des Dorsalorgans die Mitteldarmanlage in Form paariger Zellstreifen. Nur polar ist die Anlage unpaar. In der Endphase der Embryogenese wird der dorsal liegende Dotter umwachsen und in das Innere des Keimes aufgenommen. Gleichzeitig beginnt die Organdifferenzierung.

Zur Öffnung des Eies bewegt der Embryo seinen oberhalb des Labrums mit einem Eizahn bewaffneten Kopf auf und ab. Die Eihülle spaltet längs auf und die Larve entsteigt ihr, Kopf und Thorax voran. (vgl. die ausführliche Darstellung dieses Vorgangs bei DEGRANGE, 1960). Sie mißt ohne Cerci und Antennen 280  $\mu\text{m}$ ; die Cerci sind etwa 180  $\mu\text{m}$  lang.

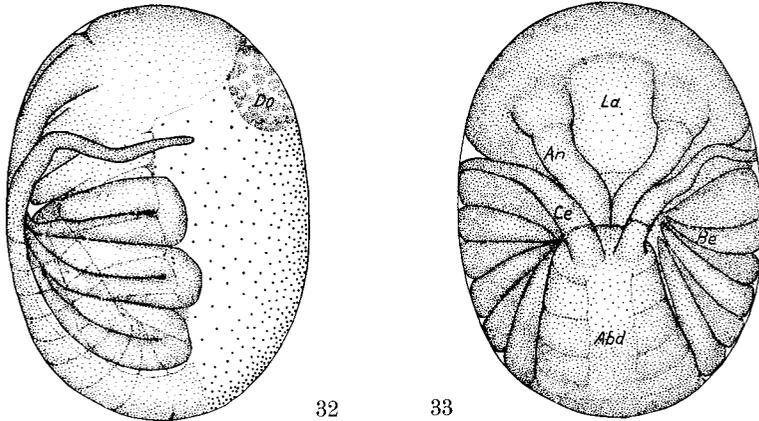


Abb. 32. *B. rhodani*, nach der Ausrollung, mit sekundärem Dorsalorgan (Do) (Entw.-stad. 10, vgl. Tabelle 1). Vergr. etwa 320fach.

Abb. 33. Wie Abb. 32, Ventralansicht. Abd = Abdomen, An = Antenne, Be = Beine, Ce = Cercus, La = Labrum. Vergr. etwa 320fach.

*B. vernus*

Bei *B. vernus* gliedern sich diese Vorgänge gewöhnlich in 2 Phasen, zwischen welche eine Dormanz eingeschaltet ist. In der 1. Phase (Abb. 34, 35) entrollt sich das Abdomen: Es streckt sich dabei, die große Schleife wird geglättet und sein caudales Ende in Richtung zum Kopf herausgeschoben (Abb. 34). Gleichzeitig kontrahiert sich der Keimstreif. Das auf diese Weise entstandene Bild (Abb. 35) gleicht demjenigen von *B. rhodani* nach Abschluß der Katatrepsis, wenn man davon absieht, daß der Embryo noch nicht ausgerollt ist und Amnion, Dotter und Serosa ihn noch umschließen („Vorausrollungs-Kontraktion“). In dieser Lage erfolgt noch weiteres Wachstum: Abdomen und Thorax verbreitern sich, die Beine werden länger, die Kopflappen erweitern sich zur Kopfkapsel und die paarige Mitteldarmanlage bildet sich. Danach beginnt die vollständige Sistierung der Morphogenese (Abb. 35).

Nach dem Ende der Ruheperiode folgt als 2. Phase die Ausrollung, deren Verlauf dem von *B. rhodani* gleicht, nur handelt es sich jetzt um einen Embryo in fortgeschrittenerem Entwicklungsstadium (Abb. 36, 37). Die Teilvorgänge dieses Entwicklungsabschnitts entsprechen sich demnach bei beiden Arten: Jedoch ist ihre zeitliche und räumliche Zuordnung zueinander unterschiedlich. Die Kontraktion und ein Teil des Wachstums, die bei *B. rhodani* beginnen, wenn der Embryo nach der Katatrepsis seine definitive Lage auf der Ventralseite des Eies erreicht, sind bei *B. vernus* vor die Ausrollung vorverlegt. Im Gegensatz zur „Nachausrollungs-Kon-

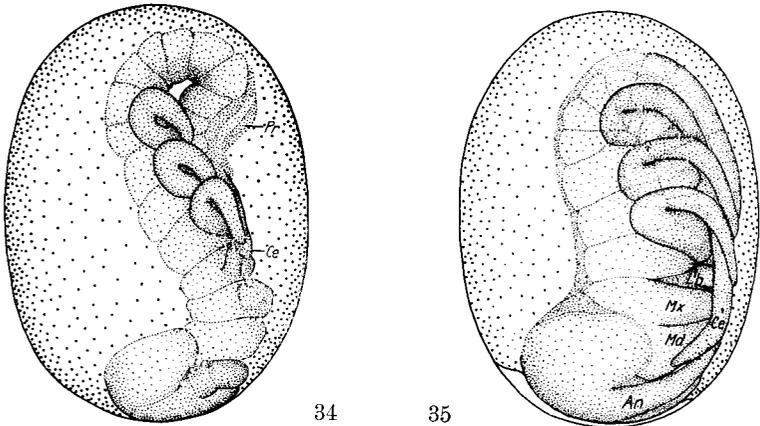
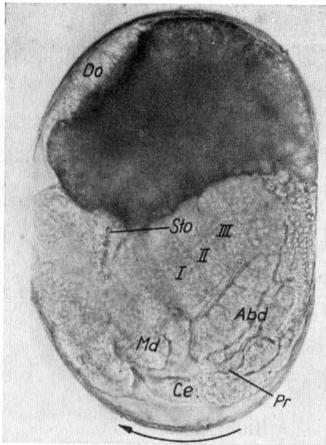
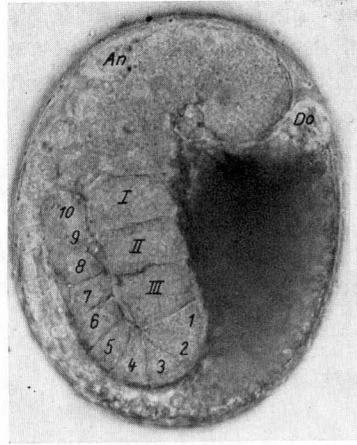


Abb. 34. *B. vernus*, Kontraktion des Embryos unter gleichzeitiger Glättung der abdominalen Schleife (Entw.-stad. D 9, vgl. Tabelle 1). Im Anschluß an diesen Vorgang beginnt meistens die Entwicklungsruhe. Ce = Cercusanlage, Pr = Proctodaeum. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 35. *B. vernus*, Stadium der Entwicklungsruhe im Anschluß an die Kontraktion und die damit verbundenen Vorgänge (Entw.-stad. D 9, vgl. Tabelle 1) („Vorausrollungs-Kontraktion“). Häufiges Diapausestadium. Lb = Labium, Md = Mandibel, Mx = Maxille, An = Antenne, Ce = Cercus. Vergr. etwa 320fach.



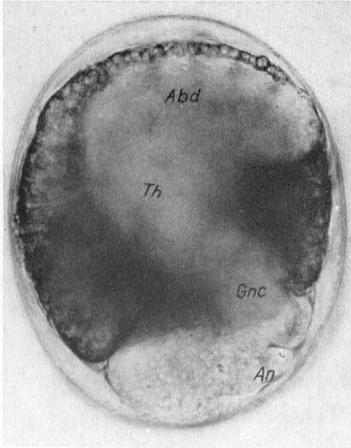
36



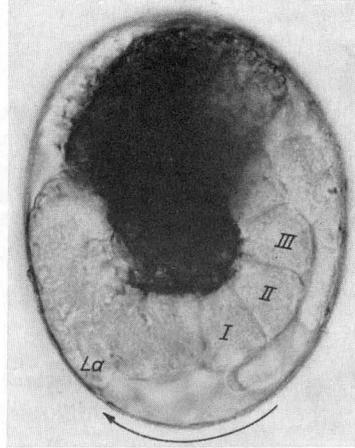
37

Abb. 36. *B. vernus*, Ausrollung des Embryos (Katatrepsis) im Anschluß an die Kontraktion des Keimstreifs („Vorausrollungs-Kontraktion“). Lebendaufnahme, etwa medianer optischer Schnitt. Abd = Abdomen, Ce = Cercus, Do = sekund. Dorsalorgan, Md = Mandibel, Pr = Proctodaeum, Sto = Stomodaeum, I–III = Thoraxsegmente. Vergr. etwa 320fach. Der Pfeil deutet die Bewegungsrichtung an.

Abb. 37. *B. vernus*, Embryo nach Abschluß der Katatrepsis, Lebendaufnahme, etwa medianer optischer Schnitt. An = Antenne, Do = sekundäres Dorsalorgan, I–III = Thoraxsegmente, 1–10 = Abdominalsegmente. Vergr. etwa 320fach.



38



39

Abb. 38. *B. vernus*, Embryo im Entwicklungsstadium 8 (vgl. Tabelle 1), unmittelbar vor Beginn der Katatrepsis (bei Diapause im Stadium 7). Lebendaufnahme, etwas paramedian. Abdomen (Abd) und Thorax (Th) sowie der hintere Teil des Gnathocephalon (Gnc) noch von Dotter umgeben. An = Antenne. Vergr. etwa 320fach.

Abb. 39. *B. vernus*, Katatrepsis nach Diapause im Stadium 7. Lebendaufnahme, etwa medianer optischer Schnitt. La = Labrum, I–III = Thoraxsegmente. Der Pfeil deutet die Bewegungsrichtung an. Vergr. etwa 320fach.

traktion“ ohne Dormanz bei *B. rhodani*, ließ sich der für *B. vernus* vorgefundene Verlauf der Entwicklung in diesem Abschnitt kurz als „Vorausrollungs-Kontraktion“ mit Dormanz in der Kontraktionsphase charakterisieren.

Tritt bei *B. vernus* unter bestimmten Bedingungen die Dormanz bereits in einem früheren Entwicklungsstadium ein, so wird der normale Ablauf der Ausrollung nicht berührt, und Ausrollung sowie Kontraktion geschehen in normaler Abfolge wie bei *B. rhodani* (Abb. 38, 39, 40) (vgl. S. 521).

Der an die Katatrepsis anschließende Abschnitt der Embryogenese bis zum Schlüpfen der Larve weicht bei *B. vernus* nicht erkennbar von *B. rhodani* ab.

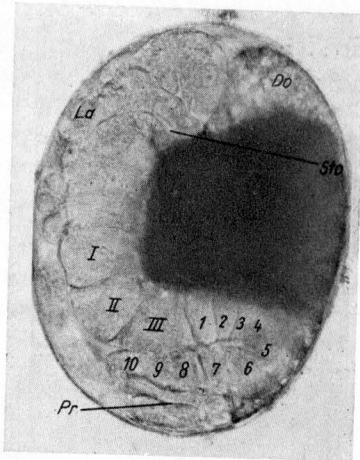


Abb. 40. *B. vernus*, Ende der Katatrepsis, vor dem Beginn der Kontraktion des Keimstreifs nach Diapause im Stadium 7. Lebendaufnahme, etwa medianer optischer Schnitt. Do = sekundäres Dorsalorgan, Lb = Labium, Pr = Proctodaeum, Sto = Stomodaeum, I–III = Thoraxsegmente, 1–10 = Abdominalsegmente. Vergr. etwa 320fach.

#### IV. Geschwindigkeit und Verlauf der Embryogenese in Abhängigkeit von der Temperatur

##### a) Schlüpfintensität bei konstanten Temperaturen

Die Prüfung der Dauer der gesamten Embryonalentwicklung an Hand der Schlüpftermine der Eilarven läßt in typischen Fällen bereits erkennen, ob eine Dormanz diesen Entwicklungsabschnitt verlängert. Die Art der Temperaturabhängigkeit der verzögerten Entwicklung ermöglicht überdies häufig Schlüsse auf den Typus der Dormanz.

1. *Baëtis rhodani*

Im Gegensatz zu MACANS (1957) und PLESKOTS (1958) Annahme verläuft die Embryonalentwicklung von *B. rhodani* wenigstens in der Breitenbachpopulation ohne verzögernde Perioden. Dies zeigt die Kurve IV der Abb. 41. Dargestellt sind die mittleren Prozentanteile geschlüpfter Larven für 2 Gelege (Ordinate) in Abhängigkeit von der Zeit (Abszisse). Das gilt für die geprüften Temperaturen 20, 15,6, 8,5 und 6,8 °C für Gelege, die in der Zeit von Ende Mai bis Anfang Oktober abgelegt wurden (Tabelle 2). Bis zu etwa 4% der Eier schlüpfen nicht innerhalb der angegebenen Zeiträume. In überprüften Fällen enthielten solche Eier einige Monate später erwachsene Embryonen mit pyknotischen Kernen.

Eine Wassertemperatur von 0 °C führt bei 7 Gelegen nach wenigen Tagen zu fast 100%iger Letalität. In 3 weiteren Gelegen überlebte der größere Teil der Eier und setzte seine Entwicklung langsam fort: Nach 3monatiger Dauer befanden sich alle Embryonen in der Ausrollung oder vorwiegend in den darauffolgenden Entwicklungsstadien (Stadien 9 und 10 der Tabelle 1). Sie vermochten jedoch bei 0 °C nicht zu schlüpfen und nahmen nach 6monatigem Aufenthalt bei dieser Temperatur auch nach Temperaturerhöhung auf 6,8 °C die Entwicklung nicht wieder auf.

Im Freiland werden Gelege beider *Baëtis*-Arten häufig nacheinander in mehreren Schichten übereinander abgelegt. In diesen Fällen schlüpfen bei *B. rhodani* die Larven des äußersten Geleges, des jüngsten also, zuerst. Die Embryonen der unten liegenden Eier sind überwiegend fast schlupffreif. Werden bei Gelegen, die sich bei konstanter Temperatur von 6,8 °C im Laboratorium befinden, die oberen Schichten inzwischen leerer Eihüllen abgehoben, so schlüpfen aus den darunter gelegenen Eiern bald darauf die Larven. Dies gilt jedoch nur eine beschränkte Zeit lang, denn nach 4 Monaten im Laboratorium erweisen sich die restlichen Eier als letal. Diese Schlüpfverzögerung hängt mit Sicherheit direkt von Faktoren außerhalb des Eies ab. Definitionsgemäß ist eine solche Entwicklungsverzögerung als Quieszenz zu bezeichnen. Offenbar werden diese ungünstigen Außenbedingungen nur relativ kurze Zeit ohne Schaden ertragen: Dormanzzeiten von einer Dauer wie bei *B. vernus* (vgl. Abb. 41) werden nicht erreicht.

Tabelle 2 *Baëtis rhodani*, Dauer der Embryonalentwicklung bei verschiedenen Temperaturen

I	II	III
Temperatur °C	50 % der Larven geschlüpft nach Tagen	Anzahl der geprüften Eier (= E) oder Gelege (= G)
20	< 12	etwa 600 E
16–18	etwa 13	etwa 1500 E
8	etwa 28	etwa 950 E
6,8	etwa 43	4 G
0	—	10 G

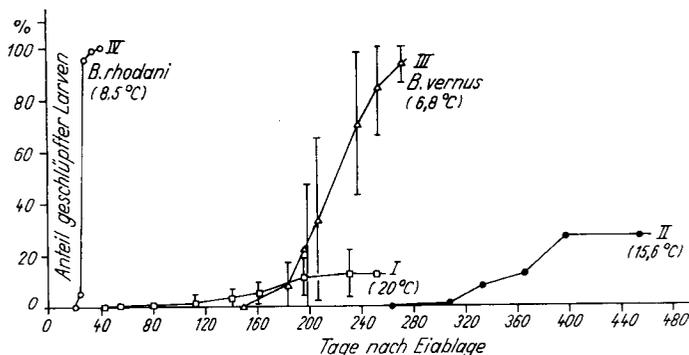


Abb. 41. *Baëtis rhodani* und *B. vernus*: Schlüpfen der Larven bei konstanten Temperaturen.

Summenprozentkurven: Kurven I—III: *B. vernus*

Kurve I: 20 °C, Mittelwerte für 4 Gelege — — — □

Kurve II: 15,6 °C, Mittelwerte nach Stichproben aus 10 Gelegen — — — ●

Kurve III: 6,8 °C, Mittelwerte für 7 Gelege — — — △

Kurve IV: *Baëtis rhodani*, 8,5 °C — — — ○

Ordinate: Schlüpfanteile in %

Abszisse: Zeit nach Eiablage in Tagen

Einzeichnet ist die Streuung (s) der Schlüpfanteile der Gelege.

Die gleiche Reaktion fand HUNT (1951) bei der Ephemeroptere *Hexagenia limbata*. Wenn Eianhäufungen entstanden oder die Eier unter Schlamm gerieten, trat Entwicklungsverzögerung auf.

## 2. *Baëtis vernus*

Bei 20 und 6,8 °C wurden 4 bzw. 7 Gelege auf den Anteil leerer Eihüllen kontrolliert, ebenso bei 15,6 °C aus 10 Gelegen jeweils Stichproben von je 200—400 Eiern.

Die Abb. 41 enthält graphische Darstellungen über die Prozentanteile (Ordinate) geschlüpfter Larven pro Gelege in Abhängigkeit von der Zeit (Abszisse). Die Kurven I—III gelten für *B. vernus* für 20, 15,6 und 6,8 °C, Kurve IV für *B. rhodani* bei 8,5 °C.

Alle geprüften Temperaturen lassen für *B. vernus* die gegenüber *B. rhodani* stark verlängerte Entwicklungszeit bis zum Schlüpfen erkennen. So darf auf das Vorkommen einer embryonalen Dormanz<sup>1)</sup> geschlossen werden.

Der Grad der Schlüpfverzögerung gegenüber *B. rhodani* ist temperaturabhängig. Zu ihrer Beurteilung muß zunächst der Schlüpfverfolg herangezogen werden.

1) Der Begriff „Dormanz“ wird in der von H. J. MÜLLER (1966) vorgeschlagenen Bedeutung verwendet. Danach bezeichnet „Dormanz“ als übergeordneter Begriff alle Formen vorübergehender Hemmung des normalen Entwicklungsverlaufs. Er umfaßt also sowohl die Quieszenz als auch die Diapause in ihren verschiedenen Typen.

Dieser ist bei *B. vernus* fast 100%ig lediglich in einer Temperatur von 6,8 °C. Mit steigender Temperatur sinkt der Schlüpfertfolg: Er beträgt für 6,8 °C mindestens 94 % (Kurve III). Bei 15,6 °C schlüpften die Larven aus 27 % der Eier (Kurve II) und bei 20 °C 1960/61 aus 12,5 % (Kurve I), 1964/65 im Mittel aus 18 % für 4 Gelege.

Lediglich bei der Temperatur von 6,8 °C finden sich „normale“ Entwicklungsverhältnisse, wenn man die Möglichkeit zum Schlüpfen als Gradmesser für die Normalität der Morphogenese ansieht. Die höheren geprüften Temperaturen drücken den Schlüpfertfolg herab (vgl. *B. rhodani* S. 525). Entwicklung bei diesen Temperaturen ist aber dennoch aufschlußreich, weil durch sie in unterschiedlicher und unerwarteter Weise die Entwicklungsverzögerung verändert wird. Erhöhung der Temperatur auf 15,6 °C verzögert stark, etwa auf die doppelte Entwicklungszeit. Durch noch stärkere Erhöhung wird die Entwicklungsverzögerung wieder auf das Maß, welches bei 6,8 °C gefunden wird, zurückgebracht: Bei 20 °C (Abb. 41, I) erscheinen die ersten Larven früher als in den übrigen Versuchen. Dies im Jahre 1960/61 erhaltene Ergebnis ließ sich in einer Gruppe von 4 Gelegen 1964/65 bestätigen. Die Schlüpftrate bleibt zunächst etwas höher als bei 6,8 °C (Kurve III), doch hält sich die Abweichung im statistischen Irrtumbereich.

Die Werte für die Streuung (s) der Schlüpferteile der Gelege demonstrieren in der Abb. 41 für 20 und 6,8 °C die relativ großen Unterschiede der mittleren Entwicklungsverzögerung der Eier gegenüber *B. rhodani*.

Für 15,6 °C wurden die Stichproben gemeinsam ausgewertet, so daß Angaben über die Variation der Schlüpferteile nicht gemacht werden können. Aus einem im Jahre 1960/61 durchgeführten vergleichbaren Versuch ergibt sich jedoch ein Anhaltspunkt über das Ausmaß der Variabilität: Nach etwa 300 Tagen bei Zimmertemperatur (Mittelwert 15,1 °C, Schwankungen zwischen 18 und 12 °C) variierte der Schlüpferteil zwischen 0 und 25,6 % pro Gelege bei einem Mittelwert von 5,8 % und 16 Gelegen. Die Streuung beträgt:  $s = \pm 7,04\%$ .

Die Änderungen in der Entwicklungsverzögerung bei den verschiedenen Temperaturen lassen erwarten, daß durch Temperaturverschiebung besondere Einsichten in die Art der Entwicklungsverzögerung gewonnen werden können.

## b) Der Verlauf der Embryogenese bei verschiedenen Temperaturen bei *Baëtis vernus*

### 1. Methodisches

In den im folgenden Teil dargestellten Versuchen kommen einerseits Vergleiche von Stichproben aus denselben Gelegen vor und andererseits solche zwischen Gruppen verschiedener Gelege oder den aus ihnen entnommenen Stichproben.

Im 2. Fall muß der z. B. aus Abb. 41 ersichtliche Unterschied der Schlüpferteile der verschiedenen Gelegen zu einem bestimmten Zeitpunkt bei der Wertung der Ergebnisse berücksichtigt werden. Um ein Maß für die statistische Sicherheit bei Vergleichen derartiger Gelegengruppen zu erhalten, soll im folgenden der Fehler des Mittelwertes ( $s\bar{x}$ ) für Gruppen mit Gelegen in verschiedener Anzahl bestimmt werden. Dies ist notwendig, weil bei den meisten Versuchen

dieser Art die Stichproben aus den einzelnen Gelegen gemeinsam ausgewertet wurden, so daß die durch Gelegeunterschiede bedingte Streuung nicht mehr feststellbar wird.

Für die Berechnung des Fehlers des Mittelwertes erfolgte eine Transformation aller Prozentwerte in Werte von  $\arcsin \sqrt{\%}$  (vgl. MUDRA 1958, LINDER 1960). Diese Transformation empfiehlt sich für Relativwerte, weil die Abhängigkeit der Varianz von der Höhe des Prozentwertes dadurch entfällt. Nach der Berechnung des Fehlers des Mittelwertes mit Hilfe des t-Tests erfolgt Rücktransformation zu Prozentwerten. Zugrunde gelegt wurde die Streuung des Schlüpfanteils von 25 Gelegen, die 223 Tage bei etwa 7 °C gehalten wurden:

$$n = 25$$

$$\bar{x} = 51,7 \%$$

$$s = \pm 23,09 \arcsin \sqrt{\%} = \pm 15,38 \%$$

Der Fehler des Mittelwertes ( $s_{\bar{x}}$ ) für die Irrtumswahrscheinlichkeit  $P = 5 \%$  beträgt  $\pm 2,75 \%$ .

Die Abweichung des Mittelwertes kleinerer Gelegegruppen vom Mittelwert der Stichprobe mit  $n = 25$  läßt sich auf Grund der angegebenen Streuung ermitteln:

$$s_{\bar{x}}^2 = \frac{s^2}{n}$$

Das  $n$  in dieser Formel steht für die Anzahl der Gelege der zu untersuchenden Gruppen.

