

Die Temperaturabhängigkeit der Embryogenese und der embryonalen Diapause von *Ephemerella ignita* (Poda) (Insecta, Ephemeroptera)

Hans Wilhelm Bohle*

Fachbereich Biologie der Philipps-Universität, Marburg/L.

Eingegangen am 27. Juni 1972

The Effect of Temperature on Embryogenesis and Diapause of *Ephemerella ignita* (Poda) (Insecta, Ephemeroptera)

Summary. The effect of temperature on the duration of embryogenesis, especially on the embryonic diapause of *Ephemerella ignita*, was investigated in the natural environment and in laboratory experiments.

Morphogenesis is blocked by diapause in developmental stage 10 (embryo nearly fully developed, pigmented eyeanlagen, no dorsal closure). Diapause is terminated within 12 months only at comparatively low temperatures (from $\leq 1^{\circ}\text{C}$ to the range of 13.3 to 16.0° C). Comparatively high temperatures (7.2 and 13.3° C) in the days preceding developmental stage 10 cause an extension of diapause. Stage 4 (polar germ anlage) is less sensitive than later stages to the diapause terminating effects of low temperatures.

Postdiapause development to hatching takes place at temperatures ≤ 4.9 to $\geq 24.1^{\circ}\text{C}$. The developmental time is shortest at temperatures between 19.2 and 24.1° C. The calculated lower temperature limit for development is 3.9° C.

Diapause is obligatory with only few exceptions. In field studies egg hibernation was found in nearly all cases. There is a discussion on the importance of these findings for the explanation of the varying developmental cycles of *Ephemerella ignita* described by different authors.

Zusammenfassung. Die Temperaturabhängigkeit der Embryogenese, insbesondere der embryonalen Diapause von *Ephemerella ignita* wurde im Freiland und experimentell im Laboratorium untersucht.

Die Diapause tritt im Entwicklungsstadium 10 (fast vollständig entwickelter Embryo mit pigmentierten Augenanlagen, jedoch ohne Rückenschluß) als Morphogeneseblockierung ein und kann nur bei relativ niedrigen Temperaturen (ca. +1 bis $\geq 13 < 16^{\circ}\text{C}$) innerhalb 12 Monaten beendet werden. Die Diapausedauer steigt mit der Temperatur. Die Diapauseintensität kann mit Annäherung an das Entwicklungsstadium 10 durch relativ hohe Temperaturen (7,2°, 13,3° C) verstärkt werden, die Sensibilität für die Diapause beendende Wirkung der niedrigen Temperaturen ist im Entwicklungsstadium 4 noch geringer als später. Postdiapauseentwicklung bis zum Schlüpfen der Larven findet zwischen $\leq 4,9$ und $\geq 24,1^{\circ}\text{C}$ statt. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 19,2 und 24,1° C. Die theoretische untere Grenztemperatur ist +3,9° C.

* Herrn Dr. H.-H. Bergmann danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Die Diapause war in fast allen Fällen obligat, die Freilanduntersuchungen ergaben allgemein Eiüberwinterung. Die Bedeutung dieser Ergebnisse für die Erklärung der von verschiedenen Autoren beschriebenen unterschiedlichen Entwicklungszyklen von *Ephemerella ignita* wird diskutiert.

Einleitung

Ephemerella ignita, eine in Europa häufige und verbreitete Ephemeroptere, gilt meist als univoltine Art mit Eiüberwinterung (z. B. Dittmar, 1955; Pleskot, 1958; Gledhill, 1958; Müller-Liebenau, 1960; Elliott, 1967). Auf diesen Entwicklungszyklus wurde auf Grund von Untersuchungen des Larvenwachstums und der Flugzeit der Imagines geschlossen. Jedoch gibt es auch Befunde, die eine mindestens fakultative Larvenüberwinterung als möglich erscheinen lassen (Zusammenstellung bei Maitland, 1965). Thibault (1971) fand in einer Population der atlantischen Pyrenäen eine anscheinend dormanzfreie Sommergeneration und schlüpfende Larven eines Teils der Sommer- und Herbstgelege im gleichen Jahr.

Als Beitrag zur Klärung des Entwicklungszyklus bei *Ephemerella ignita* wurde für die vorliegende Arbeit der Verlauf der Embryogenese untersucht: Die Entwicklung wurde bis zum Schlüpfen der Larven im natürlichen Lebensraum und unter verschiedenen Temperaturbedingungen im Laboratorium verfolgt. Die experimentellen Befunde über die Temperaturabhängigkeit haben vorwiegend zum Ziel, die Entwicklungspotenzen der Eier zu erfassen, die möglicherweise zur Erklärung der bisherigen widersprüchlichen Freilandbefunde dienen können.

Über Beobachtungen der Eientwicklung von *Ephemerella ignita* berichten bisher nur Dürken (1923) und Thibault (1971). Dürken erhielt erst nach neunmonatiger Haltung der Gelege, von Juni bis zum März des folgenden Jahres, schlüpfende Larven, Thibault fand dagegen schlüpfende Larven während fast aller Monate des Jahres.

Material und Methoden

Das Untersuchungsmaterial erhielt ich durch Einsammeln gelegetragender ♀♀ am Licht. Alle wurden in der Stadt Marburg a. d. Lahn (Hessen) gesammelt und dürften überwiegend der Larvenpopulation der nahen „Lahn“ entstammen. Die Gelege stammen 1968 vom 16. 6., 26. 6. und 5. 7., 1969 aus der Zeit zwischen 12. und 17. 7. und 1970 aus der Zeit zwischen 23. 7. und 5. 8. Voraussetzung für normale Entwicklung ist schnelle Übertragung der Eier in Wasser.