Die für die verschiedenen Gruppen errechneten Fehler des Mittelwertes ( $s_{\bar{x}} = m$  anderer Autoren) bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $P = 5 \%$  enthält die folgende Übersicht:

Anzahl der Gelege $s_{\bar{x}}$ für $P = 5 \%$	
$n$	
5	$\pm 23 \%$
6	$\pm 16,8 \%$
7	$\pm 13,2 \%$
8	$\pm 10,9 \%$
9	$\pm 9,3 \%$
10	$\pm 8,0 \%$
11	$\pm 7,1 \%$
12	$\pm 6,4 \%$
13	$\pm 5,8 \%$
14	$\pm 5,3 \%$
15	$\pm 4,9 \%$

Für den Vergleich von Stichproben aus denselben Gelegen ist diese durch Gelegeunterschiede bedingte zusätzliche Streuung nicht relevant. Das gilt für alle folgenden Versuche mit Ausnahme der in Abb. 49 und 50 dargestellten Gruppe. Für alle übrigen Befunde sollen die angeführten Werte es ermöglichen, die für andere Stichproben zu erwartenden Abweichungen abzuschätzen und Vergleiche zwischen verschiedenen Versuchsgruppen durchzuführen.

Als 2. Form der statistischen Sicherung wurde bei Betrachtung der Entwicklungsgeschwindigkeit der Fehler des Mittelwertes der Entwicklungsdauer verwendet, ebenfalls mit Hilfe des t-Tests für 1 % ermittelt. Für die Berechnung bildeten die Zeitangaben die  $x$ -Werte, die mit der jeweiligen absoluten Häufigkeit multipliziert wurden (vgl. MUDRA 1958, WEBER 1956)<sup>1)</sup>.

1) Herrn Diplommathematiker R. TRAUTNER vom Institut für Biologische und Medizinische Statistik der Universität Marburg danke ich sehr für die Beratung in einigen statistischen Fragen.

Im folgenden experimentellen Teil werden die Angaben über Herkunft und Umfang der Stichproben bei allen Versuchen auf den dazu gehörenden Abbildungen oder Tabellen angegeben.

## 2. Konstante Temperaturen

### a) Beschreibung des Embryogeneseverlaufs für verschiedene konstante Temperaturen

Für die Versuche dieser Gruppe wurden Stichproben in regelmäßigen Abständen auf den Anteil der vorhandenen Entwicklungsstadien kontrolliert. Die Ergebnisse sind in den Abb. 42a—d dargestellt. Die Prozentanteile für die genannten Stadien wurden als Prozentsummen eingetragen. Die Kurven in den Abbildungen bezeichnen die Entwicklungszeiten, zu denen der Übergang vom vor dem Pfeil zum hinter dem Pfeil genannten Entwicklungsstadium stattfindet (Abb. 42).

6,8 °C

Dieser Versuch reproduziert annähernd die Temperaturverhältnisse in unmittelbarer Nähe der Quelle des „Breitenbachs“ (Abb. 1). Wie die Abb. 42a erkennen läßt, verläuft die Entwicklung bis zur Vollendung des Stadiums 6 (eingesenkter Keimstreif mit beginnender Segmentierung, vgl. Tabelle 1) gegenüber *B. rhodani* (Tabelle 1) nicht auffällig verlangsamt. Anschließend wird jedoch eine Streuung der Morphogenesepotenz der verschiedenen Eier sichtbar. Bevor die Morphogenese vollständig sistiert wird, entwickelt sich der überwiegende Teil der Eier weiter bis zum Stadium D 9 (Vorausrollungs-Kontraktion: vgl. Tabelle 1). Ein geringerer Teil der Eier verharrt in den vorhergehenden Stadien, vor allem im Stadium 7 (Keimstreif mit beginnender Ausbildung der Extremitätenanlagen). Der Anteil der genannten Entwicklungsstadien während der Morphogeneseruhe variiert erheblich von Gelege zu Gelege: Er schwankt für das Stadium 7 zwischen 100 und weniger als 10% pro Stichprobe. Über das Stadium D 9 hinaus führt die Morphogenese zunächst nicht.

Die Frage, ob in den hier als Phasen der Morphogeneseruhe bezeichneten Entwicklungsabschnitte noch Mitosen vorkommen, wurde nicht untersucht. Entscheidend für die Benennung ist, daß über längere Zeit sichtbare Wachstums- und Gestaltungsvorgänge nicht stattfinden. Der Übergang zu einer nur verzögerten Entwicklung ist gleitend, und es kann z. B. nicht entschieden werden, ob der Fortgang der Morphogenese vom Stadium 7 bis D 9 kontinuierlich oder diskontinuierlich geschieht.

Nach etwa  $5\frac{1}{4}$  monatiger Dauer der Morphogeneseruhe haben 50% der Eier die Morphogenese wieder aufgenommen. Die Katatrepsis verläuft vom Stadium D9 aus in der beschriebenen abgewandelten Weise (vgl. S. 522 und Abb. 37, 38).

Die Dauer der Ruhephase ist annähernd gleich, unabhängig davon, ob sie im Stadium 7 oder D 9 eintritt. Das geht aus der Tabelle 3 hervor. Nach 133 Tagen bei 6,8 °C wurden aus 3 Gelegen Stichproben entnommen. Die Eier befanden sich z. T. im Dormanzstadium 7, zum größeren Teil im Dormanzstadium D9. Für die Eier

jedes dieser Stadien wurde die Zeit bis zum Schlüpfen der Larven ermittelt. Sie unterscheidet sich nur geringfügig. Unterschiede in der Dormanzdauer aber müßten als Unterschiede der Gesamtentwicklungsdauer hervortreten.

15,6 °C

Diese Temperatur entspricht etwa der höchsten sommerlichen Erwärmung im Mittellauf des „Breitenbachs“ und repräsentiert daher das obere Temperatur-  
extrem im untersuchten Biotop (Abb. 1).

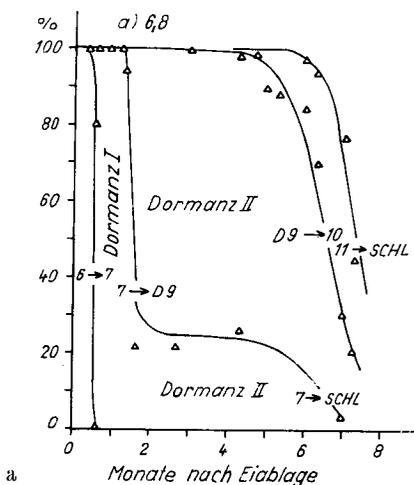


Abb. 42. *Baëtis vernus*: Entwicklung der Eier bei verschiedenen konstanten Temperaturen. Die Kurven verbinden die Punkte für die Prozentanteile des durch die Ziffer vor dem Pfeil im Kurvenverlauf genannten Entwicklungsstadiums. Die Anteile aller Stadien sind gemäß ihrer Reihenfolge als Prozentsummen für den jeweiligen Zeitpunkt eingetragen. Auf der Ordinate ist abzulesen, wie groß der prozentuale Anteil einzelner Entwicklungsstadien zu der auf der Abszisse abzulesenden Entwicklungszeit ist.

Schl: Anteil der geschlüpften Larven.

Ordinate: Stichprobenanteile, geordnet nach der Aufeinanderfolge der Stadien, in %.

Abszisse: Zeit nach Eiablage in Monaten.

a) 6,8 °C: Alle Punkte sind Mittelwerte für mindestens 5 Gelege, Stichprobenumfang > 50 Eier,  
b) 15,6 °C: Alle Punkte sind Mittelwerte für Stichproben aus 10 Gelegen. Stichprobenumfang meist > 400 Eier. Die gestrichelten Linien sind geschätzt: Möglicher Fehler für den Übergang vom Stadium 6 nach 7:  $\pm 2$  Tage. Gestrichelter Teil der Kurve des Stadiums 8 in Analogie zu den Befunden bei konstanter Temperatur von 6,8 °C eingetragen,

c) 20 °C

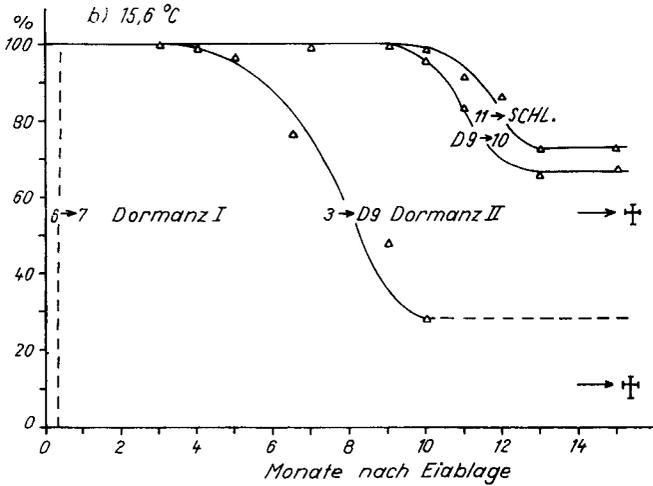
△ — — — Werte auf Grund von Stichproben aus einem Gelege mit relativ geringer Schlüpfintensität

○ — — — Werte auf Grund von Stichproben aus 2 anderen Gelegen mit stärkerer Schlüpfintensität,

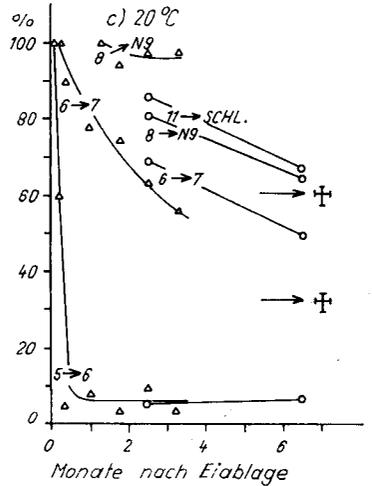
d)  $0 \pm 1$  °C: Alle Punkte sind Mittelwerte für je 5 Gelege. Stichprobenumfang 130–240 Eier, 6,8  $\rightarrow$  0 °C: Zeitpunkt der Übertragung von 6,8 auf 0 °C.

Gestrichelter Kurvenverlauf: Durch Versuchsfehler bedingte geringe negative Abweichung.

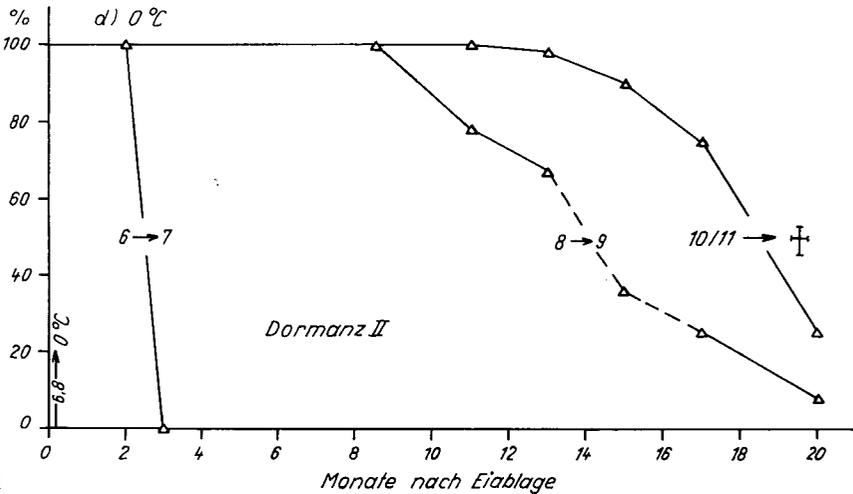
Wie bereits bei der Darstellung der Schlüpfintensität hervorgehoben (vgl. S. 527), wird bei 15,6 °C die Entwicklung stark verzögert oder gänzlich gehemmt (Abb. 42b). Die Sistierung der Morphogenese beginnt bei allen Eiern im Stadium 7, also früher als bei 6,8 °C, und hält mehrere Monate lang an, ohne daß dieses im allgemeinen zur Letalität führt. 3—4 Monate nach Eiablage erscheinen die ersten über das Stadium 7 hinaus fortgeschrittenen Embryonen und nach etwa 10 Monaten erreicht etwa der gleiche Geleanteil das Stadium D 9 wie bei 6,8 °C (vgl. Abb. 42a). Demnach wird bei 15,6 °C (Abb. 42b) der für *B. vernus* typische Weg über das Stadium D 9 eingehalten. In diesem Stadium setzt eine erneute Entwicklungsblockierung ein. Die Morphogeneseruhe beenden 32% der Eier. Von diesen schlüpfen etwa 80%;



42b



42c



42d

Tabelle 3 Vergleich der Dormanzdauer bei *B. vernus* für die Stadien 7 und D 9  
 Prüfung der Gesamtentwicklung bis zum Schlüpfen der Larven bei 6,8 °C nach Stichproben aus 3 Gelegen, getrennt nach den Entwicklungsstadien der Dormanz, wie sie 133 Tage nach Eiablage (= Versuchsbeginn) vorlagen

I	II	III
Tage nach Eiablage	% der Larven geschlüpft	
	Eier bei Versuchsbeginn Stadium 7	Eier bei Versuchsbeginn Stadium D 9
142	39,5	25,5
148	68,5	54,0
155	75,0	85,0
162	94,0	93,0

Stichprobenumfang: Spalte II: 50 Eier  
 Spalte III: 74 Eier

die übrigen werden letal. Letalität tritt ebenfalls bei jenen ein, welche die Morphogenese nicht wieder beginnen.

20 °C (Ergänzungen nach Versuchen bei einer Temperatur von 24 °C).

Im Gegensatz zu den übrigen dargestellten Versuchen mußten bei 20 °C auch nach Eintritt der Dormanz fixierte und gefärbte Totalpräparate der Eier verwendet werden, weil sonst die Unterscheidung zwischen den Stadien 6 (segmentierter, eingesenkter Keimstreif) und 7 (Keimstreif mit Extremitätenanlagen) (vgl. Tabelle 1) nicht mit der hier notwendigen Genauigkeit durchzuführen gewesen wäre. Ein sich dabei ergebender Nachteil ist der relativ geringe Stichprobenumfang: Er liegt anfangs zwischen 30 und 60 und für die letzten Proben bei 100 Eiern. Der graphischen Darstellung der Abb. 42c liegt für die ersten 90 Tage Material aus einem Gelege zugrunde, welches eine unter dem Durchschnitt liegende Schlüpfquote von unter 1 % zeigt (vgl. Abb. 41). 3½–6½ Monate nach Eiablage wurde die Kurve nach Mittelwerten aus 2 anderen Gelegen gezeichnet, deren Schlüpfquote den S. 527 angegebenen Wert erheblich übertrifft. Die quantitativen Angaben der Abb. 42c können daher nur als angenäherte gewertet werden. Dennoch gelten die im folgenden dargestellten Grundzüge dieser Entwicklung allgemein, wie gelegentliche Stichproben aus 5 weiteren Gelegen belegen. Für 24 °C wurde Lebendbeobachtung an Stichproben zu je 40–50 Eiern aus 3 Gelegen gemacht.

Bei 20 °C beginnt die Hemmung der Morphogenese bereits im Stadium 6 (Abb. 42c). Das Stadium 7 erreicht nur ein Teil der Eier, wenige schnell, ein größerer Teil verzögert. Die übrigen verharren im Stadium 6. Während der Schlüpfperiode (vgl. Abb. 41, I) treten in den meisten Stichproben einige Eier der Stadien 9–11 (Ausrollung und Entwicklung bis zum schlüpfreifen Embryo) auf, wobei allerdings das Stadium D 9 fehlt. Demnach gibt es in der auf das Stadium 8 folgenden Embryogenese eine erneute Sistierung im Stadium D 9 (Vorausrollungs-Kontraktion) nicht, sondern die Dormanz ist in die Stadien 6 und 7 vorverlegt. Die Ausrollung des Embryos läuft mindestens in der Regel in normaler Weise wie bei *B. rhodani* (Ta-

belle 1, Stadium N 9) ab. Dieser Verlauf wurde mehrfach beobachtet. Allenfalls könnte nach direkten Beobachtungen das Stadium D 9 für weniger als 7 Tage als Durchgangsstadium erscheinen.

Gegen Ende des Beobachtungszeitraums von etwa 7 Monaten wird ein zunehmender Anteil der Eier letal. Sie fallen in gefärbten Präparaten durch die kräftig tingierten, pyknotischen Kerne und die Auflösung der Keimkonturen auf. Nach diesen Kriterien waren es etwa 7 Monate nach Eiablage von mehr als 300 Eiern aus 4 Gelegen zwischen 40 und 100%, soweit noch identifizierbar, ausschließlich in den Entwicklungsstadien 1 (Furchung) bis 8 (Keimstreif mit segmentierten Extremitätenanlagen: vgl. Tabelle 1). Das Fehlen einer Anhäufung weiter fortgeschrittener Stadien in den Stichproben sowie die im Verhältnis zu ihrem Anteil hohe Schlupfintensität lassen schließen, daß die über das Stadium 8 hinausgehende Entwicklung meist zum Schlüpfen führt (vgl. Tabelle 9).

Auf Grund der bisher geschilderten Ergebnisse ist nicht auszuschließen, daß die ausnahmslose Blockierung der Morphogenese im Stadium 6—7 die Folge eines additiv wirkenden Prozesses ist, die nur auftritt, weil die Eier sich seit der Eiablage bei 20 °C befinden. Unter dieser Voraussetzung wäre zu fordern, daß bei einer Übertragung nach 20 °C in späteren Entwicklungsstadien die Morphogenese das Stadium 6—7 überschritte.

So wurden 160 Eier aus 5 Gelegen im Stadium 7 in eine konstante Temperatur von 20 °C gebracht, nachdem sie sich vorher 36 Tage bei 6,8 °C entwickelt hatten. Eine über das Ausgangsstadium hinaus bis zum Stadium D 9 führende Entwicklung trat nicht auf. Die Morphogenesehemmung im Stadium 7 ist demnach mindestens für 20 °C stadienspezifisch.

Die Embryonen waren nicht defekt, denn aus 49% der Eier schlüpfen die Larven innerhalb der 6monatigen Beobachtungszeit.

Bei 24 °C wird der Effekt der Entwicklungshemmung durch hohe Temperaturen noch früher wirksam als bei 20 °C. Während die Entwicklungsgeschwindigkeit zunächst nicht geringer als bei 20 °C ist, bleibt die Morphogenese schon nach Ausbildung der polaren Keimanlage im Stadium 3—4 (Tabelle 1) stehen. Meist tritt nach wenigen weiteren Tagen Letalität ein. In der Postdormanz ist dagegen bei 24 °C unverzögerte Entwicklung bis zum Schlüpfen möglich.

0 °C

Die Gelege dieser Gruppe wurden nach 5tägiger Inkubation bei 6,8 °C im Entwicklungsstadium 3 (polare Keimanlage vor der Kontraktion: vgl. Tabelle 1) auf 0 °C übertragen. Wie aus Abb. 42d abzulesen ist, läuft die Morphogenese anfänglich weiter bis zum Stadium 7. Es folgt ein mindestens 6monatiger, im Mittel 11monatiger Entwicklungsabschnitt ohne sichtbare Morphogenese im Stadium 7. Allerdings findet gegen Ende dieser Periode der Übergang zum Stadium 8 statt.

Dieser Vorgang war an den lebenden Eiern schwer zu beobachten, so daß er im Einzelfall nicht genau festzulegen ist. Er beginnt in geprüften Fällen frühestens 2 Monate vor der Katatrepsis. Nach Abschluß der Phase der Morphogeneseruhe folgt die Ausrollung in der normalen Weise (Tabelle 1, Stadium N 9). Die weitere Morphogenese führt bis zum Stadium 11, in dem das Ei einen fast schlüpfreifen Embryo mit pigmentierten Augenanlagen enthält. Die Larven schlüpfen nicht, sondern werden nach 4—5 Monaten Aufenthalt in den Morphogenesestadien im Anschluß an die Ruhephase letal (Abb. 42 d). Durch Überführung von Stichproben in höhere Temperatur (15,6, 7 °C) ließ sich feststellen, daß die Potenz zur Weiterentwicklung in den Stadien 9—11 noch längere Zeit erhalten bleibt und nur die niedrige Temperatur die Vollendung der Embryogenese blockiert. Als letal werden Eier bezeichnet, aus denen bei solchen Versuchen Larven nicht mehr schlüpfen.

β) Die Veränderung der Entwicklungsgeschwindigkeit in den Morphogenesephasen der Embryogenese durch die Temperatur

Die im vorhergehenden Teil dargestellten Befunden lassen bereits eine differenzierte Reaktionsweise der aufeinanderfolgenden Entwicklungsabschnitte bei bestimmten Temperaturen erkennen. So tritt vor allem der gegenüber höheren und tieferen Temperaturen bei 6,8 °C bis zum Stadium D 9 verlängerte Entwicklungsabschnitt vor der Sistierung der Morphogenese hervor (Abb. 42 a). Für die Morphogenesephasen im Verlauf der Embryogenese bei *B. vernus* soll im folgenden die Temperaturabhängigkeit der Entwicklungsgeschwindigkeit genauer untersucht werden, um sie auf diese Weise besser kennzeichnen zu können. Die Ergebnisse sind der Abb. 43 a—c zu entnehmen.

Stichproben zu 40—100 Eiern aus 2 oder 3 Gelegen wurden bei konstanten Temperaturen gehalten und je nach Notwendigkeit in 12-, 24-, 48- oder 96stündigem Abstand kontrolliert. Ich verwendete Stichproben aus denselben Gelegen für die verschiedenen zu vergleichenden Entwicklungsabschnitte, um gelegebedingte Variation zu vermeiden. Die Temperaturschwankungen überschritten im allgemeinen nicht  $\pm 0,2$  °C. Nur bei 3,6 und 4 °C erreichten sie  $\pm 0,5$  bei 0 °C  $\pm 0,8$  °C während längerer Perioden. Die Proben wurden außerhalb der Beobachtungszeit bei Dauerdunkel gehalten. Um über einheitlich reagierendes Material zu verfügen, wurden die Gelege für die Postdormanzmorphogenese zuvor mindestens 3 Monate bei 0 °C aufbewahrt<sup>1)</sup>.

Vor der Übertragung der Proben auf die Versuchstemperaturen gelangten sie für 24 Std. auf 6,8 °C.