Die Eier von *Ephemerella ignita* besitzen ein polares Haftorgan (vgl. z. B. Degrange, 1960), mit dessen Hilfe sie in annähernd einschichtiger Lage auf Objektträgern befestigt werden konnten. Sie blieben etwa 18 Std bei Zimmertemperatur (ca. 20° C). Für Freilandversuche wurden sie auf beschwerten Plastikgefäßen fixiert und am Untersuchungsort versenkt. Für die experimentellen Untersuchungen mit konstanten Temperaturen dienten mit Quellwasser gefüllte Aquarien (Methoden

in Anlehnung an Flüchter, 1968). Die Wasserumwälzung reichte aus, um auch während der Heizperioden die Entstehung eines Temperaturgefälles im Becken zu vermeiden. Die beheizten Aquarien standen in einem Kühlraum (ca. 4° C) mit künstlicher Beleuchtung (1 Leuchtstoffröhre): Die Helligkeit an der Wasseroberfläche betrug etwa 150 Lux, der tägliche Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std. Für Temperaturwechselversuche benötigte Stichproben wurden vom Objektträger abgelöst und in Glasschälchen mit Wasser aufbewahrt. Die Temperaturschwankungen in den Versuchen lagen unter $\pm 0,4^{\circ}$ C.

Die embryonale Morphogenese wurde an Hand fixierter und gefärbter Totalpräparate der Eier überprüft. Für die quantitative Erfassung der Entwicklungsstadien reichte Lebendbeobachtung aus. Angaben über Prozentanteile schlüpfender Larven beziehen sich immer auf die potentiell schlüpfähigen Embryonen: Das Schlüpfvermögen wurde nötigenfalls nach Abschluß des Versuches bei anderen Temperaturen überprüft. In Laboruntersuchungen wurden die geschlüpften Larven, in Freilandgelegen die leeren Eihüllen ausgezählt.

Angaben über die Irrtumswahrscheinlichkeit der Prozentwerte errechnete ich, wenn nicht anderes erwähnt nach der Formel: $s_p = \frac{P(100 - P)}{N}$ (Haseloff-Hoffmann, 1965).

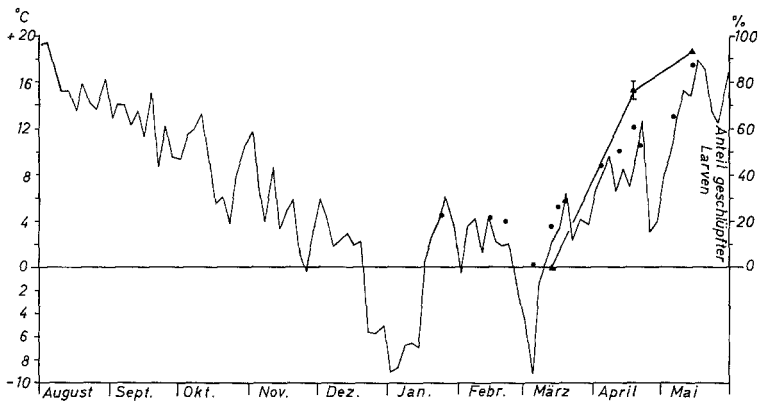


Abb. 1. ▲- Schlüpfen der im „Treisbach“ 1970/71 ausgesetzten Gelege von *Ephemerella ignita* (rechte Ordinate). Mittelwerte für 20 Gelege. Eingezeichnet ist der Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) für die Streuung zwischen den Gelegen ($P=5\%$). Ausgezogene Kurve: 3tägige Mittelwerte der Tagesmittel der Lufttemperatur für Biedenkopf, die nächst gelegene Klimastation gleicher Meereshöhe (linke Ordinate). Die Daten wurden mir freundlicherweise vom Deutschen Wetterdienst Offenbach zur Verfügung gestellt. ● Wassertemperaturen „Treisbach“, Untersuchungsstelle: Einzelmessungen jeweils zwischen 15 und 18 Uhr

Ergebnisse

A. Schlüpfen der Larven im natürlichen Lebensraum

Die Gelege wurden am 10. 8. 1970, 4 Tage nach dem Einsammeln, im „Treisbach“, einem Nebenfluß der „Lahn“, wenig oberhalb der gleichnamigen Ortschaft ausgesetzt. Der Bach gehört in diesem Bereich

zur Forellenregion und empfängt lediglich die häuslichen Abwässer zweier 1,5 bzw. 3,5 km oberhalb liegender Bauerndörfer. Kontinuierliche Temperaturregistrierung war nicht möglich, doch lassen die Werte der Einzelmessungen und die Lufttemperaturkurve der ca. 7 km entfernten Meßstation Biedenkopf (Abb. 1) den Schwankungsbereich der Temperatur im Laufe des Jahres erkennen. Während Frostperioden bildete sich eine dünne Eisdecke, unter der die Temperatur des freien Wassers $+0,2^{\circ}\text{C}$ betrug. Die höchsten gemessenen Sommer-Werte lagen zwischen 17 und 18°C . In diesem Bereich des Treisbachs kommt eine natürliche Larvenpopulation von *Ephemerella ignita* vor.

Vorversuche im Jahre 1969 hatten ergeben, daß aus nur 4 von 24 Gelegen in der Zeit zwischen 16./17. Juli und 5. Oktober einige Larven schlüpften. In allen 4 Ausnahmegelegen blieb der Schlüpfanteil unter 1%.

1970/71 schlüpften aus den 20 im Freiland untersuchten Gelegen (6521 Eier) bis Mitte März keine Larven (Abb. 1). Die Schlüpfperiode begann nach Abschluß der letzten Frostperiode des Winters (Anfang März) und war nach $1\frac{1}{2}$ Monaten weitgehend abgeschlossen. *Ephemerella ignita* wäre danach im untersuchten Biotop ein obligater Eiüberwinterer.

Der Fehler des Mittelwertes wurde nach einer Transformation der Prozentwerte auf $\text{arc. sin } \sqrt{\text{Prozent}}$ (Mudra, 1958) berechnet. Er bezieht sich auf die Streuung der Prozentwerte geschlüpfter Larven zwischen den Gelegen für $n=20$ und 76%. Die entsprechenden Werte für verschiedene Gelegezahlen sind:

n	$s_{\bar{x}}$ für $P=5\%$
25	$\pm 3,5\%$
20	$\pm 4,0\%$
15	$\pm 5,5\%$
10	$\pm 9,0\%$
8	$\pm 12,5\%$

Diese Werte gestatten es, den geleageabhängigen Fehler des Mittelwertes auch abzuschätzen, wenn die Stichproben aus mehreren Gelegen gemeinsam ausgewertet werden, wie das bei den folgenden Versuchen der Fall ist.

B. Die Embryogenese bei verschiedenen konstanten Temperaturen

Die embryonale Morphogenese von *Ephemerella ignita* ist jener von *Baëtis rhodani* ähnlich (Bohle, 1969), so daß die dort definierten Bezeichnungen der Entwicklungsstadien hier verwendet werden können. Einige Abweichungen treten z. B. bei der Ausrollung des Embryos auf, sie sind jedoch für diese Darstellung ohne Bedeutung.

Die temperaturabhängige Morphogenesegeschwindigkeit ist aus Abb. 2 ersichtlich. In allen untersuchten Fällen bricht die Embryogenese spätestens im Stadium 10 nach Ausbildung der Pigmentierung der Augenanlagen ab. Dies Dormanzstadium wird zwischen $7,2$ und $16,0^{\circ}\text{C}$

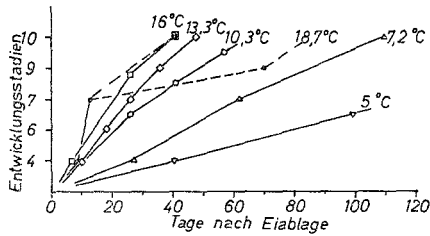


Abb. 2. *Ephemerella ignita*: Entwicklungsgeschwindigkeit der Prädiapausemorphogenese bei verschiedenen Temperaturen. Geschätzte Werte nach Lebendbeobachtung von jeweils mindestens 5 Gelegen. 7,2°, 13,3°, 18,7°: 1968, übrige 1970. Entwicklungsstadien: 4: polare Keimanlage; 6: eingesenkter Keimstreif mit beginnender Segmentierung; 7: eingesenkter Keimstreif, segmentiert, mit gnathocephalen und thorakalen Extremitätenanlagen; 9: Ausrollung und Kontraktion des Embryos; 10: Fast schlüpfreifer Embryo mit pigmentierten Augenanlagen, noch ohne Rückenschluß

von allen Embryonen erreicht. Höhere Temperaturen hemmen die Morphogenese: Bei 18,7° C entwickeln sich einige Embryonen schnell, einige verzögert bis zum Stadium 10 oder die Entwicklung bleibt sogar irgendwo zwischen den Stadien 7 und 10 stehen (gestrichelte Kurventeile in Abb. 2). Bei 22° C (nicht abgebildet) werden die Stadien 8 und 9 nur in wenigen Fällen überschritten.

Bei 5° C wurden die Beobachtungen 144 Tage nach Eiablage abgebrochen. In dieser Zeit war die Entwicklung bis zum Stadium 7 fortgeschritten.

C. Das Schlüpfen der Larven bei verschiedenen Temperaturen

I. *Konstante Temperaturen.* Der Diapauseabschnitt der Ontogenese ist unter anderem dadurch gekennzeichnet, daß trotz Konstanz sonst günstiger Außenbedingungen die Entwicklung gehemmt wird: Auch bei *Ephemerella ignita* steigt die Gesamtentwicklungsdauer mit steigender Temperatur (Abb. 3); bei 16,0, 18,7 und 22,0° C schlüpfen innerhalb von fast 450 Tagen keine Larven. Bei hohen Temperaturen steigt zudem langsam der Anteil letaler Eier: Ca. 200 Tage nach der Eiablage war er für 16,0, 18,7 und 22,0° C nicht signifikant höher als der Normalwert ($1,8 \pm 1,7\%$). Bei 16,7° C erreichte er nach 390 Tagen 41%, bei 20 und 22° C lag er höher, ein genauer Wert wurde nicht ermittelt. Aus anderen Versuchen geht hervor, daß bei 13,3° C nach dem 388. Tag, an dem der dargestellte Versuch abgebrochen wurde, eine Fortsetzung des Schlüpfens zu erwarten ist.

Bereits die bisherigen Versuchsergebnisse lassen erkennen, daß die Dormanz von *Ephemerella ignita* keine Quieszenz sondern eine Form der Diapause ist.