Nach BLUNCK (1924) ist im mittleren Teil des Entwicklung ermöglichenden Temperaturbereiches einer Art das Produkt aus Temperatur und Entwicklungszeit

1) Die Methode wird verständlich durch die Ausführungen auf S. 543ff.: Es wurden nicht beliebige Eier gewonnen, denn bei ihnen wäre man nicht sicher, ob nicht Diapause ihre Reaktionsweise beeinflusst. Hält man die Gelege im Anschluß an das Stadium 3—7 mindestens 180 Tage bei 0 °C, wird die Diapause bestimmt aufgehoben.

konstant. Die Zeit-Temperaturkurve wäre dann eine Hyperbel und ihre Reziproke, die Entwicklungsraten-Temperaturkurve (Abb. 43 a und b, Kurve II), eine Gerade. Beide Entwicklungsraten-Temperaturkurven weichen in ihrem Verlauf von einer Geraden ein wenig ab, doch sind Abweichungen diesen Ausmaßes bei empirischen Werten nicht selten. Andere mathematische Formulierungen mögen den empirischen Kurven von Fall zu Fall besser entsprechen, doch läßt nach WIGGLESWORTH (1959) „keine sich allgemein genug anwenden, daß man ihr die Verkörperung eines rationalen Prinzips zuschreiben könnte“ (S. 690) (vgl. auch PRECHT 1955, S. 90, und BROWNING 1952c). Daher wurde auf Vergleiche mit diesen theoretischen Kurven verzichtet, zumal bei den vorliegenden Kurven bei jeweils 7 Meßpunkten zufällige Abweichungen nicht ausgeschlossen werden können. Die Entwicklungsraten-Temperaturkurve (Ordinate rechts im Bild) gibt den täglich ablaufenden prozentualen Anteil an der Gesamtdauer des Entwicklungsabschnitts an. Sie veranschaulicht als Gerade die proportionale Zu- oder Abnahme der Entwicklungsgeschwindigkeit mit der Zu- oder Abnahme der Temperatur. Der Schnittpunkt dieser

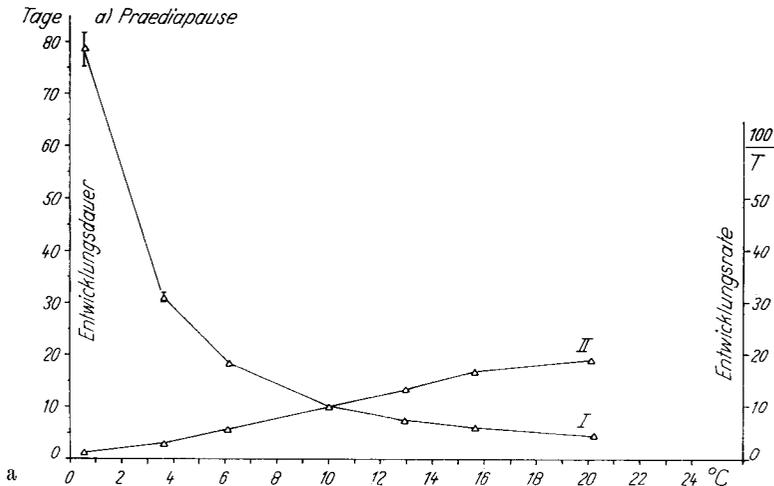


Abb. 43. *Baëtis vernus*: Abhängigkeit der Entwicklungsdauer (Kurve I, Ordinate links) und der Entwicklungsrates (Kurve II, Ordinate rechts) von der Temperatur

a) Praedormanzentwicklung vom Furchungsstadium mit 16 Energiden bis zum Beginn der Ein-senkung des Keimstreifs (Stadium 5/6),

b) Morphogenese vom Beginn des Stadiums 6 bis zum Stadium D 9 (Vorausrollungs-Kontraktion), vor dem Einsetzen der endgültigen Morphogenesesistierung,

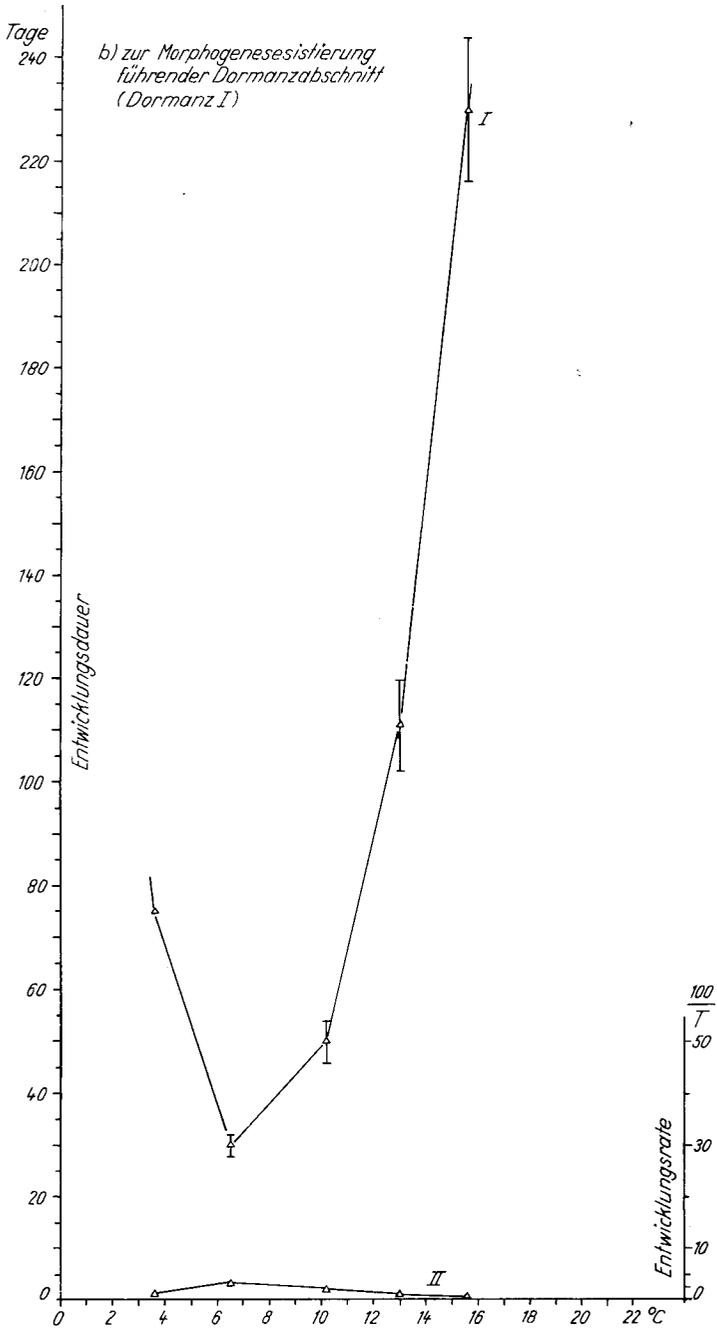
c) Postdormanzentwicklung vom Beginn der Katatrepsis bis zum Schlüpfen.

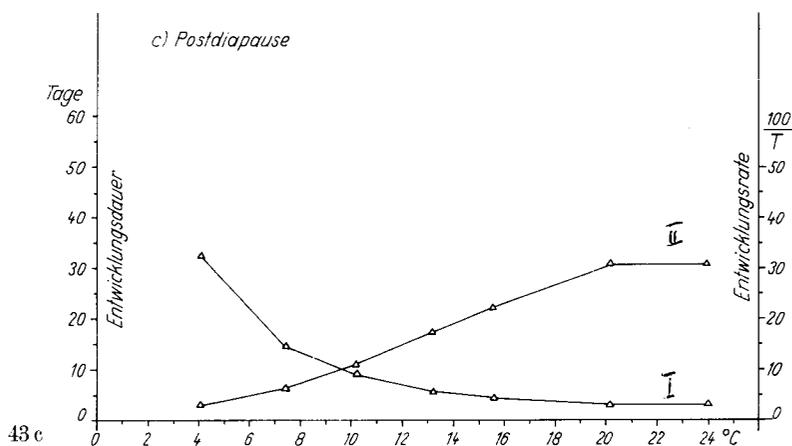
Für die Kurve I in Abb. 47 a und b ist der Fehler des Mittelwertes für  $P = 1\%$  eingezeichnet.

Ordinate links: Dauer der Entwicklung in Tagen.

Ordinate rechts: Entwicklungsrates:  $\frac{100}{T}$  T = Zeit in Tagen.

Abszisse: Temperatur in °C.





Geraden mit der Abszisse ist der sog. theoretische Entwicklungsnullpunkt. Er liegt meist etwas höher als das empirische Temperaturminimum für die Morphogenese. Die Praedormanzmorphogenese von *B. vernus* ist bei 0 °C in einigen Eiern bereits blockiert. Aus diesem Grund wurde für die Abb. 43a bei +0,5 °C gemessen. Postdormanzmorphogenese bis zum fast schlüpfreifen Embryo läuft dagegen bei 0 °C noch in fast allen Eiern ab.

Die Kurven für die Prae- und Postdormanzmorphogenese (Abb. 43a und c) ähneln einander in ihrem Verlauf. Um aber den Grad der Entwicklungsbeschleunigung mit zunehmender Temperatur vergleichbar zu machen, werden die Temperaturkoeffizienten  $Q_{10}$  angegeben. Der Temperaturkoeffizient wurde nach folgender Formel errechnet (vgl. PRECHT 1955):

$$\log Q_{10} = \frac{10}{t} \cdot \log \frac{k_2}{k_1} \quad k_1 \text{ und } k_2 = \text{Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten, hier Entwicklungszeit in Tagen}$$

$$\log Q_{10 \text{ Praed.}} = \frac{10}{5,6} \cdot \log \frac{10,2}{6,0}$$

$$Q_{10 \text{ Praed.}} = 2,58$$

$$\log Q_{10 \text{ Postd.}} = \frac{10}{5,6} \cdot \log \frac{9,0}{4,5}$$

$$Q_{10 \text{ Postd.}} = 3,48$$

Diese Werte gelten für den mittleren Temperaturbereich: Eingesetzt wurden die Zahlen für 15,6 und 10,0 °C. Der geringere Wert für die Praedormanzmorphogenese steht möglicherweise im Zusammenhang mit der Absenkung der oberen Temperaturschwelle der Morphogenese, wie sie auf Grund der Versuche mit konstanter Temperatur von 20 und 15,6 °C festgestellt und als eine zunehmende Vorverlegung des Stadiums der Morphogeneseblockierung sichtbar wurde (vgl. S. 532ff.).

Für diese Deutung spricht, daß die beiden Entwicklungsraten-Temperaturkurven mit zunehmender Temperatur zunehmend divergieren: Die Steigung der Entwicklungsraten-Temperaturkurve ist vom Ausmaß der temperaturbedingten Entwicklungsbeschleunigung abhängig.

Von den beiden bisher besprochenen Kurven (Abb. 43a, c) weicht jene für den Entwicklungsabschnitt vom Stadium 6 (eingesenkter Keimstreif mit beginnender Segmentierung) bis D 9 (Vorausrollungs-Kontraktion: Tabelle 1) deutlich ab (Abb. 43b). Die Temperatur der kürzesten Entwicklungsdauer liegt für die übrige Prae- und die Postdormanz bei 20 °C oder darüber (Abb. 43a und c), im hier erörterten Fall dagegen bei etwa 7 °C (Abb. 43b). Außerdem ist der wirksame Temperaturbereich im Vergleich zu den beiden anderen Morphogeneseabschnitten von beiden Seiten her eingengt. Bei den beiden Meßpunkten der Experimente außerhalb des durch die Kurve berücksichtigten Temperaturbereichs, bei 0 und 20 °C, gibt es diesen Entwicklungsmodus vom Stadium 8 über D 9 zur Katatrepsis nicht (vgl. S. 532 und 533), schon bei 3,5 °C tritt er nur bei etwa der Hälfte der Eier auf.

Die Dauer der Entwicklung vom Stadium 6 bis D 9 ist relativ lang: Selbst bei 6,8 °C, bei der kürzesten gemessenen Entwicklungszeit, beträgt sie mit 30 Tagen ebensoviel wie die gesamte übrige Morphogenese zusammen (Abb. 43a und c). Dieser relativ große Zeitbedarf wird fast ausschließlich durch den Entwicklungsabschnitt vom Stadium 7 bis D 9 verursacht (vgl. Tabelle 1 und Abb. 42a).

Nur weil die Stadien 5 (Keimstreif vor der Einsenkung) und 6 (Einsenkung) bei Lebendbeobachtung besser als 6 und 7 voneinander unterscheidbar sind, wurde die hier durchgeführte Abgrenzung gewählt. Der Abschnitt verzögerter Morphogenese wird nicht vor dem Stadium 7 erkennbar. Quantitativ spielt der vorhergehende Abschnitt für die Zeitangaben nur eine unbedeutende Rolle.

#### γ) Zusammenfassung und Schlußfolgerungen

Wie die Verfolgung der Schlüpftrate bei konstanten Temperaturen ergibt, ist für *B. vernus* bei 20, 15,6 und 6,8 °C eine gegenüber *B. rhodani* stark verlängerte Entwicklungszeit für die Embryogenese charakteristisch. Überdies bleibt bei relativ hohen Temperaturen, 20 und 15,6 °C, der Schlüpfertag gering. Bei 0 °C (Abb. 42d) schlüpfen Larven nicht. Der mittlere Temperaturbereich um 7 °C ist demnach der für den Schlüpfertag günstigste und muß das Normalverhalten der Entwicklung von *B. vernus* am besten kennzeichnen. Die erhöhten konstanten Temperaturen wirken sich unterschiedlich auf die Entwicklungsverzögerung aus: 15,6 °C verstärkt sie, bei 20 °C wird das bei 6,8 °C gefundene Maß wieder erreicht.

Wie die Prüfung der jeweils erreichten Entwicklungsstadien erkennen läßt, ist es der Entwicklungsabschnitt vom Stadium 6 bis zum Stadium D 9, dessen Ablauf verzögert werden kann: Die Morphogenesegeschwindigkeit wird verlangsamt oder vollständig sistiert. Das Stadium der Morphogeneseruhe variiert je nach Temperatur (Tabelle 4) und in gewissem Maße von Ei zu Ei. So sistiert die Morphogenese

unter den relativ günstigen Bedingungen bei 6,8 °C (Abb. 42a) bereits im Stadium 7 oder, in etwa 75% der Fälle, im Stadium D 9.

Bei 15,6 °C fällt die Gesamtdormanz in die Stadien 7 und D 9. Etwa 25% der Eier vollenden die Entwicklung bis zum Schlüpfen. Die übrigen werden in den Stadien 7 (-8), D 9 und zu geringerem Teil in den Stadien 10 und 11 letal.

Tabelle 4 *Baëtis vernus*: Mittlere Dauer der Dormanz bei verschiedenen konstanten Temperaturen, bezogen auf die sich weiter entwickelnden Eier

I	II	III	IV	V
Temperatur °C	Entwicklungsstadium, in dem die Dormanz auftritt	Dauer in Tagen <sup>2)</sup>	Fehler des Mittelwertes für P = 1%	Dauer der Dormanz als % der Gesamtentwicklungszeit
0	7	372 <sup>1)</sup>	± 31 Tage	64
6,8	D 9	141	± 8,5 Tage	67
15,6	1. 7 (-8)	217	± 14,4 Tage	50
	2. D 9	132	± 4,5 Tage	40
20	6-8	?	—	—

1) Während des letzten Teils dieser Frist entwickeln sich die Eier vom Stadium 7 bis zum Stadium 8.

2) Die hier angegebenen Mittelwerte weichen von den aus der graphischen Darstellung für 50% ablesbaren auf Grund der Berechnung als arithmetisches Mittel etwas ab (vgl. Abb. 42a-d, s. dort auch die übrigen Daten).

Die Erhöhung der Temperatur auf 20 °C hat zur Folge, daß die Morphogeneseruhe im Mittel noch früher einsetzt als bei 15,6 °C, meist schon im Stadium 6, z. T. im Stadium 7. Das Stadium D 9 fehlt dann. Die Morphogeneseblockierung erfolgt spätestens im Entwicklungsstadium 7. Das gilt auch, wenn dieses Stadium nicht bei 20 °C, sondern unter anderen Temperaturbedingungen ausgebildet wurde. Falls die Entwicklung über das Stadium 7 hinausführt, bei etwa 15% der Eier, wird sie meist vor dem Schlüpfen der Larven nicht wieder unterbrochen, denn Dormanz im Stadium D 9 tritt nicht auf. Die restlichen Eier bei 20 °C werden letal.

Auch durch die Erniedrigung der Temperatur gegenüber 6,8 °C auf 0 °C wird die Morphogenese in jedem Fall im Stadium 7 abgebrochen. Doch können unter diesen Bedingungen anders als bei 15,6 und 20 °C fast alle Embryonen die Morphogenese wieder beginnen und bis zum Stadium 10-11 führen.

Praedormanzmorphogenese bis zum Stadium 6 läuft zwischen +0,5 und 20 °C ab; anfänglich auch noch bei 24 °C, bis zum Stadium 4, doch sterben die Embryonen bei dieser Temperatur nach wenigen Tagen. Postdormanzmorphogenese ist zwischen +3,6 °C und mindestens 24 °C, bis zum Stadium 10-11 auch noch bei 0 °C möglich.

Im Entwicklungsabschnitt zwischen den Stadien 7 und D 9 tritt nach den geschilderten Versuchen Dormanz auch bei Temperaturen ein, die vorher und nachher unverzögerte Entwicklung gestatten. Dadurch wird diese Dormanz als Diapause, als endogene Entwicklungsverzögerung, charakterisiert (vgl. WAY 1962). Eine Verkürzung der Phase der Morphogeneseruhe mit abnehmender Temperatur, also Beschleunigung der Entwicklung bei den gleichen Temperaturbedingungen, bei denen die Morphogenese der Prae- und Postdormanz proportional verlangsamt wird, ist ebenfalls ein in der Diapause häufig verwirklichtes Merkmal. Bei *B. vernus* demonstriert dieses der Vergleich der Entwicklung bei 15,6 mit jener für 6,8 °C: Hier sieht man bei abnehmender Temperatur eine Verkürzung der Gesamtentwicklungszeit und damit der Dormanz (Abb. 42a, b).

Bei einer Temperaturerniedrigung bis an die untere Temperaturschwelle der Morphogenese, bei 0 °C, ist diese Erscheinung nicht mehr zu beobachten (Tabelle 4). Hier könnte eine Verkürzung der Diapausedauer durch starke Verlangsamung der übrigen Entwicklungsvorgänge verdeckt sein (vgl. S. 537).

Bei 15,6 °C besteht die Diapause von *B. vernus* aus 2 Abschnitten: Einem 1., währenddessen vom Stadium 7 an eine langsam fortschreitende Morphogenese bis zum Stadium D 9 führt. Dieser Abschnitt besteht wahrscheinlich aus einer 1. Phase mit vollständig sistierter und einer 2. mit verlangsamer Morphogenese. Er wird im folgenden als „Diapause mit verlangsamer Morphogenese“ (= Dormanz I: vgl. Abb. 42b) bezeichnet. Der 2. Abschnitt, die „Diapause ohne Morphogenese“ (= Dormanz II), tritt im Stadium D 9 ein.

Diese Gliederung der Diapause ist nicht nur bei 15,6 °C, sondern bei allen Temperaturen zwischen +3,6 und 15,6 °C nachweisbar, was die Hinweise auf die „Dormanz I“ und die „Dormanz II“ in den Abb. 42 a—d hervorheben sollen. Auch wenn bei 6,8 °C die Dauer der Dormanz I als relativ kurz erscheint (Abb. 42a, Abb. 43b), so nimmt sie immerhin ebensoviel Zeit in Anspruch wie die gesamte übrige embryonale Morphogenese. Vor allem der aus der Abb. 43b hervorgehende kontinuierliche Übergang zu längeren Entwicklungszeiten für die Diapause mit Morphogenese oberhalb und unterhalb von 7 °C zeigt, daß die Werte für 15,6 und 6,8 °C nur die Extreme der Morphogenesegeschwindigkeit darstellen: Bei 15,6 °C tritt die geringste Geschwindigkeit, also die längste Dauer der Diapause mit Morphogenese, bei etwa 6,8 °C die größte Geschwindigkeit, also die kürzeste Dauer der Diapause mit Morphogenese auf.

Diese Befunde sowie die bei 20 °C häufig schon im Stadium 6 einsetzende Sistierung der Morphogenese lassen auf eine physiologische Umstellung schließen, die zu mehr oder weniger starker Verlangsamung der Morphogenese führt unter vorher und nachher nicht hemmend wirkenden Temperaturen. Spätestens mit dem Stadium 7 beginnt demnach allgemein die Diapause.

### 3. Kombination zweier Temperaturstufen

Wie die Ergebnisse bei den untersuchten konstanten Temperaturen erkennen lassen, treten in allen Fällen bei *B. vernus* Entwicklungsverzögerungen mindestens vorübergehend und bei einem Teil der Eier auf. Verlangsamung der Entwicklung bis zum Stillstand, wie sie bei 0 °C eintritt, oder Letalität lassen bei Temperaturkonstanz nicht erkennen, welche Entwicklungspotenzen im so behandelten Embryo schlummern. Dies Problem kann durch Überführung der in Frage kommenden Entwicklungsstadien in günstige Temperaturen erhellt werden.

#### a) Prüfung der Beeinflussung der Diapause bei konstanter Temperatur von 15,6 °C durch Übertragung der Eier nach 6,8 °C

Bei einer Temperatur von 15,6 °C verhindert die nach längerer Einwirkungsdauer eintretende Letalität (Abb. 42b), daß eine Beeinflussung der Diapause durch diese Temperatur sichtbar wird. Durch Übertragung der Eier auf 6,8 °C kann diese Frage untersucht werden, weil bei dieser Temperatur Diapausebeendigung und Morphogenese möglich sind (vgl. Abb. 42a). Die qualitativen und quantitativen Veränderungen des Entwicklungsverhaltens gegenüber einer Temperatur von konstant 6,8 °C lassen Schlüsse auf Veränderungen zu, die unter der vorhergehenden Einwirkung der Temperatur von 15,6 °C entstanden.

In 1- oder 2monatigem Abstand übertrug ich Eier von 15,6 nach 6,8 °C und prüfte ihre Entwicklungspotenz. Man erhält aus jedem Versuch eine Übersicht über den Entwicklungsverlauf, wie es an einem Beispiel in Abb. 44 dargestellt ist. Die Ergebnisse aller Versuche sind in der Tabelle 5 zusammengestellt.

Während in der Praediapause bis zum Stadium 7 und in der Postdiapause bei 15,6 °C Morphogenese ohne Verzögerung möglich ist (Abb. 43 a und c), wird die Dia-

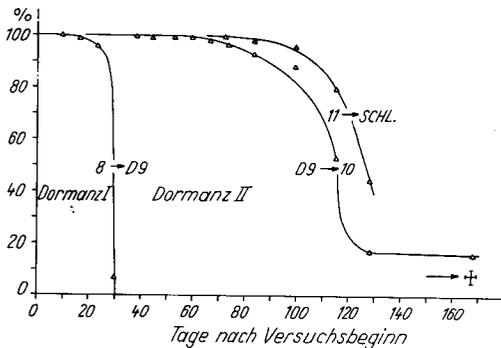


Abb. 44. *Baëtis vernus*: Eientwicklung bei 6,8 °C nach 90tägigem Aufenthalt bei 15,6 °C im Anschluß an die Eiablage. Über die Darstellungsweise vgl. Abb. 42. Mittelwert für 10 Gelege, Stichprobenumfang 173 Eier.

Ordinate: Stichprobenanteile, geordnet nach der Aufeinanderfolge der Stadien, in %.

Abszisse: Zeit nach Übertragung nach 6,8 °C in Tagen.