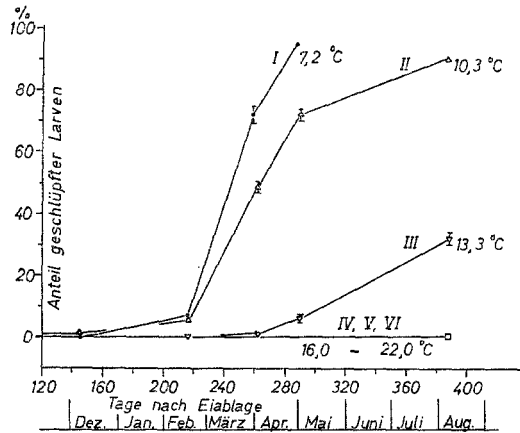


Abb. 3. *Ephemera ignita*: Schlüpfen der Eilarven bei verschiedenen konstanten Temperaturen. Summenprozentkurven. 22° C: 1968/69, übrige: 1969/70. Kurve I: 7,2° C, Mittelwerte für 16 Gelege; Kurve II: 10,3° C, Mittelwerte für 12 Gelege; Kurve III: 13,3° C, Mittelwerte für 8 Gelege; Kurve IV: 16,0° C, 9 Gelege; Kurve V: 18,7° C, 9 Gelege; Kurve VI: 22,0° C, 6 Gelege. Eingezeichnet ist der Fehler des Mittelwerts für $P=5\%$

II. *Temperaturwechsel*. Prä- und Postdiapause einerseits sowie die Diapausephase andererseits haben in der Regel unterschiedliche Temperaturansprüche (Temperaturvalenzbereiche: Müller, 1965). Um die Entwicklungspotenzen der Eier erkennen und zwischen den Ansprüchen der Entwicklungsabschnitte differenzieren zu können, müssen Kombinationen verschiedener Temperaturen im Laufe der Gesamtentwicklung geboten werden.

Abb. 2 hat gezeigt, daß die Geschwindigkeit der Prädiapausemorphogenese zwischen 5,0 und 16,0° C zunimmt, während bei 18,7 und 22,0° C Verzögerungen auftreten. Das Temperaturoptimum für die gesamte Prädiapause liegt demnach zwischen 16,0 und 18,7° C. Das Temperaturoptimum der Diapauseentwicklung liegt gemäß Abb. 3 tiefer (s. S. 259). Um die Potenzen zur Weiterentwicklung (Postdiapause) im Anschluß an den Abschnitt mit niedrigem Temperaturoptimum (Diapause) erfassen zu können, werden Stichproben von Eiern nach unterschiedlicher Dauer der Kältebehandlung (5,0° C, 7,2° C) auf höhere Temperaturen übertragen: 13,3 und 20,0° C erwiesen sich als günstige Inkubationstemperaturen für die Postdiapause (vgl. Abb. 8). Die Abb. 4 stellt das Ergebnis derartiger Experimente dar: Bei 5° C wird die Diapausedauer kürzer als bei 7,2° C. Auffallend ist außerdem das verzögerte Schlüpfen bei 7,2° C (geringe Steigung der Kurve IV), das bei Versuchsabschluß noch nicht beendet war. Dieser Schlüpfverlauf ist nach 110

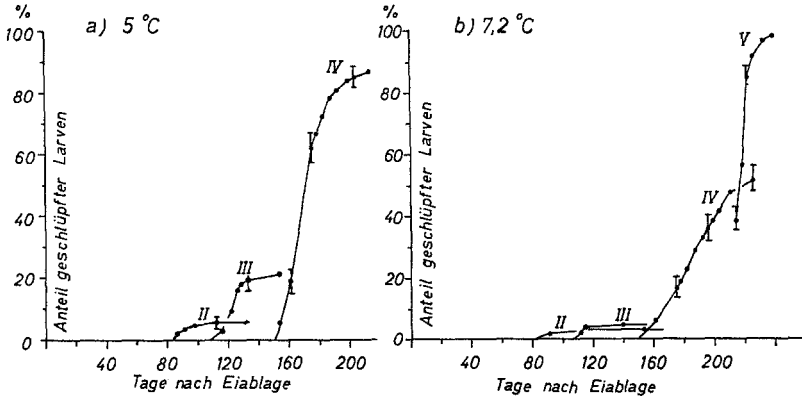


Abb. 4 a u. b. *Ephemerella ignita*: Schlüpfverlauf bei 13,3° C nach unterschiedlich langer Kälteeinwirkung. Beginn der Kälteeinwirkung nach 57 Tagen (nach Eiablage) bei 13,3° C, im Entwicklungsstadium 10. Summenprozentkurven von Stichproben: 1969/70. a Kältebehandlung bei 5,0° C, Mittelwerte für 9 Gelege. b Kältebehandlung bei 7,2° C, Mittelwerte für 15 Gelege. Kurve II: nach 18 Tagen Kälteeinwirkung; Kurve III: nach 45 Tagen Kälteeinwirkung; Kurve IV: nach 90 Tagen Kälteeinwirkung; Kurve V: nach 156 Tagen Kälteeinwirkung (nur in b).

Einzeichnet ist der Fehler des Mittelwertes der Stichproben für $P=5\%$

bis 160 Tagen bei 7,2° C und Übertragung nach 13,3° C immer ausgeprägt. Wahrscheinlich beenden die verzögert schlüpfenden Larven bei 13,3° C zunächst die Diapauseentwicklung (vgl. S. 264). Ein gleichartiges Phänomen ließ sich bei *Baëtis vernus* beobachten (Bohle, 1969).

Bei Temperaturen unter 5° C (geprüft für +1° C) wird die Diapausedauer wahrscheinlich weiter verkürzt. Wegen der abweichenden Inkubationstemperatur für die Postdiapauseentwicklung von 20° C statt 13,3° C können die Ergebnisse dieser Versuche nur eingeschränkt mit den vorhergehenden verglichen werden: Bis 122 Tage nach Eiablage bei 13,3° C gehaltene Gelege wurden aufgeteilt und die Stichproben auf +1, +5 und +7,2° C gebracht. Nach 10, 20 und 50 Tagen Kälteeinwirkung in 20° C übertragen, blieben in den ersten beiden Versuchen die Schlüpfanteile unter 12% mit nicht signifikanten Differenzen. Der dritte Versuch ergab nach 40tägiger Inkubation bei 20° C folgende Schlüpfanteile (mit Angabe des Fehlers des Mittelwertes für $P=5\%$):

7,2° C: 68,5 ± 4,8%
 5,0° C: 80 ± 4,6%
 1,0° C: 92 ± 3,7%

Untersuchungen an verschiedenen Insekten haben eine Beeinflussung der Diapausedauer durch die während der Prädiapause herrschenden

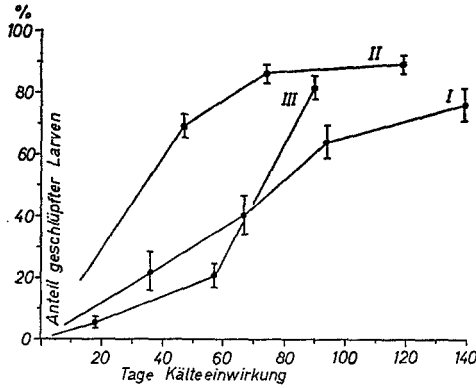


Abb. 5. *Ephemera ignita*: Prozentanteile schlüpfender Eilarven nach Übertragung der Eier von 5 nach 13,3° C: 1969/70. Summenprozentwerte für 40 Tage nach Schlüpfbeginn. Mittelwerte der Stichproben aus jeweils 9 Gelegen. Kurve I: 8 Tage nach Eiablage bei 13,3° C, dann Übertragung nach 5° C im Entwicklungsstadium 4; Kurve II: 28 Tage nach Eiablage bei 13,3° C, dann Übertragung nach 5° C im Entwicklungsstadium 7. Kurve III: 57 Tage nach Eiablage bei 13,3° C, dann Übertragung nach 5° C im Entwicklungsstadium 10. Eingezeichnet ist der Fehler des Mittelwerts der Stichproben für $P=5\%$

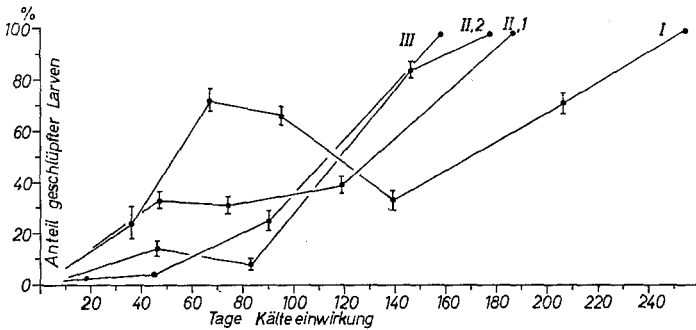


Abb. 6. *Ephemera ignita*: Prozentanteile schlüpfender Eilarven nach Übertragung der Eier von 7,2 nach 13,3° C. Summenprozentwerte für 40 Tage nach Schlüpfbeginn. Kurve I: 8 Tage nach Eiablage bei 13,3° C, dann Übertragung nach 7,2° C im Entwicklungsstadium 4. 1969/70; Kurve II,1: 28 Tage nach Eiablage bei 13,3° C, dann Übertragung nach 7,2° C im Entwicklungsstadium 7. 1969/70; Kurve II,2: 32 Tage nach Eiablage bei 13,3° C, dann Übertragung nach 7,2° C im Entwicklungsstadium 7. 1970/71; Kurve III: 57 Tage nach Eiablage bei 13,3° C, dann Übertragung nach 7,2° C im Entwicklungsstadium 10. 1969/70. Alle Kurven: Mittelwerte für Stichproben aus mindestens 14 Gelegen. Eingezeichnet ist der Fehler des Mittelwerts der Stichproben für $P=5\%$

Temperaturen erwiesen (z.B. Masaki, 1962; Browning, 1952). Zur Prüfung dieser Frage für *Ephemerella ignita* wurde der Einfluß der Kälte (5,0, 7,2° C) auf die Diapausedauer von Eiern der Entwicklungsstadien 4, 7 und 10 verglichen. Dabei muß berücksichtigt werden, daß die Morphogenese während des Aufenthalts bei 5,0 und 7,2° C weiter fortschreitet (vgl. Abb. 2). Der Anteil innerhalb von 40 Tagen nach Schlüpfbeginn geschlüpfter Larven läßt sich aus Kurven nach Art der Abb. 4 ermitteln und ist in den Abb. 5 und 6 dargestellt. Bei 5° C (Abb. 5) ist die Dauer der Diapause für das Stadium 4 am längsten, für das Stadium 7 am kürzesten.