Tabelle 5 *Baëlis vermis*: Entwicklung der von 15,6 nach 6,8 °C übertragenen Eier (vgl. Abb. 44)

Versuch Nr.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
	Dauer der Vorbehandlung bei 15,6 °C in Tagen	Zahl der Eier in der Stichprobe	%-Anteil der Stadien 7 u. 8 bei Versuchsbeginn	%-Anteil der Postdiapausestadien bei Versuchsbeginn	Frist bis zum Erreichen von 50% Postdiapausestadien (incl. Larven) nach Versuchsbeginn in Tagen	%-Anteil der geschlüpften Tiere bei Versuchsbeginn	Frist bis zum Erreichen von 50% geschlüpften Larven nach Versuchsbeginn in Tagen	%-Anteil der Eier während des Versuchs zur Morphogenese aktiviert	%-Anteil letaler Postdiapausestadien von IV und VIII	%-Anteil bei Versuchsende insgesamt geschlüpfter Larven	%-Anteil letaler Diapausestadien bei Versuchsende
1	90	173	100	0	116	0	126	83,8	0	83,8	15,0
2	121	417	98,8	0	96	0	108	97,6	0	97,1	2,4
3	153	330	97,0	0	89	0	105	99,1	0	97,9	0,9
4	212	422	77,0	0,2	88	0	95	98,1	0,5	98,1	0,9
5	273	447	47,9	0,2	67	0	81	92,2	3,6	89,9	7,6
6	307	489	31,4	2,5	59	< 1	74	88,6	8,0	83,4	7,1
7	333	444	?	7,2	48	8,1	76	69,8	21,0	65,5	13,7
8	ca. 366	429	?	< 19,6	37	12,8	—	> 49,2	46,1	49,7	16,3
9	397	480	?	7,2	32	27,0	—	34,9	76,8	34,9	30,0
10	454	473	?	5,1	—	27,0	—	12,3	97,5	27,5	55,7

Nach der Eiablage einen Tag bei etw 6–8 °C, anschließend bis zur Übertragung nach 6,8 °C Inkubation bei 15,6 °C. Alle Daten sind Mittelwerte für 10 Gelege. Die Zeitangaben für 50% in den jeweiligen Entwicklungsstadien ergeben sich aus graphischen Darstellungen nach der Art der Abb. 44.

pause unter diesen Bedingungen gegenüber 6,8 °C stark verlängert, oder die Entwicklung führt in etwa 75 % der Fälle zur Letalität (Abb. 42 b). Wie aus der Tabelle 5, Spalte X, hervorgeht, bleiben die Eier nach Übertragung auf 6,8 °C noch lange Zeit zur Weiterentwicklung bis zum erfolgreichen Schlüpfen befähigt: Nach 307tägiger Morphogeneseruhe in den Stadien 7 und D 9 sind noch 83 % der Eier nicht sichtbar geschädigt (Tabelle 5, Spalte X, Zeile 6). Darunter müßten gemäß Abb. 42 b etwa 60 % sein, die bei einer konstanten Temperatur von 15,6 °C nicht mehr schlüpften, bei denen also die Beendigung der Diapause entweder vollständig blockiert wäre oder bei denen ihre Beendigung auf Grund der einsetzenden Entwicklung zur Letalität nicht mehr in Erscheinung träte. Die Entscheidung in dieser Alternative ermöglicht die folgende Beobachtung.

Die Fristen, welche nach Übertragung der Eier von 15,6 nach 6,8 °C bis zum Beginn der Morphogenese der Postdiapausephase noch notwendig sind, werden laufend kürzer (Spalten IV und V der Tabelle 5). Dasselbe gilt für das Schlüpfen (Spalten VI und VII). Demnach lassen sich Prozesse zur Verkürzung der Diapausezeit bei 15,6 °C aufweisen. Sie führen eine kontinuierliche Annäherung an die Schwelle zur Postdiapause herbei.

Nach den in Tabelle 5 dargestellten Ergebnissen kann die Frage geprüft werden, ob bei 15,6 °C zwischen den Stadien 7 (—8) und D 9 ein auffälliger Unterschied der Geschwindigkeit der Diapausebeendigung besteht. Aus der Spalte III der Tabelle 5 läßt sich der Anteil der Eier der Stadien 7 und 8 bei Versuchsbeginn entnehmen. Wie ein Vergleich mit der Spalte V erkennen läßt, verringert sich die Zeit bis zur Beendigung der Diapause mit etwa gleicher Geschwindigkeit, unabhängig davon, ob noch die Stadien 7—8 oder bereits das Stadium D 9 überwiegt.

Ergebnis: Prozesse zur Diapausebeendigung laufen bei 15,6 °C nach Prüfung durch Einbringen von Stichproben in günstigere Temperatur (6,8 °C!) auch in Eiern ab, die bei Temperaturkonstanz nicht zum Schlüpfen kommen.

#### β) Untersuchung der bei 0 °C auftretenden Dormanz

Temperaturerniedrigung von 15,6 auf 6,8 °C beschleunigt die Beendigung der Diapause. Über die Verhältnisse bei 0 °C läßt sich etwas aussagen, wenn die Potenz zum Wiederbeginn der Morphogenese durch regelmäßige Übertragung von Eiern auf 15,6 °C überprüft wird. Diese Inkubationstemperatur wurde gewählt, weil sie unverzögerte Morphogenese, jedoch nur sehr verzögerte Diapausebeendigung gestattet (Tabelle 5, Abb. 43 a und c).

In der Abb. 45 entspricht jede Kurve dem Ergebnis eines Versuchs mit bestimmter Dauer des vorhergehenden Aufenthalts bei 0 °C. Am Anfang wurde bis zum Erreichen des Stadiums 7 bei 6,8 °C inkubiert, um die Beeinflussung durch niedrige Temperatur auf die Diapausephase vom Stadium 7 an zu beschränken (vgl. S. 540).

Der Verlauf der Schlüpfperiode, repräsentiert durch je eine Kurve (Abb. 45), ist in allen Versuchen gleichartig: Sie beginnt etwa 6 Tage nach dem Temperaturwechsel und ist in der Regel bereits nach weiteren 7 Tagen beendet, von wenigen Nachzüglern abgesehen. Die Kurven erhalten dadurch ein kennzeichnendes Aussehen mit 2 Knickstellen, die Anfang und Ende der Schlüpfperiode markieren. Die Morphogenese verläuft über das Stadium N 9 (vgl. Tabelle 1). Die Differenz zwischen dem oberen, annähernd abszissenparallelen Kurventeil und 100% entspricht dem Anteil in den Stichproben, welcher die Diapause nicht beendet hat. 50%ige Diapausebeendigung wird demnach zwischen dem 16. (Kurve I) und 35. Tag Kurve II) bei 0 °C erreicht.

Der Nachweis der Möglichkeit, daß zwischen dem 16. und 35. Tag bei 0 °C 50% der Embryonen die Diapause beenden können, führt zu der Frage, wodurch die 12monatige Dauer der Morphogeneseruhe bei konstant einwirkender Temperatur von 0 °C (Tabelle 4) bedingt ist, wenn andererseits bei dieser Temperatur Morphogenese stattfinden kann (Abb. 42d). Es muß sich um eine Dormanz handeln

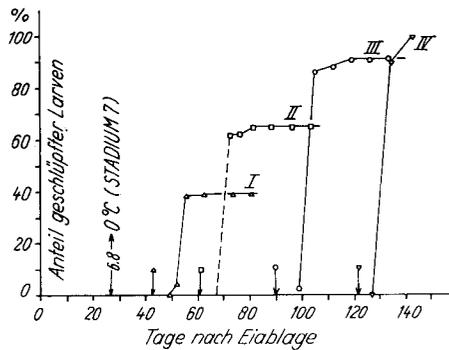


Abb. 45. *Baëtis vernus*: Das Schlüpfen der Larven bei 15,6 °C in Abhängigkeit von der Dauer des vorhergehenden Aufenthalts bei 0 °C. Übertragung nach 0 °C im Stadium 7, nach 27 Tagen bei 6,8 °C. Mittelwerte für Stichproben aus 5 Gelegen, Stichprobenumfang 200—250 Eier.

← 6,8 → 0 °C (Stadium 7). Beginn des Aufenthalts bei 0 °C.

- ▷——> Beginn des durch die Signatur gekennzeichneten Versuchs: jeweils Übertragung von 0 nach 15,6 °C.
- △—— Kurve I: Übertragung nach 15,6 °C 43 Tage nach Eiablage (= nach 16 Tagen bei 0 °C).
- Kurve II: Übertragung nach 15,6 °C 61 Tage nach Eiablage (= nach 34 Tagen bei 0 °C).
- Kurve III: Übertragung nach 15,6 °C 90 Tage nach Eiablage (= nach 63 Tagen bei 0 °C)
- ▽—— Kurve IV: Übertragung nach 15,6 °C 122 Tage nach Eiablage = nach 95 Tagen bei 0 °C).

Gestrichelte Linie: geschätzter Kurvenverlauf.

Ordinate: Schlüpfanteile in %.

Abszisse: Zeit nach Eiablage in Tagen.

welche nicht mit der Diapause identisch ist. Zur Kennzeichnung dieses Unterschiedes soll für diese Phase wie für die übrigen Entwicklungsabschnitte die Abhängigkeit ihrer Dauer von der Temperatur festgestellt werden. Die Ergebnisse enthält die Abb. 46.

Die Kurve wurde in analoger Weise wie für die Morphogenese im Prae- und Postdiapauseabschnitt (Abb. 43a und c) gewonnen. Da eine klare Abgrenzung des Übergangs vom Ruhestadium zum Stadium 8 nicht möglich ist, wurde für diesen Versuch die Zeit bis zum Beginn der Katatrepsis gemessen. Der Anteil der Morphogenese an der Dauer dieses Entwicklungsabschnitts beträgt z. B. bei 6,8 °C weniger als ein Zehntel der Zeit (vgl. Tabelle 1), ist also quantitativ gering. Direkte Beobachtungen bei verschiedenen konstanten Temperaturen bestätigten diese ungefähre zeitliche Beziehung. Die Eier wurden im Stadium 6, nach 14 Tagen bei 6,8 °C, für 184 Tage auf 0 °C gebracht, um die Diapause zu beenden. Zur Adaptation blieben alle Eier vor Versuchsbeginn 24 Std. bei 6,8 °C.

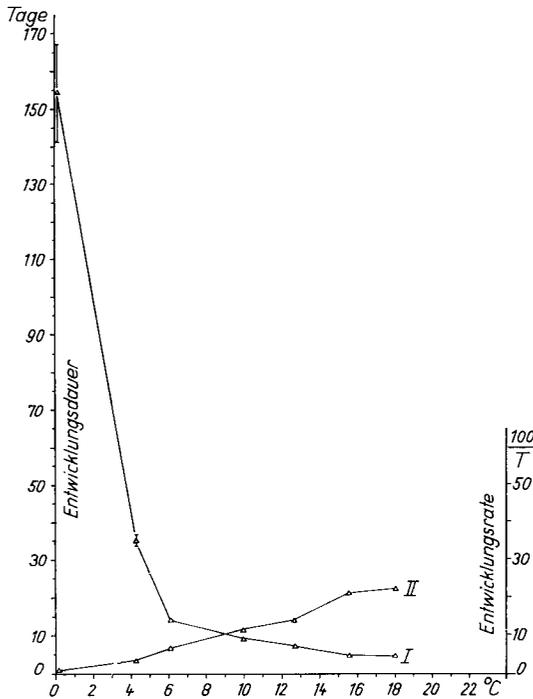


Abb. 46. *Baëtis vernus*: Abhängigkeit der Dauer (Kurve I, Ordinate links) und der Entwicklungsrate (Kurve II, Ordinate rechts) der nach Abschluß der Diapause auftretenden Dormanz von der Temperatur. Vorbehandlung der Eier: Nach der Eiablage 14 Tage 6,8, 184 Tage 0 und 24 Std. 6,8 °C vor der Übertragung auf die Versuchstemperaturen. Für die Kurve I ist der Fehler des Mittelwertes ( $s_{\bar{x}}$ ) für  $P = 1\%$  eingezeichnet.

Ordinate links: Entwicklungszeit in Tagen.

Ordinate rechts: Entwicklungsrate:  $\frac{100}{T}$  T = Zeit in Tagen.

Abszisse: Temperatur in °C.

Ein Vergleich mit den Ergebnissen für die Morphogenese im Prae- und Postdiapauseabschnitt (Abb. 43a und c) läßt einen ähnlichen Verlauf aller 3 Temperatur-Zeitkurven (Kurve I) und ihrer Reziproken (Kurve II) erkennen. Der Temperaturkoeffizient ( $Q_{10}$ ) der Entwicklungsgeschwindigkeit beträgt (berechnet für 15,6 und 10 °C):

$$Q_{10} (Pd) = 3,39.$$

Dieser Wert stimmt fast mit jenem der Morphogenese im Postdiapauseabschnitt überein, während gegenüber der Praediapausemorphogenese eine größere Differenz besteht (S. 537).

Bei den im unteren Temperaturbereich erkennbaren Differenzen zwischen den Kurven sind Zufallsursachen nicht auszuschließen, weil die relativ große Schwankung der Temperatur um den angegebenen Mittelwert ( $4,3 \pm 0,5$  °C und  $0 \pm 0,8$  °C) hier relativ große Geschwindigkeitsunterschiede zur Folge haben könnte. Für die Gesamtdauer dieser Phase ohne Morphogenese ist zu berücksichtigen, daß während der Zeit vor Versuchsbeginn bei dem Aufenthalt von 184 Tagen bei 0 °C (vgl. Legende der Abb. 46) die hier betrachtete Entwicklungsphase bereits z. T. ablief. Der nach Abzug einer Diapausezeit von 26 Tagen (vgl. Abb. 49) errechnete Wert einer Gesamtdauer von 316 Tagen bei 0 °C kommt dem der Tabelle 4 mit 372 Tagen nahe. Vollständige Übereinstimmung kann nicht erwartet werden, weil die für Tabelle 4 ausgewerteten Gelege schon im Entwicklungsstadium 3 nach 0 °C überführt wurden.

Ergebnis: Durch Einbringen von Stichproben in höhere Temperatur (15,6 °C) läßt sich die etwa 12monatige Dormanzzeit bei 0 °C aufgliedern in:

1. eine relativ kurze echte Diapause und 2. eine folgende, durch den Einfluß niedriger Temperatur bedingte Dormanz. Die Dauer der echten Diapause von etwa 11 Monaten bei 15,6 (Abb. 42b) und etwa 3 Monaten bei 6,8 °C (Abb. 48) verringert sich bei 0 °C auf etwa 1 Monat. Die anschließend folgende Phase der Morphogeneruhe zeigt in ihrer Dauer eine ähnliche Temperaturabhängigkeit wie die in Abb. 43c dargestellte Postdiapausemorphogenese.

γ) Untersuchung der bei 6,8 °C auftretenden Dormanz durch Übertragung der Eier nach 15,6 °C

Bei mittleren Temperaturen innerhalb des Temperaturtoleranzbereiches der Entwicklung von *B. vermus*, bei etwa 7 °C, ist vollständig Entwicklung von der Eiablage bis zum Schlüpfen trotz Temperaturkonstanz für fast alle Eier möglich (Abb. 42a). Die Dauer der Entwicklung in den einzelnen Abschnitten läßt sich daher bereits bei Temperaturkonstanz feststellen. Eine analoge Versuchsgruppe wie bei 0 °C mit regelmäßiger Übertragung von Eiern nach höheren Temperaturen erscheint aber als notwendig, um einen Vergleich mit den Ergebnissen der Übertragung von 0 nach 15,6 °C möglich zu machen.

Zu diesem Zweck wurden Versuche mit 11 und 15,6 °C als Inkubationstemperatur an gestellt. Hinzu trat ein Kontrollversuch, für den die Stichproben ebenfalls vom Stein abgelöst wurden, aber im übrigen unter denselben Bedingungen wie vorher verblieben. In jedem Fall

wurde nach 82- (Abb. 47, Versuch I), 119- (Versuch II) und 151tägiger (Versuch III) Vorbehandlung bei 6,8 °C mit der Inkubation begonnen.

Die Schlüpfintensität, also die Anzahl geschlüpfter Larven pro Zeiteinheit, in den Versuchen desselben Zeitpunkts nimmt anfangs mit der Temperatur zu (Abb. 47, vgl. z. B. die Kurve I für a—c), was durch die Stärke der Steigung der Kurven veranschaulicht wird. Dies dürfte bezeichnend für solche Eier sein, welche die Diapause vor Versuchsbeginn vollständig abgeschlossen haben. Ist die Diapause nicht ganz abgeschlossen, tritt mit zunehmender Temperatur zunehmende Entwicklungsverzögerung auf. In der Abb. 47 demonstriert dies der von 15,6 über 11 nach 6,8 °C zunehmende Schlüpfanteil des jeweiligen Versuches (vgl. z. B. die Kurven I, Abb. 47a—c) und bei 15,6 °C die deutliche Scheidung in einen 1. Kurventeil mit großer Steigung, also hoher Schlüpfintensität, und einen 2. Kurventeil mit schnell abnehmender Steigung. Als vollständig beendet gilt die Diapause nur, wenn die Eier sich unverzögert entwickeln.

Aus der Zeitdifferenz zwischen den Summenprozentkurven für das Schlüpfen (Abb. 47, Kurven ausgezogen) und für den Beginn der Postdiapausemorphogenese (Kurven gestrichelt) läßt sich die ungefähre Dauer der Postdiapausemorphogenese ablesen. Sie ist, wie bei Vergleich der Versuche I und III der Abb. 47b und c zeigt, im Mittel annähernd konstant, unabhängig von der Dauer der vorhergehenden 6,8 °C-Behandlung und dem Grad der Diapausebeendigung bei Versuchsbeginn. Unterschiede in der mittleren Dauer der Entwicklung bis zum Schlüpfen entsprechen daher Unterschieden der Dormanzdauer.

Die Schlüpfintensität in den Versuchen I und II bei 15,6 °C (Abb. 47a) ist annähernd gleich, wie auf Grund der annähernd gleichen Steigung im mittleren Teil der Kurven zu erkennen ist. Im Versuch I sind es etwa 30%, die ohne diapausebedingte Entwicklungsverzögerung schlüpfen. Bei 11 °C (Abb. 47b) dagegen zeigt die Kurve I gegenüber II und III und bei 6,8 °C (Abb. 47a) zeigen sogar die Kurven I und II gegenüber III auch im Anfangsteil ihres Verlaufs eine deutlich geringere Steigung. Demnach wird bei 11 und 6,8 °C die Entwicklung noch durch Vorgänge verzögert, die bei 15,6 °C nicht wirksam werden. Unterschiede in der Dauer der Postdiapausemorphogenese können nach den vorher geschilderten Befunden ebensowenig wie solche der Postdiapausemorphogenese (vgl. Abb. 46) Differenzen dieses Ausmaßes erklären. Man muß vielmehr schließen, daß gegen Ende der Diapause höhere Temperaturen einen größeren Anteil der Eier sofort zur Aufnahme der Morphogenese stimulieren können als niedrigere. Gemäß der gefundenen zunehmend später einsetzenden unverzögerten Entwicklung von 15,6 °C mit  $\leq 82$  Tagen (Abb. 47a, Kurve I) über 11 °C mit etwa 119 Tagen (Abb. 47b, Kurve II) nach 6,8 °C mit etwa 151 Tagen (Abb. 47c, Kurve III) scheint die Wirksamkeit von der Temperaturhöhe oder der Temperaturdifferenz abzuhängen. Die Begrenzung dieser Entwicklungspotenz wird demonstriert, wenn die bei 15,6 °C verzögert oder gar nicht mehr schlüpfenden Eier in ihrer Entwicklungsgeschwindigkeit hinter jenen für die niedrigeren Temperaturen zurückbleiben.

Die für eine konstante Temperatur von  $6,8^{\circ}\text{C}$  ermittelte Dormanzdauer (vgl. Abb. 42a, Tabelle 4) gliedert sich demnach in 2 Abschnitte: Einen 1. Abschnitt „echter Diapause“, dessen Dauer durch Temperaturerhöhung verlängert wird, und einen 2., in dem Aktivierung zur Morphogenese durch Temperaturerhöhung möglich ist. Dieser 2. Abschnitt ist nicht identisch mit der im vorigen Kapitel erwähnten Morphogeneseruhe der Postdiapause (vgl. S. 545). Das so erhaltene Versuchsergebnis zur Diapausedauer bei  $6,8^{\circ}\text{C}$  gibt die Abb. 48. Die aus der Kurve ablesbaren Zeiten sind auf Grund der analogen Versuchsbedingungen mit den aus der Abb. 45 hervorgehenden für  $0^{\circ}\text{C}$  vergleichbar: Die nach Reduktion der Dormanzdauer auf den 1. Abschnitt, der „echten Diapause“, erhaltene mittlere Diapausedauer von etwa 3 Monaten (100 Tage) übertrifft immer noch jene für  $0^{\circ}\text{C}$  mit etwa 1 Monat (Abb. 45).

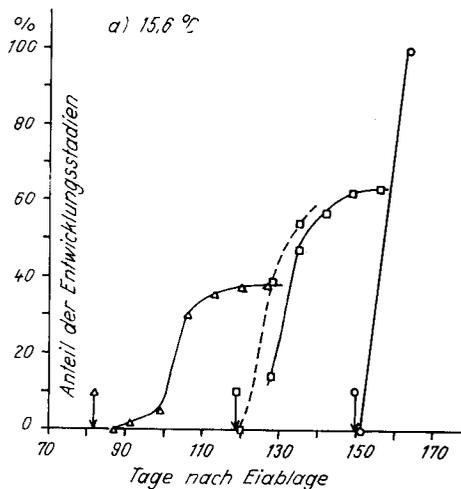


Abb. 47. *Baëtis vernus*: Entwicklungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Dauer des Aufenthalts bei  $6,8^{\circ}\text{C}$  vom Zeitpunkt der Eiablage und von der Inkubationstemperatur. Summenprozentkurven der Postdiapausestadien (gestrichelte Kurve) und der geschlüpften Larven (ausgezogene Kurve). Mittelwerte für Stichproben aus 8 Gelegen, Stichprobenumfang 200–250 Eier.

—△ Inkubationsbeginn nach 82 Tagen bei  $6,8^{\circ}\text{C}$  (Kurve I)  
 —□ Inkubationsbeginn nach 119 Tagen bei  $6,8^{\circ}\text{C}$  (Kurve II)  
 —○ Inkubationsbeginn nach 151 Tagen bei  $6,8^{\circ}\text{C}$  (Kurve III)

a) Inkubation bei  $15,6^{\circ}\text{C}$ ,

b) Inkubation bei  $11^{\circ}\text{C}$ ,

c) Kontrolle: ohne Temperaturerhöhung nach Ablösen der Stichproben vom Stein,

◁—→ Termin des durch die Signatur gekennzeichneten Versuchs.

Aus der Differenz zwischen den gestrichelten und den ausgezogenen Kurven ergibt sich die Dauer der Postdiapausemorphogenese.

Ordinate: Anteile der Entwicklungsstadien in %.

Abszisse: Zeit nach Eiablage in Tagen.