Bei 7,2° C (Abb. 6) ist das Ergebnis weniger übersichtlich. Für das Stadium 7 ist aus den Jahren 1969/70 und 1970/71 je eine Kurve (Kurve II,1 und II,2) vorhanden: Beide lassen erkennen, daß der Schlüpfanteil etwa zwischen dem 50. und 120. Tag nach Beginn der Kältebehandlung stagniert oder sogar zurückgeht. Verstärkt und zeitlich verzögert tritt die gleiche Erscheinung für das Stadium 4 hervor (Kurve I).

Beim Aufenthalt bei 7,2° C verstärkt sich demnach nach einiger Zeit die Diapauseintensität. Das ist nicht auf 7,2° C beschränkt: Die bis zum Entwicklungsstadium 10 bei 13,3° C gehaltenen Gelege beenden die Diapause sowohl bei 5° C als auch bei 7° C verzögert (Abb. 5 u. 6, Kurven III), bei 7° C in annähernd gleichem Maß wie jene des Stadiums 7. Berücksichtigt man den Morphogenesefortschritt bei 7,2° C (vgl. Abb. 2), so läßt sich Stadienspezifität für die Verstärkung der Diapauseintensität erkennen: Die Wirkung wird in allen Fällen erst deutlich, wenn das Diapausestadium 10 annähernd erreicht ist. Das erste Schlüpfmaximum (z. B. Kurven I und II, Abb. 6) kann daher bei Übertragung im Stadium 10 nicht mehr auftreten. Bei 5° C wird die Diapauseverstärkung nicht erkennbar.

Die Verzögerung der Diapausebeendigung für das Stadium 4 bei 5° C gegenüber dem Stadium 7 (Abb. 5, Kurven I, II) dürfte auf geringere oder fehlende Sensibilität dieses frühen Entwicklungsabschnitts für die Diapauseverkürzung zurückzuführen sein. Die relativ schnelle Morphogenese bei 7,2° C verhindert möglicherweise, daß bei dieser Temperatur dieselbe Erscheinung sichtbar wird.

Wählt man nach der Kältebehandlung statt 13,3° C eine Temperatur von 20° C zur Inkubation, so wird die Gesamtentwicklungsdauer erheblich verkürzt (Abb. 7, Kurve I, vgl. mit Abb. 6, Kurve II,2). Kältebehandlung vorweg bleibt jedoch Voraussetzung für den Schlüpfertag: Selbst 122 und 203 Tage nach Eiablage direkt von 13,3° nach 20° C übertragene Eier hatten nach 40 Tagen Inkubation nur Schlüpfanteile von 2 bzw. 5%. Eine ähnliche Reaktionsweise schildert Jacobson (1962) für die Lepidoptere *Agrotis orthogonia*.

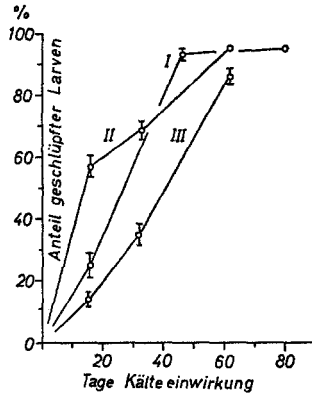


Abb. 7. *Ephemerella ignita*: Prozentanteile schlüpfender Eilarven nach Übertragung der Eier von 7,2 nach 20,0° C. Summenprozentwerte für 40 Tage nach Schlüpfbeginn: 1970/71. Kurve I: 33 Tage nach Eiablage bei 13,3° C, dann Übertragung nach 7,2° C im Entwicklungsstadium 7; Kurve II: 198 Tage nach Eiablage bei 13,3° C, dann Übertragung nach 7,2° C im Entwicklungsstadium 10; Kurve III: 198 Tage nach Eiablage bei 20,0° C, dann Übertragung nach 7,2° C im Entwicklungsstadium 10. Alle Kurven: Mittelwerte für Stichproben aus mindestens 14 Gelegen. Eingezeichnet ist der Fehler des Mittelwerts der Stichproben für $P=5\%$

Der Vergleich der Kurven I und II (Abb. 7) läßt die weitere sehr langsame (nur für den ersten Teil der Kurve signifikante) Verkürzung der Diapausedauer bei lange andauerndem Aufenthalt bei 13,3° C erkennen. Der Vergleich mit der Kurve III zeigt, daß diese Entwicklung bei 20° C mit noch geringerer Geschwindigkeit fortschreitet.

D. Die Geschwindigkeit der Postdiapauseentwicklung

Aus Abb. 8a ergibt sich die Temperaturabhängigkeit der Postdiapausedauer. Für den Versuch wurden 3 Gelege verwendet, aus denen vor Versuchsbeginn nur jeweils weniger als 1% der Larven geschlüpft waren. Es wurde ein relativ später Zeitpunkt des Versuchsbeginns gewählt, um bei einem möglichst hohen Anteil der Eier eine abgeschlossene Diapauseentwicklung vorzufinden, und um für den Beginn

Abb. 8a u. b. *Ephemerella ignita*: Dauer der Postdiapauseentwicklung bis zum Schlüpfen der Eilarven in Abhängigkeit von der Temperatur. a Linearer Maßstab. b Logarithmische Transformation der Ordinaten- und Abszissenwerte von a. I: 5%, II: 50%, III: 95% geschlüpfte Larven. Mittelwerte für Eier aus 3 Gelegen. Eiablage 14. 7. 1971. Nach 225 Tagen bei 7,4° C 15 Tage ca. 4° C, anschließend Versuchstemperaturen. IV: 95% geschlüpfte Larven. Mittelwerte für Eier aus 8 Gelegen. Eiablage wie bei I—III. Nach 240 Tagen bei 7,4° C 53 Tage ca. 4° C (nur in b dargestellt)