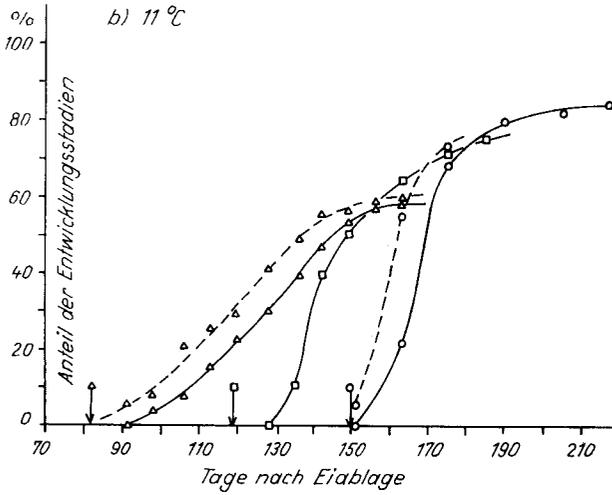


Abb. 47b

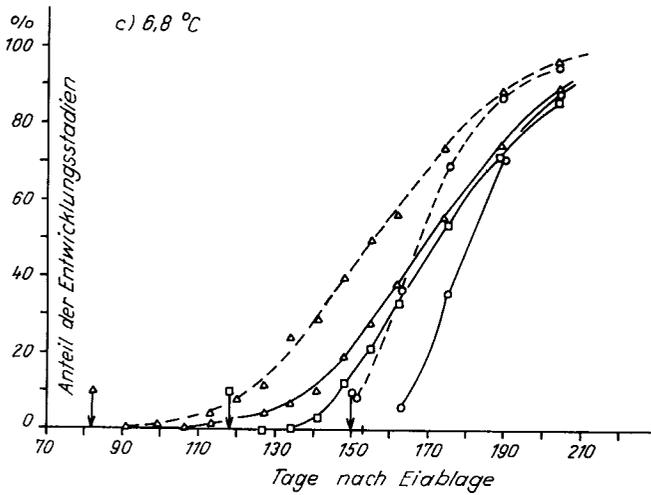


Abb. 47c

Eier, die vom Stein abgelöst wurden, beginnen unter denselben Außenbedingungen regelmäßig die Postdiapausemorphogenese etwas früher als die am Stein verbliebenen. Ich verglich jeweils benachbarte Teile von 8 Gelegen, von denen einer vom Stein abgelöst wurde, aber noch am übrigen Gelege festhing, der andere am Stein haftete. Während z. B. im haftenden Gelegeteil im Mittel 39,9% geschlüpft waren, waren es im abgelösten bereits 51,3% bei 6,8 °C. Es muß hervorgehoben werden, daß diese Manipulationen die Gliederung des Entwicklungsverlaufs nicht verändern. Nur späte Entwicklungsstadien sind auf diese Weise zum Beginn der Morphogenese zu stimulieren: Wenn Teile desselben Geleges zu verschiedenen Zeiten nach Eiablage vom Stein abgelöst werden, schlüpft nur der jeweils sensible Teil der Eier des älteren Versuchs früher als bei

den folgenden. Dieses demonstrieren die Kurven des Schlüpfens der Abb. 47c (Kurven I—III), wenn der anfängliche Entwicklungsvorsprung der früher abgelösten Proben nach einiger Zeit verlorengeht, so daß zunächst die Kurven I und II und schließlich auch die Kurve III fast die gleichen Werte erreichen.

Ergebnis: Die Gesamtdauer der Dormanz gliedert sich bei 6,8 °C in einen 1. Abschnitt „echter Diapause“, welcher länger ist als der vergleichbare bei 0 °C. Er ist dadurch gekennzeichnet, daß die Morphogeneseruhe auch bei Temperaturerhöhung nicht abgebrochen wird. Im 2. Teil der Dormanz bleiben die Eier bei einer konstanten Temperatur von 6,6 °C in Dormanz, während sie nach Temperaturerhöhung in Morphogenese eintreten. Hinzu kommt, daß die Morphogenese bei Eiern, die vom Stein abgelöst wurden, gegenüber solchen, die am Stein haften, früher beginnt.

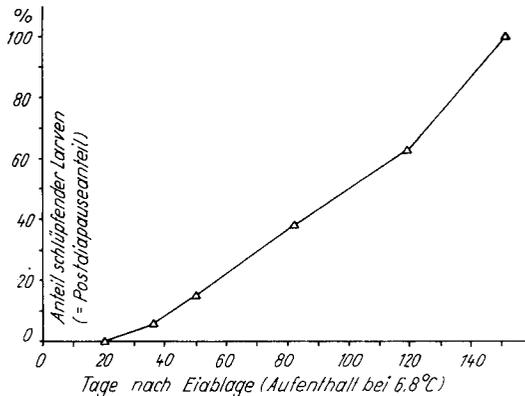


Abb. 48. *Baëtis vernus*: Anteil der Eier, der die Diapause beendete (Postdiapauseanteil) in Abhängigkeit von der Dauer des Aufenthalts bei 6,8 °C. Prüfung durch Inkubation von Stichproben bei 15,6 °C, Feststellung des Anteils unverzögert schlüpfender Larven (vgl. Abb. 47). Mittelwerte für 5—8 Gelege, Stichprobenumfang 200—250 Eier.

Ordinate: Postdiapauseanteil in %.

Abszisse: Zeit nach Eiablage mit Aufenthalt bei 6,8 °C in Tagen.

δ) Die Folgen vorübergehender Einwirkung von Temperaturen unter dem Gefrierpunkt: Beeinflussung der Diapause und die Kälteresistenz

Zwischen 15,6 und 0 °C nimmt die Diapausedauer mit sinkender Temperatur ab. Es erhebt sich die Frage, ob und in welchem Maß diese Tendenz noch bei negativen <sup>Celsiusgraden</sup> Temperaturen anhält. Die Möglichkeit, dies zu untersuchen, wird durch das Ausmaß der Kälteresistenz bestimmt. Diese Tatsache hat zwangsläufig eine gemeinsame Prüfung beider Probleme zur Folge. Abgesehen aber von dieser Beziehung erscheint es auch als wichtig, den Grad der Kältesensibilität oder Resistenz während der gesamten Embryogenese zu verfolgen, um festzustellen, ob eine Synchronisierung mit der Diapause auftritt. Zusammenfassungen über die Kälteresistenz bei Insekten geben SALT (1961) und ASAHINA (1966).

Tabelle 6 *Baëtis vernus*: Die Wirkung kurzfristiger Frostbehandlung auf die Eier: Kälteresistenz und Beeinflussung der Diapause

I Versuch Nr.	II Stichprobenumfang		III Dauer Vorbehandlung 6,8 °C, in Tagen	IV Entwicklungsstadium bei Versuchsbeginn	V Dauer Adaptation 0 °C, in Tagen	VI Dauer Kältebehandlung in Tagen	VII %-Anteil beendeter Diapause		VIII %-Anteil bis zum Schlüpfen überlebender Embryonen (= Kälteresistenz)	
	a	b					a	b	a	b
1	79	etwa 90	7	3	2	2	0	0	19	0
2	105	107	14	5	2	2	0	0	0	0
3	95	etwa 90	27	7	2	2	32,5	0	48,5	0
4	121	etwa 110	50	D 9 <sup>1)</sup>	2	2	66	0	71	0
5	185	110	82	D 9 <sup>1)</sup>	3	4	73	47,5	79	22
6	255	284	122	D 9 <sup>1)</sup>	3	3	94,5	45,5	94,5	36,5
7	—	79	197	D 9 <sup>1)</sup>	2	2	—	—	—	62
8	—	95	197	D 9 <sup>1)</sup>	2	4	—	—	—	13,7
9	111	—	197	D 9 <sup>1)</sup>	2	8	—	—	73,9	—
10	120	—	197	D 9 <sup>1)</sup>	2	25	—	—	29,2	—
11	96	101	197	D 9 A — 10	2	2	—	—	27,1	1,0
12	103	—	197	D 9 A — 10	2	4	—	—	0	—
13	51	56	197	11	2	2	—	—	7,8	10,7
14	—	127	> 180	D 9 <sup>1)</sup>	10—14	2—4	—	—	—	98
15	—	37	> 180	D 9 A — 11	10—14	2	—	—	—	51,5
16	—	31	> 180	D 9 A — 11	10—14	4	—	—	—	32
17	—	83	> 180	D 9 A — 10	10—14	3	—	—	—	82
18	—	74	> 180	11	10—14	3	—	—	—	0

a) Frostbehandlung bei -12 bis -16 °C.

b) Frostbehandlung bei -26 bis -30 °C.

Für alle Versuche Stichproben aus mindestens 5 Gelegen, Versuche 4—6 und 9—13 jeweils nach Stichproben aus denselben Gelegen.

D 9 A: Stadium D 9 in Katatrepsis.

1) Neben dem Stadium D 9 die übrigen typischen Diapausestadien.

Vom Stein abgelöste Eier wurden in Wasser eingefroren oder, oberflächlich abgetrocknet, in abgedichteten Paraffinblöcken der Kälte ausgesetzt. Die Ergebnisse waren bei beiden Methoden gleich. Von der Eiablage bis zum Versuchsbeginn waren die Gelege bei 6,8 °C gehalten worden (Tabelle 6, Spalte III). Die Stichproben blieben zur Adaptation vor und nach der Frostbehandlung einige Tage bei 0 °C (Spalte V). Zur Prüfung des Entwicklungsstandes wurde bei 15,6 °C inkubiert. Als „aktiviert“ gelten Eier, die dabei innerhalb von 2 Wochen die Morphogenese beginnen. Die Eier stammten zu gleichen Teilen aus mehreren, meist 5 Gelegen. Unregelmäßige Schwankungen der Ergebnisse sind trotz gleicher Versuchsbedingungen nicht ungewöhnlich, sie werden vor allem durch oft erhebliche Unterschiede der Kälteresistenz verschiedener Gelege bedingt. Es konnte nur in 2 Temperaturbereichen experimentiert werden: —12 bis —16, als —14 °C bezeichnet (Spalten II, VII, VIIIa), und —26 bis —30, als —28 °C bezeichnet (Spalten II, VII, VIIIb). Als resistent gegen die geprüften Temperaturen gelten Eier, die sich nach der Frostbehandlung bis zum Schlüpfen entwickeln (Spalte VIII). Dies festzustellen erscheint als wichtig, weil in einigen Fällen Spätschäden auftreten, so daß die Postdiapausemorphogenese zwar begonnen, aber wegen Letalität nicht beendet wird. Die Diapause gilt in solchen Fällen als aufgehoben (Spalte VII).

Entgegen dem, was die natürlichen Umweltverhältnisse der Population erwarten ließen, ist hohe Kälteresistenz vorhanden. Sie erreicht ihr Maximum einige Zeit nach Diapausebeginn (Versuch 6 und 7) und klingt während der Postdiapause aus (Versuche 15, 16, 17 und 18). Während in Versuchen des Jahres 1964/65 die Kältesensibilität nicht vor der späten Postdiapause erkennbar zunahm (Versuche 14—18), erwiesen sich 1966/67 alle Postdiapausestadien als etwa gleich empfindlich, obgleich eine geringe Steigerung zu den fortgeschrittenen Stadien noch in Erscheinung tritt (Versuche 11—13). Wie ein Vergleich der Versuche 7 und 8 mit 14 und 16 aber zeigt, unterscheiden sich beide Versuchsserien schon in der Diapause in gleicher Weise. Es muß offenbleiben, ob die ungleiche Adaptationszeit darauf Einfluß hat. Die Letalitätsrate hängt sowohl vom Grad der Abkühlung als auch von der Einwirkungsdauer der Frosttemperatur ab (Versuche 5—10).

Der Vergleich des Versuchs 4 (Tabelle 6) mit den in der Abb. 49 dargestellten Befunden (Säule für das Stadium D 9) beweist, daß die Diapausebeendigung bei —14 °C gegenüber 0 °C beschleunigt wird: Während nach etwa 22 Tagen bei 0 °C 50% der Eier die Diapause beenden, sind es nach 2 Tagen —14 °C bereits 66%. In den Versuchen 3 und 5 deutet sich dasselbe an, nur sind die Vergleichsmöglichkeiten weniger günstig. Die angewendeten Kälteperioden reichen nicht aus, um alle überlebenden Eier zu aktivieren: Es bleiben einige übrig, welche die Morphogenese frühestens nach mehrwöchigem Aufenthalt bei 6,8 oder 0 °C wieder aufnehmen (Versuche 1, 3, 4 und 5, Vergleich der Spalten VIIa und VIIIa). Für quantitative Angaben über das Ausmaß der Verkürzung der Diapausezeit bei —14 °C genügen die Befunde nicht.

Die Ergebnisse bei —28 °C lassen sich wegen der zu spät einsetzenden Resistenz für diese Fragestellung nicht verwenden. Sie stellen aber Beispiele dar für das Auftreten von Spätschäden: Infolgedessen ergeben sich für die Kälteresistenz geringere Prozentwerte als für die Diapause-

beendigung (Versuche 5 und 6). Die Versuche 14–18 wurden mit Eiern durchgeführt, die auf Grund der Dauer der 6,8 °C-Vorbehandlung bereits überwiegend die Diapause beendet haben müßten, so daß dies Problem auch hier entfällt.

Ergebnis: Die Kälteresistenz der Eier von *B. vernus* nimmt mit dem Fortschreiten der Entwicklung zu, erreicht einige Zeit nach Diapausebeginn ihr Maximum und sinkt oft erst einige Zeit nach dem Beginn der Postdiapausemorphogenese wieder merkbar. Diapause und Kälteresistenz sind demnach nicht synchronisiert. Das entspricht Befunden PRECHTS (1964) an den Imagines der Schmalwanze *Ischnodemus sabuleti*. Bei —14 °C ist die Diapausedauer gegenüber 0 °C noch weiter verkürzt von etwa 22 Tagen auf wenige (etwa 2) Tage.

ε) Die Beeinflussung des Diapauseauftretens während der Praediapause durch eine Temperatur von 0 °C

Mit dem Stadium 6 oder 7 beginnt die Diapause, soweit dies nach dem Kriterium der Morphogenesehemmung zu beurteilen ist.

Es liegt die Frage nahe, ob sich bereits vor dem Stadium 6 Erscheinungen nachweisen lassen, die zur Diapause in Beziehung stehen. Wie schon CAYROL, JOURDHEUIL und MISSONIER (1963) für die Diptere *Pegomyia betae* und die Lepidoptere *Agrotis exclamationis* nachweisen konnten, ist vor der Beendigung der Praediapausemorphogenese das Eintreten der Diapause durch niedrige Temperaturen zu verhindern. In Analogie zu diesen Versuchen wurden Gelege in den Entwicklungsstadien 3, 5, 7 und D 9 (vgl. Tabelle 1) nach 0 °C übertragen und in regelmäßigen Abständen Stichproben bei 15,6 °C auf ihre Entwicklungsfähigkeit geprüft.

Wie die Versuche (Abb. 49) ergeben, ist relativ schnelle Aufhebung der normalen Determination zur Diapause selbst bei Übertragung im Stadium 3 möglich. Allerdings ist die dafür notwendige Einwirkungszeit noch deutlich länger als bei den älteren Stadien. Demgegenüber ließ sich zwischen den Stadien 5, 7 und D 9 eine signifikante Differenz nicht mehr nachweisen.

Da jedem Versuch eine Gruppe von 5 anderen Gelegen zugrunde liegt, muß der dadurch verursachte Fehler des Mittelwertes berücksichtigt werden (vgl. S. 528). Dieser ist bei nur 5 Gelegen relativ groß ( $\pm 23\%$ ). Da die Versuche mit den Stadien 5, 7 und D 9 sich nur geringfügig unterscheiden, wurden sie der besseren statistischen Sicherung wegen zusammengefaßt und der Kurve für das Stadium 3 gegenübergestellt (Abb. 50). Der sich ergebende Fehler des Mittelwertes ist für Meßpunkte beider Kurven eingezeichnet. Nahe 0 und 100 % wird der Fehler schnell geringer, doch fehlen dafür genaue Zahlen.

Die bei Übertragung im Stadium 3 nachweisbare Sensibilität zur Aufhebung der Diapause darf nicht genau auf dies Stadium bezogen werden, weil bei 0 °C die Morphogenese langsam fortschreitet, so daß nach 56 Tagen das Stadium 5 vorherrscht. Zu diesem Zeitpunkt schlüpfen bereits 50 % der Larven ohne Verzögerung bei 15,6 °C (Abb. 50).

Obleich die Diapause bei mindestens 50% der Eier im Stadium 5 beendet wird, entwickeln sich alle Embryonen bei einer konstanten Temperatur von 0 °C bis zum Stadium 7, in dem die mehrmonatige Morphogenesesistierung auftritt (Abb. 42d). Da im Anschluß an die Diapause die Dormanz der Postdiapause beginnt (vgl. S. 546), wird demnach auch in dieser Entwicklungsphase die Morphogenese nicht vor dem Stadium 7 unterbrochen, ebenso wie in der Diapause.

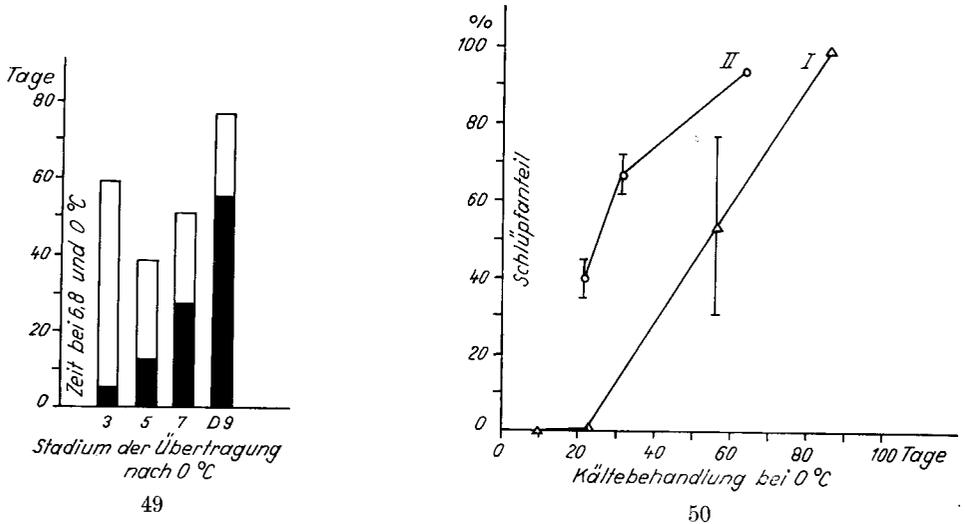


Abb. 49. *Baëtis vernus*: Mittlere Dauer der Aufhebungsphase der Diapause bei 0 °C (50% geschlüpfte Larven) nach unterschiedlich langer Inkubationsdauer bei 6,8 °C von der Eiablage bis zum Beginn der 0 °C-Einwirkung. Jede Säule wurde nach Mittelwerten für je 5 Gelege gewonnen. Stichprobenumfang 150–250 Eier. Prüfung der Entwicklungspotenz im Abstand von 15–35 Tagen durch Inkubation von Stichproben bei 15,6 °C (vgl. Abb. 50).

Ordinate: Entwicklungsdauer in Tagen nach der Eiablage

Abszisse: Entwicklungsstadien bei der Übertragung nach 0 °C

Schwarz: Dauer des Aufenthalts bei 6,8 °C bis zum Erreichen des auf der Abszisse angegebenen Entwicklungsstadiums

Weiß: Für 50% Schlupf notwendige Dauer des Aufenthalts bei 0 °C.

Abb. 50. *Baëtis vernus*: Schlüpfanteil bei 15,6 °C in Abhängigkeit von der Dauer der Kältevorbehandlung bei 0 °C und dem Entwicklungsstadium bei Übertragung nach 0 °C.

△ — Kurve I: Übertragung nach 0 °C im Entwicklungsstadium 3 (nach 5 Tagen bei 6,8 °C). Stichproben aus 5 Gelegen, Stichprobenumfang 150–250 Eier.

○ — Kurve II: Zusammenfassung der Werte für die Übertragung nach 0 °C im Stadium 5 (nach 12 Tagen bei 6,8 °C), 7 (nach 27 Tagen bei 6,8 °C) und D9 (nach 55 Tagen bei 6,8 °C). Stichproben aus jeweils 5 Gelegen, Stichprobenumfang jeweils 150–250 Eier. Eingezeichnet ist der Fehler des Mittelwertes ( $s_{\bar{x}}$ ) nach den errechneten Werten für  $P = 5\%$ .

Ordinate: Schlüpfanteile in %

Abszisse: Aufenthalt bei 0 °C im Anschluß an die Entwicklungsphase bei 6,8 °C, in Tagen.

Ergebnis: Der Eintritt der Diapause bei *B. vernus* ist bereits während der Praediapausemorphogenese unter der Einwirkung einer Temperatur von 0 °C zu verhindern, spätestens im Stadium 5. Die Sensibilität für den Kälteeinfluß ist bei Übertragung im Stadium 3 geringer als in den Stadien 5, 7 und D 9.

ζ) Die zur Letalität führenden Temperaturbedingungen

Letale Embryonen treten bei 0 sowie bei 15,6 und 20 °C in größerer Anzahl auf.

Bei 0 °C sind es vorwiegend späte Postdormanzstadien (Stadien 10 und 11, Tabelle 1) mit fast schlüpfreifen Embryonen, die bei Temperaturkonstanz letal werden (vgl. S. 534). Es kommen jedoch gemäß Abb. 42d Aufenthaltsdauern von bis zu 20 Monaten bei 0 °C vor, ohne daß die Postdormanzmorphogenese wieder einsetzt. Daher blieb festzustellen, in welchem Maße die bei niedriger Temperatur zur Letalität führende Schädigung bereits während der Dormanz oder erst während der postdormanzmorphogenese entsteht. Dies ließ sich durch Übertragung von Stichproben von 0 °C auf eine Temperatur von 15,6 °C untersuchen. Als geschädigt wurden alle Embryonen angesehen, die vor dem Schlüpfen absterben. Eventuell während der Larvenzeit auftretende Spätwirkungen konnten nicht berücksichtigt werden.

Nach Tabelle 7 ist nach 17 Monaten bei 0 °C der Anteil der Eier, die sich ungestört bis zum Schlüpfen entwickeln, unter den Postdormanzstadien (Spalte V) hoch signifikant geringer als unter den vorhergehenden (Spalte III). Demnach wer-

Tabelle 7 *Baëtis vernus*: Anteil der letalen Eier nach 17 Monaten konstanter Temperatur von 0 °C.

Überprüfung der Entwicklungspotenz durch Übertragung von Stichproben nach 15,6 °C. Alle vor dem Schlüpfen absterbenden Embryonen gelten als letal, auch wenn sie die Morphogenese nach der Temperaturerhöhung vorübergehend weiterführen.

I Dauer der An- fangsentwicklung, Tage <sup>1)</sup>	II Dormanzstadien		IV Postdormanzstadien	
	Umfang der Stichprobe	% letal	Umfang der Stichprobe	% letal
5	65	9,2	181	33,2
12	31	16,1	211	65,0
27	19	0	234	59,5
55	16	0	154	70,8
Summe	131	8,4	780	57,0

Der  $\chi^2$ -Wert für die Unterschiede der Häufigkeiten der Letalanteile bei den Dormanz- und den Postdormanzstadien beträgt:  $\chi^2 = 106,3$ , FG: 1. Die Wahrscheinlichkeit, daß die Unterschiede zufallsbedingt sind, ist  $< 0,1\%$  ( $P < 0,001$ ).

<sup>1)</sup> Anfangsentwicklung nach der Eiablage bis zur Übertragung nach 0 °C bei 6,8 °C.

Alle Daten sind Mittelwerte für 5 Gelege pro Versuch.

den die zur Letalität führenden Vorgänge nach Abschluß der Dormanz mindestens schneller als währenddessen wirksam.

Bei dieser Dormanz handelt es sich nach den in Abb. 45 dargestellten Ergebnissen nur etwa während des 1. Monats noch um eine Diapause, während der folgenden Zeit demnach um eine Dormanz der Postdiapause. Gemäß der Abb. 42d sind im Mittel etwa 3—5 Monate Aufenthalt in den Stadien der Postdiapause mit Morphogenese notwendig, um eine Weiterentwicklung bis zum Schlüpfen nach Temperaturerhöhung unmöglich zu machen.

Bei 20 und 15,6 °C ließ es sich durch Übertragung auf 6,8 °C auf Letalität prüfen. Am schnellsten sterben die Eier bei 20 °C ab (vgl. Abb. 42e). Bei 15,6 °C ist die  $F_{11}$  erheblich länger (Tabelle 5): Der Schlüpfanteil der Stichproben sinkt nach 333tägiger Inkubation bei 15,6 °C deutlich ab (Tabelle 5, Spalte X, Zeile 7), die restlichen Embryonen schlüpfen nicht mehr. Das bedeutet jedoch nicht, daß die Eier schon bei Versuchsbeginn letal vorliegen, sondern ein erheblicher Anteil nimmt nach relativ kurzer Zeit bei 6,8 °C die Postdiapausemorphogenese auf (Spalten IV, V) und stirbt während dieser ab (Spalte IX). Die Schädigung der Eier, welche die Letalität zur Folge hat, findet demnach bereits während der Dormanzphase statt. Nach Tabelle 5, Spalte XI, steigt auch der Anteil der in den Diapausestadien absterbenden Eier gegen Versuchsende schnell an. Wie im Versuch über die Letalität bei 0 °C kann auch für 15,6 °C über Spätschäden, die sich nach dem Schlüpfen der Eilarven manifestieren, nichts ausgesagt werden.

Bestimmte abnorme Gestaltungsvorgänge, wie sie bei günstigen Entwicklungsbedingungen nicht auftauchen, sind unter den geschädigten Embryonen häufiger zu finden. Bei ihnen fehlt die normale Koordination der morphogenetischen Prozesse: So werden pigmentierte Augenanlagen gebildet, ohne daß eine Katatrepsis stattfindet, oder die Katatrepsis bleibt auf halbem Wege stehen, so daß der sich weiter differenzierende Embryo eine polare Lage im Ei erhält. In allen beobachteten Fällen schlüpften Larven aus diesen Eiern nicht. Ähnliche durch hohe Temperaturen hervorgerufene Mißbildungen beschreibt LE BERRE (1959) an Embryonen von *Locusta migratoria* (Acridiidae).

Ergebnis: Während die zur Letalität führende Schädigung der Embryonen bei 0 °C vorwiegend in den Postdormanzstadien entsteht, geschieht dies bei relativ hoher Temperatur (15,6 °C) auch bereits während der Dormanz, die in diesem Fall eine Diapause ist (vgl. Definition S. 540).

#### η) Zusammenfassung und Schlußfolgerungen

Auf Grund des Entwicklungsverhaltens der Eier von *B. vernus* in verschiedenen Versuchen mit konstanten und wechselnden Temperaturen läßt sich die Embryogenese in der folgenden Weise gliedern:

1. Praediapausemorphogenese findet von der Eiablage bis zum Stadium 6 zwischen 0 und 20 °C statt. Während dieses Entwicklungsabschnitts, spätestens bis

zum Stadium 5, läßt sich die normale Determination der Eier zur Diapause durch eine Temperatur von 0 °C aufheben.

2. Die Diapause ist definiert als ein Entwicklungsabschnitt, der eine unverzögerte Morphogenese unter vorher und nachher günstigen Temperaturen nicht mehr gestattet. Auf Grund dieser Definition kann die Diapause bei *B. vernus* in 2 Abschnitte gegliedert werden:

a) Diapause mit langsamer Morphogenese: Abschnitt der Morphogenese zwischen den Stadien 6—7 und D 9, dessen Temperaturvalenzbereich gegenüber den übrigen Morphogenesephasen auf den Bereich zwischen etwa +4 und +15,6 °C eingengt ist. Das Temperaturoptimum ist auf etwa +7 °C abgesunken.

b) Diapause ohne Morphogenese: Im Stadium 7 oder D 9 eintretende Phase ohne äußerlich sichtbare Morphogenese. Das Stadium des Beginns ist von der Temperatur und den Eigenschaften des jeweiligen Eise abhängig.

Durch Temperaturerhöhung von 6,8 nach 15,6 °C läßt sich die nach Befunden bei einer konstanten Temperatur von 6,8 °C als einheitlich erscheinende Dormanzphase aufgliedern: Im 1. Abschnitt „echter Diapause“ wirkt Temperaturerhöhung entwicklungsverzögernd, im 2. entwicklungsbeschleunigend.

Die Dauer der gesamten Diapause nimmt von 15,6 über 6,8 und 0 °C nach —14 °C ab. Bei 15,6 °C finden die Diapause verkürzende Prozesse in allen Eiern statt, auch in jenen, die bei Temperaturkonstanz vor dem Wiederbeginn der Morphogenese absterben. Die Schädigungen, welche das Absterben bei 15,6 °C verursachen, entstehen während der Diapause in den Eiern. Einige Zeit nach Diapausebeginn erreicht die Kälteresistenz ihr Maximum.

3. Die Postdiapause ist der im Anschluß an die Diapause ablaufende Entwicklungsprozeß bis zum Schlüpfen der Larven, dessen Temperaturvalenzbereich zwischen 0—3,5 und etwa 24 °C mit einem Optimum im Bereich um 20 °C liegt. Dieser Entwicklungsabschnitt läßt sich untergliedern:

a) Postdiapause ohne Morphogenese: Bei niedrigen Temperaturen nahe 0 °C mehrere Monate dauernder Abschnitt meist ohne sichtbare Morphogenese. Die Morphogenesesistierung tritt bei 0 °C, jedoch nicht vor dem Stadium 7 ein.

b) Postdiapause mit Morphogenese: Bei einer konstanten Temperatur von 0 °C führt ein Aufenthalt von 4—5 Monaten in diesem Entwicklungsabschnitt zur Letalität. Die Eilarven schlüpfen unter diesen Bedingungen nicht. Während der vorhergehenden Dormanz laufen die zur Letalität führenden Prozesse mindestens erheblich langsamer ab. Während dieser Phase klingt außerdem die Resistenz der Eier gegen Temperaturen unter dem Gefrierpunkt (—14 °C, —28 °C) aus.

Das Kriterium, auf Grund dessen gewöhnlich das Auftreten einer Diapause festgestellt wird, ist die Hemmung der Morphogenese oder anderer Entwicklungsprozesse. Bevor diese aber sichtbar wird, kann bei *B. vernus* die Determination zur

Diapause mit fast der gleichen Effektivität bei 0 °C aufgehoben werden, mit der später die Beendigung der begonnenen Diapause erreichbar ist. Eine bezeichnende Eigenschaft des Diapauseystems kann demnach ausgebildet werden, bevor Veränderungen des Morphogeneseverlaufs dies anzeigen.

Die Temperaturabhängigkeit der Geschwindigkeit des physiologischen Diapauseablaufs unterscheidet sich stark von jener aller Morphogeneseabschnitte: Die geringste Dauer wurde für -14 °C gemessen und von 0 bis +15,6 °C steigt sie weiter an. Außerdem ist die Geschwindigkeit der Diapause beendenden Prozesse unabhängig vom Entwicklungsstadium: Für 6,8 °C ist die durchschnittliche Dauer der Diapause bei Beginn der Morphogeneseruhe im Stadium 7 oder D 9 annähernd gleich. Bei 15,6 °C findet die Verkürzung der Diapusedauer im Stadium 7 und 8 genauso statt wie im Stadium D 9 (Tabelle 5, Spalten III und V). Diese Befunde kennzeichnen die Diapause als einen nicht unmittelbar mit der Morphogenese korrelierten Prozeß.

Dies Ergebnis wird durch die auffällige Flexibilität des Morphogeneseablaufs von *B. vernus* nach der Ausbildung der Diapausevoraussetzungen bestätigt. Je nach der Temperatur prägt sich die sichtbare morphogenetische Reaktion in verschiedenen Stadien oder mit unterschiedlicher Intensität aus: Am frühesten bei 20 °C, im Stadium 6, bei den übrigen geprüften Temperaturen im Stadium 7. Im 2. Fall manifestiert sich die Reaktion bei 0 °C als Sistierung, bei den übrigen Temperaturen zwischen 3,6 und 15,6 °C meist als Verlangsamung der Morphogenese.

Die Entwicklung vom Stadium 8 bis D 9 tritt in dieser Form nur bei einer Morphogenese unter den physiologischen Bedingungen der Diapause auf. Gegenüber dem normalen Ablauf bei diapausefreier Embryogenese ist die Koordination der Wachstums- und Differenzierungsvorgänge verändert: Die Kontraktion des Keimstreifs sowie Wachstums- und Differenzierungsvorgänge geschehen vor, statt wie normalerweise, nach der Katatrepsis. Die Morphogenese dieses Entwicklungsabschnitts ist nach den dargestellten Befunden in ihrem Verlauf und ihrer Geschwindigkeit von den Diapausebedingungen und der Temperatur abhängig.

Die hier zur Postdiapause gerechnete Dormanzphase, die im Anschluß an die Diapause erkennbar wird, ist vom physiologischen Diapauseablauf unabhängig, soweit er bei Kälte stattfindet. Mit der Quieszenz hat diese Morphogeneseruhe ~~scheinbar~~ gemeinsam, daß sie etwa die gleiche Temperaturabhängigkeit wie die Postdiapausemorphogenese zeigt. Als Quieszenz im strengen Sinn kann sie aber trotzdem nicht angesehen werden, weil diese bei Temperaturen, die für die Morphogenese günstig sind, gar nicht als Morphogeneseruhe in Erscheinung treten dürfte.

### Diskussion der Ergebnisse

Die von ILLIES (1959) beobachtete „retardierte Entwicklung“ der Ephemeropteren-Gelege der Gattung *Baëtis* war Anlaß der vorliegenden Untersuchung, als deren Aufgabe es sich ergab, die zugrunde liegenden Vorgänge aufzufinden. Das geschah durch die Beobachtung der Embryogenese der beiden Arten *Baëtis rhodani* und *B. vernus*. Experimente mit verschiedenen Temperaturbedingungen ermöglichten eine Beschreibung der Temperaturabhängigkeit der Entwicklung und eine Analyse der Dormanzbedingungen.

Die Feststellung von ILLIES (1959), daß bei *Baëtis*-Arten eine winterliche Entwicklungsretardation im Eistadium vorkomme, kann bestätigt und eingeeengt werden.

Bei *B. rhodani* gibt es in Laboratoriumsversuchen eine über das Maß der normalen Variation hinausgehende Entwicklungsverzögerung nicht. Alle Larven schlüpfen zwischen 20 und 6,8 °C innerhalb von etwa 10—50 Tagen nach Eiablage. Bei 0 °C ist die Entwicklung nach spätestens 5 Monaten letal (Tabelle 2).

MACAN (1957) und PLESKOT (1958) fanden, daß während des Frühwinters bei dieser Art die jüngsten Larvenstadien sehr zurücktreten und, nach MACAN, im Januar plötzlich in großer Zahl erscheinen. Wie diese Beobachtung, die auf Eiüberwinterung schließen läßt, mit den Befunden dieser Arbeit zu vereinbaren sein wird, muß vorerst offenbleiben. Die Tatsache, daß bei mehrschichtig übereinander gelagerten Gelegen in den untersten Schichten das Schlüpfen mindestens 3 Monate verspätet eintreten kann, vermag das Auftreten kleinster Larven während aller Wintermonate, nicht aber ihre starke Vermehrung im Januar zu erklären. Doch auch auf Grund der Verteilung der Larvenstadien scheint das Ergebnis nicht einheitlich zu sein: BRETSCHKO (1965) schreibt nach Untersuchungen in Österreich: „Befunde, die für eine Eidiapause (bei *B. rhodani*) sprechen würden, liegen nicht vor.“

Bei *B. vernus* ist in allen Fällen eine Diapause in die Embryogenese eingeschaltet. Diese Form der Dormanz tritt weitgehend unabhängig von den Temperaturen der Umgebung ein. Eine unmittelbare Abhängigkeit von der Photoperiode liegt nicht vor. Die Reaktivierung wird, wie für echte Diapausen typisch, durch Temperaturen gefördert, welche unter dem Optimum der Morphogenese liegen. Gemäß der von H. J. MÜLLER (1966) vorgeschlagenen Einteilung und Bezeichnung der Dormanzformen handelt es sich um eine „Euidiapause“, welche dadurch gekennzeichnet ist, daß Induktion und Aufhebung durch unterschiedliche Faktoren erfolgen. Über die Induktion ist für *B. vernus* nichts bekannt. Da es sich aber unter natürlichen Verhältnissen wahrscheinlich um eine obligate Diapause handelt, wie erste Freilanduntersuchungen ergaben, ist diese Frage zunächst nicht relevant. Der Verlauf der Dormanz und ihrer Aufhebung entsprechen aber den von MÜLLER unter „Euidiapause“ eingeordneten Beispielen.

Die Bedingungen für Auftreten, Verlauf und Beendigung der Eidiapause von *B. vernus* sollen im folgenden Teil der Diskussion auf Grund der morphologischen und experimentellen Befunde in ihren 3 üblicherweise unterschiedenen Abschnitten:

Praediapause, Diapause und Postdiapause gekennzeichnet werden. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, diese Abschnitte auf Grund ihrer Temperaturabhängigkeit neu zu definieren und die Art der zugrunde liegenden Prozesse zu diskutieren. Für diese Fragestellung erwies sich die untersuchte Art als günstig, weil die verhältnismäßig gut durchsichtigen Eier eine Kontrolle des Morphogeneseablaufs im Leben ermöglichen. Vorteilhaft ist aber vor allem die differenzierte Reaktionsweise der Morphogenese auf die verschiedenen Kombinationen der Temperatur- und Diapausebedingungen. Die Morphogenese kann mit einer Ruhephase im Stadium 7 oder D 9 oder in beiden nacheinander reagieren. In den beiden letzten Fällen läßt eine diapause-spezifische Form verlangsamer Morphogenese das Stadium D 9 entstehen. Außerdem ist die Aufhebung der Determination zur Diapause vor dem Beginn der Morphogenesehemmung erreichbar. Bei vielen anderen Objekten sind dagegen die bei *B. vernus* nacheinander eintretenden Veränderungen, wie sie in den Stadien 5, 7 und D 9 nachweisbar werden, auf einen kurzen Abschnitt der Entwicklung zusammengedrängt und daher schwer analysierbar.

#### Die Praediapause

Die Praediapause ist der der Diapause vorangehende Morphogeneseabschnitt. Diese Morphogenese verläuft unverzögert innerhalb eines wirksamen Temperaturbereiches, der demjenigen diapausefreier Entwicklung, z. B. in der Postdiapause, ähnlich ist.

Bereits während der Praediapause wird die Aufhebung der Determination zur Diapause durch Einbringen in eine Temperatur von 0 °C möglich. Die Wirksamkeit der niedrigen Temperatur nimmt mit dem Fortschreiten der Praediapausemorphogenese vom Stadium 3 bis zum Stadium 5 (Stadium der Übertragung der Eier auf 0 °C) zu (Abb. 49). Demgegenüber ist bei einer Weiterentwicklung vom Stadium 5 bis zu den Stadien 7 und D 9 eine weitere Steigerung der Wirksamkeit auf Grund des bisherigen Materials nicht nachweisbar. Sie ist, wenn vorhanden, geringer als im 1. Abschnitt.

Da die Aufhebung der Determination zur Diapause und die Diapausebeendigung mit denselben Mitteln in annähernd gleicher Intensität möglich sind und alle Befunde für einen kontinuierlichen Übergang zwischen beiden Erscheinungen sprechen, dürften die zugrunde liegenden physiologischen Vorgänge identisch sein.

Gleichartige Befunde an der Puppendiapause der Diptere *Pegomyia betae* CURT. und der Larvendiapause der Lepidoptere *Agrotis exclamationis* L. veranlaßten CAYROL, JOURDHEUIL und MISSONIER (1963) von einem „état diapausigène“ zu sprechen. Seine Ausbildung sei der erste und wesentliche Schritt für das Auftreten einer Diapause, denn seine Aufhebung entspreche dem „diapause development“ ANDREWARTHAS (1952). Die Morphogenese werde anschließend relativ unabhängig von diesem ersten Vorgang in einem kritischen morphologischen Stadium beendet.

Damit wäre die zweite Voraussetzung für das Auftreten der bekannten Diapausephänomene erfüllt.

Eine ähnliche Erscheinung beschreiben CHURCH und SALT (1952). H. J. MÜLLER (1966) bezeichnet die Vorgänge, die zwischen Diapauseinduktion und Manifestation ablaufen, als „Diapausegenese“, ohne sie allerdings näher zu charakterisieren. LEGAY (1962) definiert die Praediapause in einem Übersichtsreferat als Phase der „installation de la diapause“.

Mehrfach wurde für die Praediapause eine insgesamt langsamere Entwicklung gegenüber diapausefreien Formen derselben Art oder nahe verwandter Arten als Kriterium dafür betrachtet, daß die Praediapause der Abschnitt der eigentlichen Diapauseeinleitung sei (LE BERRE 1959, WAY 1959, SCHNEIDER 1948). Manchmal ist die Diapauseintensität während der Praediapause modifizierbar (BROWNING 1952b, LE BERRE 1959, HOGAN 1960, MASAKI 1962). Allerdings gibt es auch Fälle, in denen die Diapause vor Beginn der Dormanz nicht aufhebbar ist (vgl. LEES 1955, S. 62).

## Die Diapause

### a) Der Beginn der Diapause und der Diapausestatus

Der Eintritt der Diapause ist auf Grund der Veränderungen des Morphogeneseablaufs erkennbar. Sie beginnt nach üblicher Auffassung in dem Entwicklungsstadium, in welchem die Morphogenese trotz gleichbleibender Außenbedingungen „spontan“ auffällig verlangsamt oder vollkommen sistiert wird. Bei *B. vernus* beginnt für 0, 13, 15,6 und 20 °C die Diapause auf Grund dieses Kriteriums im Stadium 6—7 (Abb. 43b, 42b, c, d). Bei etwa 7 °C könnte aber der Eindruck entstehen, die Diapause beginne nicht vor dem Stadium D 9 (Abb. 42a), weil die Morphogenese zwischen den Stadien 7 und D 9 nicht auffällig verlangsamt erscheint. Nur die Prüfung der Morphogenesegeschwindigkeit dieses Abschnitts für den übrigen Temperaturbereich läßt erkennen, daß die Verhältnisse bei 7 °C nur den Extremwert, das Optimum einer sich kontinuierlich verändernden Abhängigkeit der Morphogenesegeschwindigkeit von der Temperatur repräsentieren. Daher erscheint es als sinnvoll, den Diapausebeginn allgemein auf das Stadium 6—7 zu legen, weil eine physiologische Umstellung des Eisystems zugrunde liegt, welche im größten Teil des wirksamen Temperaturbereichs als typischer Diapausebeginn mit Morphogenesehemmung sichtbar wird. Die meßbare, bezeichnende Veränderung für den Übergang von der Praediapause zur Diapause ist demnach die Einengung des Morphogenese ermöglichenden Temperaturbereiches und die damit verbundene Senkung des Temperaturoptimums der Morphogenese im Stadium 6—7.

Während der Diapausephase lassen sich häufig noch einige morphogenetische Prozesse nachweisen. Insbesondere klingt die Mitoseaktivität nur langsam aus (CHURCH 1955, LE BERRE 1959). Nach BASSAND (1965) bleibt sie in den Embryonen von *Zeiraphera griseana* (Lepidoptera) am längsten im Bereich des Differenzierungszentrums (SEIDEL 1935) erhalten. Auf molekularer Ebene ließ sich während der Diapause der Einbau markierter Aminosäuren feststellen (Übersicht bei HARVEY 1962). Verlangsamte, aber normal verlaufende Morphogenese während der Diapause beschrieb bisher nur ANDREWARTHA (1943) für die Embryogenese der Heuschrecke *Austroicetes cruciata*.

Auch bei dieser Art tritt bei relativ hohen Temperaturen Sistierung der Morphogenese ein. Im Anschluß an diese Ergebnisse wies ANDREWARTHA als erster darauf hin, daß Diapause Morphogenese nicht ausschließen muß.

Die Differenzierung des sichtbaren Diapauseablaufs bei *B. vernus* in einen 1. Teil mit mehr oder weniger verlangsamter Morphogenese und einen 2. mit obligater Sistierung der Morphogenese im Stadium D 9 ermöglicht eine Gliederung in:

- a) Diapause mit verlangsamter Morphogenese,
- b) Diapause ohne Morphogenese.

Die Morphogenese in der Diapause führt zu einer Sonderentwicklung, der Differenzierung des Stadiums D 9 (Vorausrollungs-Kontraktion: Tabelle 1). Eine temperaturabhängige Verschiebung des Diapausestadiums ist nach RAKSHPAL (1962) ebenfalls bei *Gryllus pennsylvanicus* BURMEISTER zu beobachten, doch scheint dort nicht die geschilderte Regelmäßigkeit des Ablaufs wie bei *B. vernus* und nichts der Sonderbildung des Stadiums D 9 Analoges aufzutreten.

Die Verlangsamung der Morphogenese zwischen den Stadien 7 und D 9 und die Ausbildung des Stadiums D 9 sind Folge der in dem Abschnitt herrschenden mit der Diapause korrelierten Bedingungen: Beendet man die Diapause vor oder in dem Stadium 7, läuft die Morphogenese im normalen Temperaturbereich unverzögert zu Ende (Abb. 45). Dabei folgt wie bei *B. rhodani* auf das Stadium 8 die Katatrepsis. Man könnte vermuten, das Auftreten des Stadiums D 9 sei ausschließlich Folge der Verlangsamung der Morphogenese, wie sie auf Grund der Diapausebedingungen auftritt. Dagegen spricht sein Fehlen bei Morphogenese in einer Temperatur von konstant 0 °C: Bei dieser Temperatur verläuft die Morphogenese im Anschluß an die relativ schnelle Diapausebeendigung (Abb. 45) und die lange andauernde folgende morphogenesefreie Postdiapausephase (Abb. 46) langsamer (Abb. 43c) als im mittleren Temperaturbereich der Diapause mit Morphogenese (Abb. 43b), wo das Stadium D 9 nie ausfällt.

Auf Grund der geringen Stadienspezifität der Vorgänge der Diapausebeendigung und ihres von den Morphogenesephasen unterschiedenen Temperaturvalenzbereiches kann auf die relative Unabhängigkeit dieser Diapauseprozesse von den Morphogeneseprozessen geschlossen werden (vgl. S. 553f). Die mit der Diapause sich ergebenden physiologischen Veränderungen des Eisystems schränken ihrerseits die Möglichkeiten der Morphogenese ein.

Man darf annehmen, daß den durch die Diapause hervorgerufenen Entwicklungshemmungen Blockierungen des Stoffwechsels zugrunde liegen. Eigene Untersuchungen zu dieser Frage fehlen. Um eine Deutung der Befunde bei *B. vernus* auf dieser Basis zu ermöglichen, ziehe ich an anderen vergleichbaren Objekten gewonnene Ergebnisse für die Diskussion heran.

Allgemein kann während der Diapause eine z. T. erhebliche Senkung des O<sub>2</sub>-Verbrauchs festgestellt werden. Für Eidiapausen geschah dies von BODINE (1929),

ASHBEL (1930), BOELL (1935), TULESCHKOV (1935), LE BERRE (1959) und BASSAND (1965). Auch diese während der Diapause verbleibende Restatmung steigt mit der Temperatur, jedoch in erheblich geringerem Maße als bei diapausefreier Entwicklung (AGRELL 1947, LE BERRE 1959, SLAMA 1960).