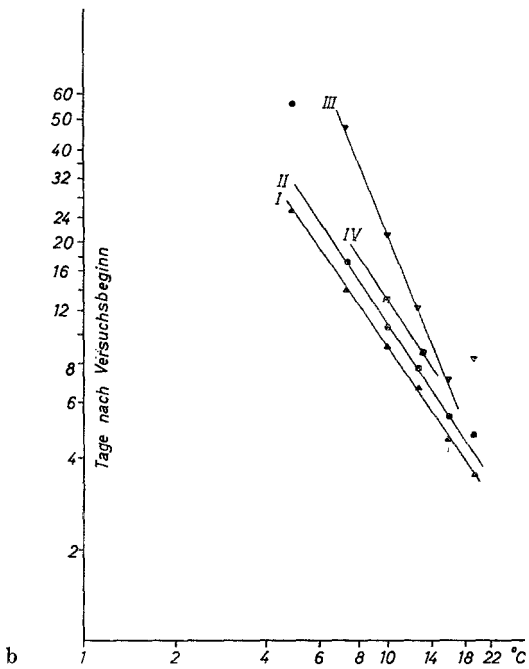
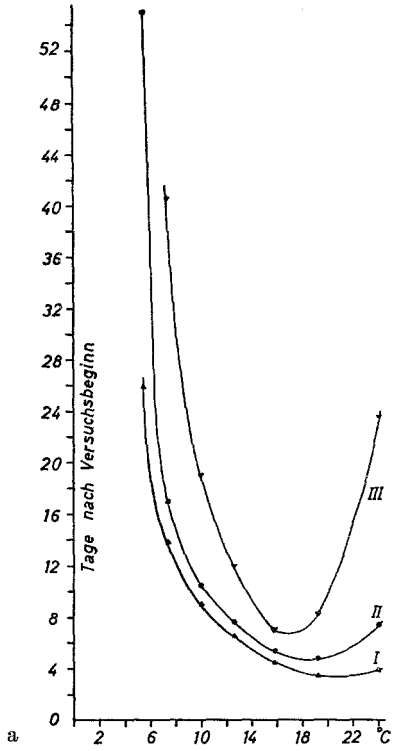


Abb. 8a u. b

der Postdiapauseentwicklung annähernde Terminübereinstimmung mit den Freilanduntersuchungen (Abb. 1) zu erhalten.

Nach logarithmischer Transformation der X - und Y -Werte der Abb. 8a ergibt sich für den mittleren Temperaturbereich eine Gerade (Abb. 8b). In der Regressionsgleichung:

$\log y = \log a - b \log x$ betragen die

$$\begin{aligned} \text{Regressionskoeffizienten: } b_I &= 1,46 \\ b_{II} &= 1,50 \\ b_{III} &= 2,46 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Die Werte für } \log a \text{ sind: } a_I &= 2,41 \\ a_{II} &= 2,53 \\ a_{III} &= 3,76 \end{aligned}$$

Das Bestimmtheitsmaß B (vgl. Weber, 1956) für alle 3 Geraden ist: $B \geq 0,98$, der Korrelationskoeffizient

$$r = \sqrt{B} \text{ beträgt } 0,99.$$

Zwischen $19,2$ und $<24,1^\circ\text{C}$ liegt das Temperaturoptimum der Entwicklungsgeschwindigkeit (Abb. 8a für 5 und 50%: Kurven I und II), doch liegt bereits bei Kurve II der Abb. 8b der y -Wert für $19,2^\circ\text{C}$ oberhalb der Geraden, noch deutlicher für Kurve III. Die theoretische untere Grenztemperatur (t_0) (=Entwicklungsnullpunkt) nach der Formel

$$t_0 = t_1 - \frac{T_2(t_2 - t_1)}{T_1 - T_2}$$

$$t_1 = 7,4^\circ\text{C}, t_2 = 15,8^\circ\text{C}, T_1, T_2: \text{Entwicklungszeit in Tagen}$$

errechnet, beträgt $3,9^\circ\text{C}$, der Q_{10} -Wert für die Kurven I und II 3,2.

Die wirkliche untere Grenztemperatur ist experimentell schwierig bestimmbar. Bei $4,8^\circ\text{C}$ (Temperaturschwankungen zwischen $4,2$ und $5,4^\circ\text{C}$) schlüpften innerhalb 100 Tagen noch 92% der Eilarven, jedoch liegt nur noch der Wert für 5% auf der Regressionsgeraden (Abb. 8b).

Wie die Abweichung des Regressionskoeffizienten der Kurve III gegenüber I und II veranschaulicht, nimmt gegen Ende der Schlüpfperiode die Entwicklungszeit mit sinkender Temperatur stärker zu, als es auf Grund der Ergebnisse für 5 und 50% zu erwarten wäre (vgl. z. B. Elliott, 1972). Das dürfte die Folge einer zunehmenden Anhäufung von Eiern mit unvollständig abgeschlossener Diapauseentwicklung unter den spät schlüpfenden sein (vgl. S. 259): Der Regressionskoeffizient für 95% geschlüpfter Larven einer anderen Gelegegruppe (Abb. 8b, Kurve IV) beträgt $b_{IV} = 1,46$ (geprüft $10,0$ und $13,1^\circ\text{C}$) und stimmt somit mit b_I und b_{II} fast überein. Diese Gelege hatten einen Kälteauf-

enthalt von insgesamt 293 (statt 240) Tagen bei Versuchsbeginn hinter sich. Der Anteil geschlüpfter Larven betrug zu dieser Zeit 61%.