Ein niedriges Niveau der Atmung kann durch ein solches bestimmter Cytochrome bedingt sein. In manchen Fällen fand man eine Anhäufung von Glycerin und Sorbit als Glycolyseprodukte während der Diapause. HARVEY (1962: s. dort auch weitere Literaturangaben) diskutiert die Befunde und vertritt die Auffassung, daß diese biochemischen Veränderungen als Folgeerscheinungen einer Blockierung an anderer Stelle des Stoffwechselsystems anzusehen sind.

Da die Temperaturabhängigkeit der Diapausephänomene bei *B. vernus* sich im Grundsätzlichen nicht von der anderer Diapausen unterscheidet, ist das Prinzip der reduzierten Atmung in der Diapause mit großer Wahrscheinlichkeit übertragbar. Unter dieser Voraussetzung könnte die Verschiebung des Morphogenese ermöglichenden Temperaturbereiches und des Temperaturoptimums der Morphogenese zwischen den Stadien 7 und D 9 darin gegründet sein, daß die reduzierte Atmungsintensität und der Bedarf der Morphogenese bei etwa 7 °C am besten aufeinander abgestimmt sind. Eine Erklärungsmöglichkeit für eine derartige Abstimmung der beteiligten Prozesse aufeinander bieten Befunde von RICHARDS (1957): Bei Larven der Wanze *Oncopeltus fasciatus* verändert sich die Entwicklungsrate nicht parallel zum O<sub>2</sub>-Verbrauch, sondern sie wird außerhalb eines mittleren, günstigen Temperaturbereiches geringer. Demnach steigt der Energieverbrauch für dieselbe morphogenetische Leistung mit der Annäherung an die obere und untere Temperaturschwelle der Morphogenese.

Nach der Hypothese von CAYROL, JOURDHEUIL und MISSONIER (1963) folgt auf die Entstehung der Voraussetzungen der Diapause („état diapausigène“) die Blockierung der Morphogenese in einem „kritischen Stadium“. Unter dem kritischen Stadium könnte man ein Entwicklungsstadium verstehen, in dem die Leistungsfähigkeit des Morphogenese ermöglichenden Stoffwechsels den Bedarf der Morphogenese prozesse unterschreitet. Das kann die Folge der Veränderung des Stoffwechsellniveaus oder des stadienspezifischen Bedarfs sein.

Bei *B. vernus* entsteht der „état diapausigène“ spätestens bis zum Stadium 5. Bis zum Erreichen des Stadiums 7 bilden sich die Bedingungen der Morphogenesehemmung aus. Diese Umstellung ist an den Entwicklungsabschnitt bis zum Stadium 7 gebunden (vgl. S. 539). Ursache der Hemmung könnte die Verringerung des Stoffwechsels bis unter eine kritische Schwelle sein. Nach Messungen während der diapausefreien Entwicklung der Wanze *Rhodnius prolixus* (TUFT 1949) steigt der O<sub>2</sub>-Verbrauch und somit der Energiebedarf in dieser Phase der Embryogenese nur langsam und kontinuierlich an.

Eine Erhöhung der Anforderungen der Morphogenese dürfte dagegen die obligate Morphogenesesistierung im Stadium D 9 verursachen. Die auf das

Stadium 8 folgende Morphogenese wird unter Diapausebedingungen in der Weise verändert, daß einige Wachstums- und Differenzierungsprozesse vor die Ausrollung vorverlegt werden (Vorausrollungs-Kontraktion: Tabelle 1). Das macht die folgende Erklärung für die Entstehung des Stadiums D 9 wahrscheinlich: Die Stoffwechselbedingungen der Diapause wirken selektiv, ermöglichen einige Entwicklungsprozesse, andere nicht. Das selektive Prinzip dürften dabei die quantitativen Unterschiede der Anforderungen der verschiedenen Morphogeneseprozesse sein. Kritischer Prozeß wäre dann die Katatrepsis. Nach TUFT (1949) steigt in der diapausefreien Embryogenese von *Rhodnius* der O<sub>2</sub>-Verbrauch in der Katatrepsis vorübergehend an. TUFT vermutet, daß diese Erscheinung nicht unmittelbare Folge der Ausrollungsbewegung, sondern der gleichzeitig ansteigenden Mitoserate sei.

Auch nach Beobachtungen von LE BERRE (1959) scheint die Katatrepsis der kritische Prozeß der Diapausebeendigung bei *Locusta migratoria* zu sein: Während ohne vorherige Diapausebeendigung bei relativ hohen Temperaturen Wachstum und Organogenese stattfinden, z. T. in abnormer Form, unterbleibt die vollständige Katatrepsis. Ähnliches gilt nach ANDRE-WARTHA (1943) für *Austroiceles cruciata*, nach FUKUDA und KOHNO (1964) für *Bombyx mori* und nach BROWNING (1952b) für *Gryllulus commodus*.

#### b) Die Beendigung der Diapause

Der Wiederbeginn unverzügter Morphogenese bei dafür günstigen Temperaturen gilt als Kriterium beendeter Diapause. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Dormanzdauer bei Temperaturkonstanz länger ist als nach Übertragung auf höhere Temperaturen, wie es für 6,8 °C nachgewiesen wurde (Abb. 47). Innerhalb der Dormanzphase, wie sie bei konstanter Temperatur in Erscheinung tritt, sind demzufolge 2 Abschnitte unterscheidbar:

1. Der Abschnitt, welcher eine Reaktivierung zur Morphogenese durch Temperaturerhöhung nicht gestattet, die „echte Diapause“. Temperaturerhöhung wirkt sich hier dormanzverlängernd aus.

2. Der folgende Abschnitt, währenddessen Temperaturerhöhung sofortige Reaktivierung zu unverzügter Postdiapausemorphogenese zur Folge hat. Beim Vergleich der Diapausezeiten wird, außer bei 15,6 °C, die Dauer des 1. Abschnitts zugrunde gelegt.

Die Geschwindigkeit der Diapausebeendigung steigt von 15,6 über 6,8 nach 0 °C (Abb. 45, 48 und Tabelle 5). Bei einer konstanten Temperatur von 15,6 °C werden nur noch 25 % der Eier zur Postdiapausemorphogenese reaktiviert. Wie sich jedoch durch Übertragen von Stichproben nach 6,8 °C nachweisen läßt, finden Prozesse der Diapausebeendigung in allen Eiern statt. Den gleichen Vorgang gibt es nach CHURCH und SALT (1952) bei *Melanoplus bivittatus* (Acrididae) und nach SCHNEIDERMAN und HORWITZ (1958) bei *Mormoniella vitripennis* (Hymenoptera, Chalcididae).

Für negative Temperaturen ist die Vergleichbarkeit eingeschränkt, weil die ausreichende Kälteresistenz sich später ausbildet als die Potenz zur Diapausebeendigung. Die Kälteresistenz erreicht ihr Maximum einige Zeit nach Diapausebeginn (Tabelle 6). Mit Sicherheit ist die vergleichbare Effektivität zur Diapausebeendigung bei  $-14^{\circ}\text{C}$  größer als bei  $0^{\circ}\text{C}$ , nur können quantitative Beziehungen daraus noch nicht abgeleitet werden. WAY (1959, 1960) fand für die Eier der Muscide *Leptohylemyia coarctata* unterhalb der oberen Temperaturschwelle der Diapausebeendigung bei  $+12^{\circ}\text{C}$  ein erstes Minimum der Diapausedauer bei  $+3^{\circ}\text{C}$ , einen erneuten Anstieg bis  $-6^{\circ}\text{C}$  und eine Verringerung auf den geringsten Wert bei  $-24^{\circ}\text{C}$ . Bei negativen Temperaturen erhöhte sich allerdings die Letalrate. Man darf demnach eine kontinuierliche Beschleunigung der Diapausebeendigung über den gesamten wirksamen Temperaturbereich nicht voraussetzen.

In vielen untersuchten Beispielen liegt das Optimum der Geschwindigkeit der Diapausebeendigung oberhalb von  $0^{\circ}\text{C}$ , und der Verlauf der Zeit-Temperaturkurve gleicht dem der Morphogenese mit einer Verschiebung zu niedrigeren Temperaturen (ANDREWARTHA 1943, MUROGA 1951, CHURCH und SALT 1952, BURDICK 1937, Zusammenfassung bei LEES 1955). Bei einer Wirksamkeit sehr tiefer Temperaturen wie bei *Leptohylemyia* und *Baëtis* sind die Temperatur der geringsten Diapausedauer und der untere Schwellenwert wegen der schnellen Zunahme der Letalität in diesem Bereich nicht erfaßbar. Es bleibt zudem fraglich, ob sowohl bei den extrem tiefen als auch bei den Temperaturen über dem Gefrierpunkt derselbe Mechanismus die Reaktivierung der Eier zur Morphogenese hervorruft.

Ein negativer Temperaturkoeffizient, wie er nach den Befunden an *Baëtis* z. B. vorliegen müßte, dürfte bei physiologischen Prozessen nicht existieren. Zur Erklärung des relativ niedrigen Temperaturoptimums des Diapauseablaufs wird daher häufig angenommen, der Wirkungsbereich des Diapause beendigenden Prozesses reiche von relativ niedrigen bis auf höhere Temperaturen, doch würden bei diesen höheren Temperaturen außerdem antagonistische Prozesse wirksam. Diese wären durch ein höheres Temperaturoptimum oder einen höheren Temperaturkoeffizienten oder durch beides ausgezeichnet, so daß sich ihre Aktivität im unteren Temperaturbereich verringere. Die für die Diapausebeendigung gemessene Temperaturwirksamkeit wäre danach als Summe der beteiligten Prozesse zu verstehen (SALT 1947, LEES 1955, WILLIAMS 1956, SCHNEIDERMAN und HORWITZ 1958, WAY 1959, ROEMHILD 1965).

Das Fehlen bestimmter Hormone des Gehirns oder inkretorischer Organe im Prothoraxbereich verursachten in mehreren untersuchten Fällen in Postembryonalstadien die Diapause (Zusammenfassung bei WIGGLESWORTH 1964). Nach LE BERRE (1959) sprechen histologische Befunde an diapausierenden Eiern von *Locusta migratoria* ebenfalls dafür, daß die Diapause im späten Anatrepsisstadium durch Hormonproduktion der Subösophagealkörper beendet wird. Demgegenüber konnte nach Untersuchungen von JONES (1956) an *Locusta pardalina* eine Beziehung zwischen der spätembryonalen endokrinen Aktivität und der Diapausebeendigung nicht aufgefunden werden. In allen Fällen einer Dormanz in frühen Embryonalstadien, wie

bei *Bombyx mori*, kann eine derartige hormonale Steuerung kaum ausgebildet sein. Wie TAKAMI (1958) durch in vitro-Kultur bei *Bombyx mori* fand, befinden sich sowohl der Embryo als auch der Dotter in Diapause. Auch bei *Melanoplus differentialis* scheint sie nach experimentellen Befunden zu fehlen (BUCKLIN 1953, SLIFER 1958). Einen gemeinsamen hormonalen Mechanismus für embryonale und post-embryonale Diapausen postuliert HINTON (1953). Für *B. vernus* fehlt die histologische Prüfung der Voraussetzungen. Es erscheint jedoch als unwahrscheinlich, daß ein aktives endokrines System im Stadium 5 bereits ausgebildet sein sollte, denn zu dieser Zeit hat die Segmentierung des Keimstreifs noch nicht begonnen, und auch die Neuralanlage entsteht später.

### Die Postdiapause

In der Postdiapause werden 2 Abschnitte unterschieden:

- a) Postdiapause ohne Morphogenese (Abb. 46),
- b) Postdiapause mit Morphogenese (Abb. 43c).

Gemeinsam ist den Entwicklungsprozessen beider Abschnitte eine annähernde Übereinstimmung des wirksamen Temperaturbereichs und des Temperaturkoeffizienten der Entwicklungsgeschwindigkeit. Von der Morphogenese-Phase der Diapause ist die gesamte Postdiapause dadurch deutlich unterschieden.

#### a) Die Postdiapause ohne Morphogenese

Im Anschluß an die Diapausebeendigung bei 0 °C wird die Dormanzphase der „Postdiapause ohne Morphogenese“ bei Temperaturen nahe 0 °C besonders auffällig, weil sie mehrere Monate dauert, bevor sie mit dem Beginn sichtbarer Morphogenese beendet wird (vgl. Abb. 42d mit 49, Abb. 46). Auch bei Diapausebeendigung im Stadium 5 tritt als Ruhestadium dieser Phase bei einer konstanten Temperatur von 0 °C nur das Stadium 7 auf. Das erinnert an die Befunde für die Diapause.

Eine gleichartige Entwicklungsphase fand WILLIAMS (1956) bei den Puppen von *Platysamia cecropia*. Nach 10 Wochen bei +6 °C beginnt bei Temperaturerhöhung auf 25 °C nach einigen Tagen die Postdiapausemorphogenese. Bei einer konstanten Temperatur von +6 °C geschieht dies nicht vor der 35. Woche. Für die Puppen von *Platysamia* wurde bewiesen, daß während der ersten 10 Wochen die Aktivierung des Gehirns erfolgt. Während der weiteren 25 Wochen bei +6 °C dürfte nach WILLIAMS das für die Reaktivierung notwendige Hormon den Schwellenwert für die Morphogenese erreichen.

Auf eine embryonale Diapause wie bei *B. vernus* kann dies Modell zwar nur beschränkt übertragen werden, weil endokrine Systeme wie in den Puppen von *Platysamia* noch nicht differenziert sind, doch ist auf embryonaler Ebene möglicherweise ein analoges Prinzip wirksam.

Der von LE BERRE (1959) als „période d'initiation du développement de la postdiapause“ bezeichnete Entwicklungsabschnitt bei *Locusta migratoria* umfaßt im Gegensatz zu dem hier betrachteten vor allem die Übergangsphase zur Postdiapausemorphogenese. Dafür sind die Einleitung der Katatrepsis und die langsame Erhöhung des Niveaus der Atmung auf dasjenige diapausefreier Entwicklung bezeichnend.

#### b) Die Postdiapause mit Morphogenese

Die Dauer der Postdiapausemorphogenese wird bei *B. vernus* durch die Temperaturbedingungen während der Diapausebeendigung nicht beeinflußt: Sie bleibt im Mittel für jede Temperatur konstant (Abb. 47). Das entspricht Ergebnissen von WILLIAMS (1956) für die Puppen von *Platysamia cecropia*. Die Variation der Dauer der gesamten Embryogenese wird daher überwiegend durch die Dormanzphasen bestimmt.

#### Zur Letalität führende Vorgänge

Bei einer konstanten Temperatur von 15,6 °C werden die Eier langsam zunehmend geschädigt und schließlich letal. Die Letalität ist häufig eine Spätwirkung, die eintritt, nachdem die Morphogenese bei 6,8 °C zunächst wieder begann (Tabelle 5, Spalten VIII und IX). Bei 20 °C tritt die Letalität noch schneller als bei 15,6 °C ein.

Nach AGRELL (1947), LE BERRE (1959) und SLAMA (1960) steigert sich der O<sub>2</sub>-Verbrauch auch während der Diapause mit der Temperaturerhöhung, obgleich der Q<sub>10</sub>-Wert geringer ist als während der diapausefreien Entwicklungsabschnitte. Man kann vermuten, daß diese erhöhte Atmungsintensität bei langer Dauer Ursache der früher einsetzenden Letalität ist. Eine Beschleunigung der Entwicklung zur Letalität während der Diapause mit steigender Temperatur stellten auch HODSON und WEIMAN (1945) für die Eier von *Malacosoma disstria* (Lepidoptera) fest. Diese Autoren wiesen eine gleichzeitige Erschöpfung der Reservestoffe nach. In anderen Fällen war dies nicht möglich (RICHARDS 1957, 1959, 1964).

Bei *B. vernus* sind die Prozesse der Diapausebeendigung und jene, welche zur Letalität führen, anscheinend weitgehend unabhängig voneinander, denn die Diapauseverkürzung schreitet noch fort, wenn die Eier die Postdiapausemorphogenese nicht mehr zu beenden vermögen (Tabelle 5, Spalten V, VIII und IX).

Auch bei einer konstanten Temperatur von 0 °C sterben die Embryonen nach 11 bis über 20 Monaten ab (Abb. 42d). Anders jedoch als bei 15,6 °C entstehen die Ursachen dafür selten während der Morphogeneseruhe, sondern während der nachfolgenden Morphogenese (Tabelle 7, Abb. 42d). Dormanzstadien überleben überwiegend mindestens 17, Postdiapausemorphogenestadien nur etwa 4—6 Monate bei 0 °C. Die Larven schlüpfen unter diesen Bedingungen nicht, obgleich der Embryo sich bis zur fast schlüpfreifen Larve entwickelt.

Möglicherweise bewirkt auch unter den niedrigen Temperaturen, trotz ihrer Konstanz, eine mit der Postdiapausemorphogenese einsetzende Erhöhung der At-

mungsintensität dies unterschiedliche Verhalten. Der Übergang zur Postdiapause ist allgemein durch die Steigerung des  $O_2$ -Verbrauchs gekennzeichnet (Zusammenfassung bei LEES 1955, LE BERRE 1959, BASSAND 1965). Bei *B. vernus* ändert sich die Geschwindigkeit der Entwicklung zur Letalität beim Übergang von der Postdiapause ohne Morphogenese zur Postdiapause mit Morphogenese. Das läßt die Deutung zu, daß die Dormanzphase der Postdiapause Stoffwechselbedingungen der Diapause bietet. Dazu paßt der Befund, daß bei Diapausebeendigung vor dem Stadium 7 dieses trotzdem bei einer konstanten Temperatur von 0 °C zum Stadium der Morphogenesesistierung wird, wie es in der Diapause ebenfalls geschieht (vgl. S. 554).

#### Entwicklungsvorgänge bei 20 °C

Bei einer konstanten Temperatur von 20 °C verläuft die Morphogenese bis zur Sistierung im Stadium 6—7 in der nach den übrigen Temperaturversuchen zu erwartenden Weise (Abb. 42c). Sehr bald nehmen aber einige Embryonen die Morphogenese wieder auf und entwickeln sich ohne weitere Unterbrechung und ohne Ausbildung des Stadiums D 9 bis zum Schlüpfen. Die Schlüpfperiode der Gelege ist beendet, bevor sie bei 15,6 °C überhaupt beginnt (Abb. 41). Bei Annahme einer mit steigender Temperatur kontinuierlich zunehmenden Diapausedauer, wie sie die Versuche mit Temperaturen zwischen 0 und 15,6 °C demonstrieren, dürfte dieses Ergebnis nicht auftreten. Daher ist für die bei 20 °C schlüpfenden Larven ein anderer Entwicklungsmodus zu vermuten. Über seine Art gibt es auf Grund gleichartiger Befunde wie bei *B. vernus* eine Hypothese (CHURCH 1955): Bei Larven von *Cephus cinctus* erfolgt die vollständige Restitution der vorher z. T. abgelaufenen Diapause bei 35 °C. Bei 40 °C tritt dagegen die Weiterentwicklung sehr bald ein. Nach CHURCH kann man sich vorstellen, daß bei 35 °C das die Diapause beendende System enzymatisch wieder abgebaut wird. Bei 40 °C wird dagegen das Enzymsystem, welches diesen Abbau durchführt, zerstört. Die Entwicklung käme nach dieser Erklärung einer Inaktivierung des die Diapause erzeugenden Systems gleich.

Gleichartige Befunde bei der Wirkung relativ hoher Temperaturen teilen BROWNING (1952a) für *Teleogryllus commodus* und LE BERRE (1959) für *Locusta migratoria* mit.

#### Übersicht über den Verlauf der diapausebezogenen Entwicklungsabschnitte

Auf Grund der Befunde bei *B. vernus* ergibt sich die Möglichkeit, die Abgrenzung der Phasen der Entwicklung in ihrer Beziehung zur Diapause klarer als bisher zu definieren. Da die verschiedenen diapausebedingten morphogenetisch sichtbaren Veränderungen als das Produkt verschiedener, nicht immer synchroner Prozesse zu verstehen sind, wären auch andere Umgrenzungen als die hier vorgeschlagenen möglich.

Die Praediapause ist durch weitgehend ungehemmte Morphogenese im dafür normalen, artspezifischen Temperaturbereich gekennzeichnet. Sie endet mit Diapausebeginn. Während dieses Entwicklungsabschnitts findet die Ausbildung der physiologischen Voraussetzungen der Morphogenesehemmung statt, die „Diapausegenese“. Über die physiologische Grundlage dieser Umstellung kann noch nichts ausgesagt werden.

Die Diapausephase beginnt mit dem Entwicklungsstadium, in dem die Morphogenese innerhalb ihres normalen Temperaturbereiches auffällig gehemmt wird. Diese Hemmung erreicht ihre Stadienspezifität durch das Zusammentreffen der in der Diapausegenese entstehenden physiologischen Voraussetzungen mit einer „kritischen“ Entwicklungsphase der Morphogenese. In der Diapausephase ist Morphogenese nicht ausgeschlossen (Dormanz I, Abb. 42a, b), sondern ihre Möglichkeiten sind nur qualitativ und quantitativ eingeschränkt. Die Diapausedauer ist von der Temperatur abhängig: Meist ist sie bei relativ niedrigen Temperaturen am geringsten. Die Diapause gilt als beendet, wenn die Abhängigkeit der Dauer der Entwicklungsabschnitte wieder jener der normalen Morphogenese entspricht.

Die „normale“ Temperaturabhängigkeit ihrer Dauer ist den Postdiapausephasen gemeinsam. Die Postdiapause kann noch eine Dormanzphase im Anschluß an die Diapause enthalten („Postdiapause ohne Morphogenese“). Im Anschluß daran führt die Morphogenese der Postdiapause („Postdiapause mit Morphogenese“) ohne erkennbare Nachwirkungen der vorhergehenden Diapause die Entwicklung zum Abschluß.

BEHRENDT (1963) führte für *Aphis fabae* eine Unterteilung der Eidiapause in „Pro-“, „Meso“- und „Metadiapause“ ein. Während Pro- und Metadiapause von der Temperatur abhängige Übergangsphasen darstellen, ist die Dauer der Mesodiapause davon unabhängig. Auf die Existenz der Mesodiapause schloß der Autor, weil bei verschiedenen Temperaturen die zuerst schlüpfenden Eier gleiche Dormanzzeiten haben. Die übrigen Eier brauchen allerdings niedrige Temperaturen in der Metadiapause, was als Zeichen ihrer höheren Diapauseintensität gewertet wird. Für *B. vernus* war eine von der Temperatur unabhängige Diapausephase nicht nachweisbar. Die Temperaturabhängigkeit der Metadiapause bei *Aphis fabae* scheint im Mittel etwa jener der typischen Diapause mit einem Optimum um 5,5 °C zu entsprechen, sie ist daher ebenfalls der Dormanz der Postdiapause bei *B. vernus* nicht gleichzusetzen. Die von BEHRENDT eingeführte Terminologie kann für die vorliegende Arbeit daher nicht verwendet werden.

Der differenzierte Ablauf der Diapause, wie er auf Grund der Temperaturabhängigkeit der Morphogeneseprozesse erschlossen wurde, verlangte eine ebenso differenzierte Untersuchung der dazugehörigen Stoffwechselveränderungen. Nur auf diese Weise könnte die Unsicherheit einer Deutung der Befunde auf Grund von Analogieschlüssen vermieden werden. Das erscheint um so notwendiger, weil die

zum Vergleich herangezogenen Beispiele über den  $O_2$ -Verbrauch vor, während und nach der Diapausephase nur Objekte behandeln, bei denen eine ebenso starke Differenzierung des Diapauseablaufs wie bei *B. vernus* nicht festgestellt wurde.

### Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Der Ablauf der Embryogenese der Ephemeropteren-Arten *Baëtis rhodani* und *B. vernus* wird dargestellt. Die Befunde faßt eine Normentafel der Entwicklung zusammen (Tabelle 1). Die Morphogenese beider Arten unterscheidet sich auffällig in einigen Details, was z. T. zum Auftreten der Diapause bei *B. vernus* in Beziehung gesetzt werden konnte.

Die Chromosomenzahl beider Arten beträgt  $n = 5$ . Reifungsteilungen und Furchungen verlaufen bei beiden Arten ähnlich. Auffällig ist die regelmäßige Dispermie. Während der Furchung entwickeln sich die Richtungskörper durch Mitosen und Verschmelzung zu einigen polyploiden, am Vorderpol des Eies gelegenen Riesenenergiden. Demgegenüber bleibt die Energide des 2. Spermiums haploid. Sowohl diese haploide als auch die polyploiden Riesenenergiden lösen sich zu Beginn der Keimanlagenbildung auf (S. 502—513).

Die zunächst einschichtige Keimanlage entsteht in kalottenförmiger Gestalt am späteren Hinterpol des Eies. Sie bildet das Amnion und verlängert sich dann längs der Dotteroberfläche zum Keimstreif. Die Zellen der Keimanlage sind bei *B. rhodani* höher, die Keimanlage wird dadurch dicker als bei *B. vernus*. Das untere Keimblatt beginnt sich schon in der kalottenförmigen Keimanlage zu differenzieren, möglicherweise durch Einsinken von Zellen in einer etwa zentral gelegenen grubenförmigen Vertiefung. Das untere Keimblatt wächst gleichzeitig mit dem sich verlängernden Keimstreif (S. 513—516).

Vor der Segmentierung des Keimstreifs setzt die Einsenkung seines caudalen Abschnitts in den Dotter ein. Nur der Bereich für Kopf, Mandibel und 1. Maxille bleibt an der Dotteroberfläche. Während dieses Vorgangs wird die Neuralanlage eingesenkt. Segmentgrenzen und Extremitätenknospen treten zuerst im Bereich des Thorax und Gnathocephalon auf (Differenzierungszentrum) (S. 516—520).

In der Katatrepsis rollt der Keimstreif um den Hinterpol des Eies und erreicht unter Verkürzung seiner Länge seine definitive Lage an der Ventralseite des Eies („Nachausrollungs-Kontraktion“). Es folgt die Phase der Differenzierung der Organanlagen bis zum Schlüpfen. *Baëtis rhodani* entwickelt sich ohne Dormanz im Eistadium, *B. vernus* tritt in eine Diapause, nachdem der Embryo in den Dotter eingesenkt ist. Im Verlauf dieser Diapause kontrahiert sich der Embryo („Vorausrollungs-Kontraktion“) (S. 520—524).

Um die Bedingungen für Beginn, Verlauf und Dauer dieser Diapause kennenzulernen, wurden Verlauf und Geschwindigkeit aller Abschnitte der Embryogenese von *B. vernus* bei unterschiedlichen Temperaturbedingungen geprüft. Für die konstanten Temperaturen von 6,8, 15,6 und 20 °C sinkt der Schlüpfefolg mit steigender Temperatur von nahezu 100 % auf etwa 15 % der Eier. Die Schlüpfverzögerung gegenüber *B. rhodani* liegt für *B. vernus* für 6,8 °C bei etwa 6 Monaten. Sie steigt für 15,6 °C ungefähr auf die doppelte Zeit und kommt bei 20 °C auf den Wert für 6,8 °C zurück (S. 524—527).

Bei konstanten Temperaturen zwischen 0 und 20 °C führt die Morphogenese zunächst bis zu den Stadien 6 oder 7. Die Morphogenesegeschwindigkeit steigt annähernd proportional zur Temperatur. Bei 24 °C wird die Morphogenese im Stadium 4 blockiert, die Eier werden innerhalb weniger Tage letal. Postdiapausemorphogenese findet zwischen 0 und 24 °C statt, unterhalb 3,6 °C schlüpfen die Larven jedoch nicht.

Im Stadium 7 beginnt die Diapause: Bei 0 und 20 °C mit der Sistierung, zwischen 3,6 und 15,6 °C mit einer Verlangsamung der Morphogenese. Die verlangsamte Morphogenese endet im diapause-spezifischen Stadium D 9, in dem der Embryo für den Rest der Diapausezeit verharret. Die verzögerte Entwicklung vom Stadium 7 bis D 9 wird als „Diapause mit Morphogenese“ bezeichnet und der „Diapause ohne Morphogenese“ gegenübergestellt, die im Stadium 7 oder D 9 auftreten kann. Die Geschwindigkeit der Morphogenese des 1. Diapauseabschnitts ist bei 7 °C am größten und sinkt mit steigender und abnehmender Temperatur. Die Dauer der gesamten Diapause ist unabhängig davon, ob sie bereits im Stadium 7 oder erst im Stadium D 9 als Morphogeneseblockierung in Erscheinung tritt. Bei 20 °C entwickeln sich etwa 15 % der Eier nach relativ geringer Diapausedauer im Stadium 6 oder 7 ohne Dormanz im Stadium D 9 bis zum Schlüpfen (S. 529–540).

Etwa 75 % der Eier werden während der etwa 12monatigen Diapause bei 15,6 °C letal. Auch bei ihnen findet eine kontinuierliche Verkürzung der Diapausezeit statt, wie sich durch Übertragung der Eier von 15,6 nach 6,8 °C nachweisen läßt (S. 541–543).

Bei 0 °C ist die Dauer der echten Diapause mit etwa 1 Monat im Mittel kürzer als bei 6,8 °C mit etwa 3 Monaten und bei 15,6 °C mit etwa 12 Monaten. Bei einer konstanten Temperatur von 0 °C ergibt sich aber eine Gesamtdauer der Dormanz von etwa 12 Monaten, weil im Anschluß an die Diapause die Dormanzphase der „Postdiapause ohne Morphogenese“ auftritt. Die Dauer dieses Abschnitts verringert sich im gleichen Maße mit steigender Temperatur wie die nachfolgende Morphogenese der Postdiapause (S. 543–546).

Bei –14 °C ist die Diapause bereits nach etwa 2 Tagen beendet. Die Veränderungen der Kälteresistenz gegenüber Temperaturen von –14 und –26 °C sind nicht mit den Diapausephasen synchronisiert (S. 550–553).

Werden die Eier bis zum Stadium 5 bei 0 °C gehalten, treten sie nicht in eine Diapause ein (S. 553–555).

Wie die Erhöhung der Temperatur von 6,8 auf 11 und 15,6 °C ergibt, verfrüht sich in einem fortgeschrittenen Stadium des physiologischen Diapauseablaufs der Postdiapausebeginn mit zunehmender Temperatur gegenüber der konstanten Temperatur von 6,8 °C (S. 546–550).

Konstante Temperaturen von 20, 15,6 und 0 °C führen bei einem erheblichen Anteil der Eier zur Letalität. Bei 15,6 °C entstehen die Ursachen der letalen Entwicklung meist in den Diapausestadien (7 und D 9), bei 0 °C in den Postdiapausestadien (10 und 11) (S. 555–556).

### Erläuterung der verwendeten Abkürzungen

Abd	= Abdomen	KA	= Keimanlage
Am	= Amnion	KAK	= Keimanlagenkern
AmR	= Amnionrand	KL	= Kopflappen
An	= Antennenanlage	Ko	= Kontraktionshöhle
Be	= Beine	Kstr	= Keimstreif
BZ	= Blastodermzelle	La	= Labrum
Ce	= Cercus	Lb	= Labiumanlage oder Labialsegment
Do	= sekundäres Dorsalorgan	Md	= Mandibelanlage oder Mandibelsegment
Entw.-stad.	= Entwicklungsstadium	Mx	= Maxillaranlage oder Maxillarsegment
EB	= Ektoblastem	PR	= polare Riesenenergide
Gnc	= Gnathocephalonbereich	Pr	= Blastem des Proctodaeum
Gr	= grubenartige Einsenkung im Keimstreif		

RK	=	Richtungskörper	Sto	=	Stomodaeum
Schl	=	Anteil geschlüpfter Larven	Th	=	Thoraxbereich
Se	=	Serosa	UKb	=	Unteres Keimblatt
sek. Vit.	=	sekundäre Vitellophagen	V	=	Vitellophagen
SK	=	Serosakern	VK	=	Vorkern

### Literatur

- AGRELL, I. (1947), Some experiments concerning thermal adjustment and respiratory metabolism in insects. *Arkiv för Zoologi* **39**A, 1—48.
- ANDO, H., and T. KAWANA (1956), Embryology of mayfly (*Ephemera strigata* EATON) as studied by external observation. *The Kontyû* **24**, 224—232 (Japanisch mit englischer Zusammenfassung).
- ANDREWARTHA, H. G. (1943), Diapause in the eggs of *Austroicetes cruciata* SAUSS. (Acrididae) with particular reference to the influence of temperature on the elimination of diapause. *Bull. Entomol. Res.* **34**, 1—17.
- (1952), Diapause in relation to the ecology of insects. *Biol. Rev.* **27**, 50—107.
- ASAHINA, E. (1966), Freezing and frost resistance in insects. In: *Cryobiology*, herausgegeben von H. T. Meryman, Academic Press, London and New York.
- ASHBEL, R. (1932), Sul ricambio gassoso della uova di bachi da seta (*Bombyx mori* L.), *Protoplasma* **15**, 177.
- BASSAND, D. (1965), Contribution à l'étude de la diapause embryonnaire et de l'embryogenèse de *Zeiraphera griseana* HÜBNER (Lepidoptera, Tortricidae). *Rev. Suisse Zool.* **72**, 429—542.
- BEHRENDT, K. (1963), Über die Eidiapause von *Aphis fabae* Scop. (Homoptera, Aphididae). *Zool. Jb. Physiol.* **70**, 309—398.
- BLUNCK, H. (1924), Die Entwicklung des *Dytiscus marginalis* L. vom Ei bis zur Imago. 2. Teil. Die Metamorphose. *Z. wiss. Zool.* **121**, 171—391.
- BODINE, J. H. (1929), Factors influencing the rate of respiratory metabolism of a developing egg (Orthoptera). *Physiol. Zool.* **2**, 459—482.
- BOELL, E. J. (1935), Respiratory quotients during embryonic development (Orthoptera). *J. Cell Comp. Physiol.* **6**, 369.
- BRETSCHKO, G. (1965), Zur Larvenentwicklung von *Cloëon dipterum*, *Cloëon simile*, *Centroptilum* und *Baëtis rhodani*. *Z. wiss. Zool.* **172**, 17—36.
- BROWNING, T. O. (1952a), On the rate of completion of diapause development at constant temperatures in the egg of *Gryllulus commodus* WALKER. *Austr. J. Scient. Res. Ser. B.* **5**, 344—353.
- (1952b), The influence of temperature on the completion of diapause in the eggs of *Gryllulus commodus* WALKER. *Austr. J. Scient., Res., Ser. B.* **5**, 112—127.
- (1952c), The influence of temperature on the rate of development of insects with special reference to the eggs of *Gryllulus commodus* WALKER, *Austr. J. Scient. Res., Ser. B.* **5**, 96—111.
- BUCKLIN, D. H. (1953), Termination of diapause in grasshopper embryos cultured in vitro. *Anatom. Rec.* **117**, 539.
- BÜCKMANN, D. (1962), Entwicklungsphysiologie der Arthropoden, postembryonale Entwicklung. *Fortschr. Zool.* **14**, 164—237.
- BURDICK, H. CH. (1937), The effect of exposure to low temperature on the developmental time of embryos of the grasshopper, *Melanoplus differentialis* (Orthoptera). *Physiol. Zool.* **10**, 156—170.
- CAYROL, R., P. JOURDHEUIL et J. MISSONIER (1963), Mise en évidence d'un état de "diapause anticipée" chez certains insectes. *C. R. Acad. Sci., Paris* **256**, 1850—1852.

- CHURCH, N. S. (1955), Hormones and the termination and reinduction of diapause in *Cephus cinctus* NORT. Canad. J. Zool. **33**, 339–369.
- and R. W. SALT (1952), Some effects of temperature on development and diapause in eggs of *Melanoplus bivittatus* (SAY) (Orthoptera, Acrididae), Canad. J. Zool. **30**, 173–184.
- DANILEVSKII, A. S. (1965), Photoperiodism and seasonal development of insects. Oliver and Boyd, Edinburgh and London (Übersetzung aus dem Russischen).
- DEGRANGE, CH. (1960), Recherches sur la reproduction des Ephéméroptères. Thèse, Faculté des Sciences de l'Université de Grenoble.
- EDMUNDS, G. F., L. T. NIELSEN and J. R. LARSEN (1956), The life history of *Ephoron album* (SAY) (Ephemeroptera, Polymitarcidae). The Wasmann J. Biol. **14**, 145–153.
- FUKUDA, S., and T. KOHNO (1964), Abnormal embryos from diapause-like eggs spontaneously or experimentally. A study on diapausing embryo of the silkworm *Bombyx mori*. Embryologia **8**, 177–190.
- HARVEY, W. R. (1962), Metabolic aspects of insect diapause. Ann. Rev. Entomol. **7**, 57–80.
- HEYMONS, R. (1895), Die Embryonalentwicklung der Dermapteren und Orthopteren. G. Fischer, Jena.
- (1896a), Lebensweise und Entwicklung von *Ephemera vulgata* L. Sitzungsber. Ges. Naturforsch. Freunde, Berlin, Nr. **6**, 82–96.
- (1896b), Grundzüge der Entwicklung und des Körperbaues von Odonaten und Ephemeriden. Verlag Akademie Wiss., Berlin.
- HINTON, H. E. (1953), The initiation, maintenance and rupture of diapause: a new theory. Entomologist **86**, 279–291.
- HODSON, A. C., and C. J. WEINMAN (1945), Factors affecting recovery from diapause and hatching of eggs in the forest tent caterpillar *Malacosoma disstria* HÜBNER. Minn. Agr. Expt. Sta. Techn. Bull. **170**.
- HOGAN, T. W. (1960), The onset and duration of diapause in eggs of *Acheta commodus* (WALK.) (Orthoptera). Austr. J. Biol. Sci. **13**, 14–29.
- HUNT, B. P. (1951), Reproduction of the burrowing mayfly *Hexagenia limbata* (SERVILLE), in Michigan. The Florida Entomologist **34**, 59–70.
- ILLIES, J. (1959), Retardierte Schlupfzeit von *Baëtis*-Gelegen (Ins., Ephem.). Naturwissenschaften **46**, 119–120.
- JONES, B. M. (1956), Endocrine activity during insect embryogenesis. Control of events in development following the embryonic moult (*Locusta migratoria* and *L. pardalina*). J. Exp. Biol. **33**, 685–696.
- JOURDHEUIL, P. (1958), Réactions thermiques multiples au cours de la diapause de *Thersilochus longicornis* THOMS. (Hymenoptera, Ichneumonidae). C. R. Acad. Sci., Paris **246**, 1602–1605.
- KAHLE, W. (1908), Die Paedogenese der Cecidomyiden. Zoologica **55**, 1–80.
- LAUDA, V. (1962), Die Entwicklung der mitteleuropäischen Ephemeropteren. 11. Intern. Kongr. Entomol. Wien, 1960, Verhandl. Bd. **3**, 250–254.
- LE BERRE, J. R. (1959), Caractères biologiques des *Locusta* de la faune de France et étude d'un exemple de diapause embryonnaire. Ann. Inst. Nat. Rech. Agronom., Sér. C: Ann. Epiphyties **10**, No. 2, 101–254.
- LEES, A. D. (1955), The physiology of diapause in arthropods. University Press, Cambridge.
- LEGAY, J. M. (1962), Caractères des processus métaboliques au cours de la diapause des insectes. Ann. Nutrition Alimentation **16**, A 65–A 89.
- LINDER, A. (1960), Statistische Methoden. Birkhäuser-Verlag, Basel und Stuttgart.
- MACAN, T. T. (1957), The life histories and migrations of the Ephemeroptera in a stony stream. Trans. Soc. Brit. Entom. **12**, 129–156.

- MAITLAND, P. S. (1956). The distribution, life cycle, and predators of *Ephemerella ignita* (PODA) in the River Endrick, Scotland. *Oikos* **16**, 48–57.
- MASAKI, S. (1962). The influence of the temperature on the intensity of diapause in the eggs of the Emma field cricket (Orthoptera, Gryllidae). *Kotyû* (Japan) **30**, 9–16.
- MUDRA, A. (1958). *Statistische Methoden für landwirtschaftliche Versuche*. Parey, Berlin und Hamburg.
- MÜLLER, H. J. (1966). Probleme der Insektendiapause. *Verh. Deutsch. Zool. Ges. Jena 1965*, *Zool. Anz. Suppl.* **29**, 192–222.
- MÜLLER, K. (1966). Die Tagesperiodik von Fließwasserorganismen. *Z. Morph. Ökol. Tiere* **56**, 93–142.
- MUROGA, H. (1951). On the consumption coefficient of inhibitory substance in silkworm eggs. *J. Seric. Sci. Japan* **20**, 92.
- MURPHY, H. E. (1922). Notes on the biology of some of our North American species of mayflies. *Bull. Lloyd Library, Entomol. Ser. No. 2*, 3–39.
- PLESKOT, G. (1958). Die Periodizität einiger Ephemeropteren der Schwechat. *Wasser u. Abwasser*, 1–32.
- (1961a). Die Periodizität der Ephemeropterenfauna einiger österreichischer Fließgewässer. *Verhandl. Intern. Verein. Limnol.* **14**, 410–416.
- (1961b). Beobachtungen über Diapausen in der Entwicklung der Ephemeropteren. 11. Intern. Kongreß Entomol. Wien 1960, Bd. **1**, 363–366.
- PRECHT, H. (1955). Wechselwarme Tiere und Pflanzen, in: Precht, Christophersen, Hensel, *Temperatur und Leben*. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.
- (1964). Über das Problem der Kopplung verschiedener Anpassungen mit der Entwicklungshemmung bei diapausierenden Insekten. Versuche mit der adulten Schmalwanze (*Ischnodemus sabuleti* FALL.). *Zool. Anz.* **172**, 306–318.
- RAKSHPAL, R. (1962). Morphological development of the embryo in diapause and postdiapause eggs of *Gryllus pensylvanicus* BURMEISTER (Orthoptera, Gryllidae) and a comparison with nondiapause species of the genus *Gryllus*. *Zool. Anz.* **168**, 46–53.
- RICHARDS, A. G. (1957). Cumulative effects of optimum and suboptimum temperatures on insect development, in: Influence of temperature on biological systems. Herausgegeben von H. Johnson, Washington American Physiological Society.
- (1959). Studies on the temperature thresholds in insect development. *Biol. Zbl.* **78**, 308–314.
- (1964). The generality of temperature effects on developmental rate and on oxygen consumption in insect eggs. *Physiol. Zool.* **37**, 199–211.
- ROEMHILD, G. (1965). Cyclical temperature effect on diapause termination of eggs of *Aulocara Elliotti*. *J. Ins. Physiol.* **11**, 1633–1639.
- ROMEIS, B. (1948). *Mikroskopische Technik*. R. Oldenbourg-Verlag, München.
- SALT, R. W. (1947). Some effects of temperature on the production and elimination of diapause in the wheat stem sawfly, *Cephus cinctus* NORT. *Canad. J. Res., Sect. D*, **25**, 66–86.
- (1961). Principles of insect cold hardiness. *Ann. Rev. Entomol.* **6**, 55–74.
- SCHNEIDER, F. (1948). Beitrag zur Kenntnis der Generationsverhältnisse und Diapause räuberischer Schwebfliegen (Syrphidae, Dipt.). *Mitt. Schweiz. Entomol. Ges.* **21**, 249–285.
- SCHNEIDERMAN, H. A., and HORWITZ, J. (1958). The induction and termination of facultative diapause in the chalcid wasps *Mormoniella vitripennis* (WALKER) and *Trineptis Klugii* (RATZBURG). *J. Exper. Biol.* **35**, 520–551.
- SEIDEL, F. (1924). Die Geschlechtsorgane in der embryonalen Entwicklung von *Pyrrhocoris apterus* L. *Z. Morphol. Ökol. Tiere* **1**, 429–506.
- (1935). Entwicklungsphysiologie. *Fortschritte der Zoologie* **1**, 406–459.

- (1960), Körpergrundgestalt und Keimstruktur. Eine Erörterung über die Grundlagen der vergleichenden und experimentellen Embryologie und deren Gültigkeit bei phylogenetischen Überlegungen. Zool. Anz. **164**, 245—305.
- (1961), Entwicklungsphysiologische Zentren im Eisystem der Insekten. Verh. Deutsch. Zool. Ges. Bonn 1960, Zool. Anz. **24**, Suppl., 121—142.
- SLAMA, K. (1959), Metabolism during diapause and development in sawfly metamorphosis, in: The ontogeny of insects (Symposium) 195—201, Prag.
- SLIFER, ELEANOR, H. (1958), Diapause in the eggs of *Melanoplus differentialis* (Orthoptera, Acrididae). J. Exper. Zool. **138**, 259—280.
- TAKAMI, T. (1958), In vitro culture of embryos in the silkworm *Bombyx mori* L. I. Culture in silkworm egg extract with special reference to some characteristics of the diapausing egg. J. Exp. Biol. **35**, 286—296.
- TUFT, P. (1949), Respiration, growth and metabolism of the insect egg. Exper. Cell Res., Suppl. **1**, 545—548.
- TULESCHKOV, K. (1935), Über die Ursachen der Überwinterung der *Lymantria dispar* und anderer Lymantriiden im Eistadium. Z. angew. Entomol. **22**, 97—117.
- WAY, M. J. (1959), The effect of temperature, particularly during diapause, on the development of the egg of *Leptohylemyia coarctata* (Diptera, Muscidae). Trans. R. Entomol. Soc. London **111**, 351—364.
- (1960), The effects of freezing temperatures on the developing eggs of *Leptohylemyia coarctata* FALL. (Diptera, Muscidae) with special reference to diapause development. J. Ins. Physiol. **4**, 92—101.
- (1962), Definition of diapause. Ann. Appl. Biol. **50**, 595—596.
- WEBER, ERNA (1956), Grundriß der biologischen Statistik. VEB G. Fischer Verlag, Jena.
- WESENBERG-LUND, C. (1943), Biologie der Süßwasserinsekten. Springer-Verlag, Berlin, Wien.
- WIGGLESWORTH, V. B. (1959), Physiologie der Insekten. Deutsche Übersetzung von M. Lüscher. Birkhäuser-Verlag, Basel und Stuttgart.
- (1964), The hormonal regulation of growth and reproduction in insects. Advances Ins. Physiol. **2**, 248—336.
- WILLIAMS, C. M. (1956), Physiology of insect diapause. X. An endocrine mechanism for the influence of temperature on the diapausing pupa of the cecropia silkworm. Biol. Bull. **110**, 201—218.
- WOLF, E. (1960), Zur Karyologie der Eireifung und Furchung bei *Cloëon dipterum* L. (BENGTSSON) (Ephemera, Baëtidae). Biol. Zbl. **79**, 153—198.

Anschrift des Verfassers: H. W. BOHLE, Zoologisches Institut der Philipps-Universität, 355 Marburg (Lahn), Ketzlerbach 63.