Wie die anderen Versuchsergebnisse erkennen lassen, ist die Postdiapausedauer nicht ganz unabhängig von den Temperaturbedingungen, unter denen die vorhergehende Entwicklung stattfand. Für die in Abb. 6 dargestellten Versuche erreichte die mittlere Postdiapausedauer (bei 13,2° C) fast einheitlich 10—9 Tage nach ca. 90—200 Tagen Kälteaufenthalt: Das sind mindestens 8% mehr als nach Abb. 8 nach 240 Tagen. Kältebehandlung bei 5° C (Abb. 5) verlängerte die Postdiapause auf 20—22 Tage unter den für die Kurven II und III erläuterten Bedingungen. Für *Baëtis vernus* konnte eine gleichartige Verlängerung der Postdiapausedauer durch niedrige Temperaturen auf einen Entwicklungsabschnitt der „Postdiapause ohne Morphogenese“ zurückgeführt werden (Bohle, 1969).

Diskussion

Die Embryogenese von *Ephemerella ignita* wird durch eine Diapause unterbrochen. Während Prä- und Postdiapause findet die Morphogenese mindestens zwischen +5 und ≥ 22 bzw. ≥ 24 ° C statt. Die normale Prädiapausemorphogenese wird im letzten Abschnitt bereits bei 18,7, noch stärker bei 22° C gehemmt. Das Temperaturoptimum der Postdiapause liegt zwischen 19,2 und 24,1° C. Die Dormanz ist an das Entwicklungsstadium 10 gebunden. Beendet wird sie innerhalb 390 Tagen (Abb. 2) zwischen $\leq +1$ ° C und 13,3 — < 16,0° C. Wenn bei 16° C und höheren Temperaturen Larven nicht mehr schlüpfen, muß das nicht bedeuten, daß Diapauseentwicklung nicht stattfindet, sondern nur, daß ihre Geschwindigkeit nicht ausreicht, um in der mehr als einjährigen Frist bis zum Schlüpfen zu führen (vgl. Bohle, 1969). Letalität tritt bei Daueraufenthalt in Temperaturen von 16—22° C erst nach über 6 Monaten in langsam zunehmendem Maße in Erscheinung und kann daher nicht die Ursache der fehlenden Schlüpfaktivität sein. Die Intensität der Diapause nimmt zu, wenn sich die Eier während der Annäherung an das Entwicklungsstadium 10 bei 7,2 oder 13,3° C befinden. Ob dieser Effekt bei noch höheren Temperaturen ebenfalls auftritt wurde nicht untersucht; bei 5° C war er nicht nachweisbar. Im Entwicklungsstadium 4 ist die Sensibilität für die die Diapause verkürzende Wirkung niedriger Temperaturen geringer als später.

H. J. Müller (1965, 1970) gliederte die Diapausetypen auf Grund ihrer Umweltabhängigkeit in Oligo-, Para- und Eudiapausen. Als thermische Parapausen gelten solche, „deren aufeinanderfolgende Entwicklungsstadien optimal nur in unterschiedlichen Temperaturbereichen ablaufen können“. Für die Eudiapausen ist charakteristisch, daß die Faktoren der Diapauseinduktion und -aufhebung unterschiedlich sind: z.B. Photo-

periode und Temperatur. Die Frage der Diapauseinduktion wurde für *Ephemerella ignita* nicht geprüft und die Potenz zur Induktion diapausefreier Entwicklung ist nicht auszuschließen. Da es sich jedoch unter natürlichen Bedingungen um eine obligate Diapause handelt, die photoperiodischen Einfluß nicht voraussetzt, sprechen unsere derzeitigen Kenntnisse für eine Einordnung als Parapause.

Die einzige Ephemeroptere mit Eidiapause, die auf Grund gleichartiger Untersuchungen zum Vergleich mit *Ephemerella ignita* herangezogen werden kann, ist *Baëtis vernus* (Bohle, 1969). Für beide Arten stimmen die wirksamen Temperaturbereiche der diapausebezogenen Entwicklungsabschnitte ungefähr überein. Dagegen schlüpft bei *Baëtis vernus* ein Teil der Larven auch bei konstant hohen Temperaturen, was dort die Möglichkeit zum sommerlichen Auftreten von Eilarven und zur Bildung einer partiellen zweiten Jahresgeneration bietet. Die Eidiapause von *Ephemerella ignita* ist demnach strenger als jene von *Baëtis vernus*. Unterschiedlich ist bei beiden Arten auch das Diapausestadium.

Die Marburger Population von *Ephemerella ignita* ist nach den übereinstimmenden Ergebnissen der Freiland- und Laboruntersuchungen obligater Eiüberwinterer. Die dargestellten Ergebnisse bestätigen demnach die in der Einleitung genannten meist mittel- und westeuropäischen Freilandbefunde, die auf eine lange Eidormanzphase während Spätsommer, Herbst und Winter und schnelle Larvenentwicklung bis zum Frühsommer schließen lassen.

Wie Thibault betont, hat die „Lissuraga“, deren partiell bivoltine Population er untersuchte, während des ganzen Jahres relativ hohe Temperaturen. Die hier dargestellten Ergebnisse lassen jedoch keine Möglichkeit erkennen, daß andauernd hohe Temperaturen (geprüft bis 22° C) zu schnellem und zahlreichen Schlüpfen der Eilarven führen können (Abb. 3). Es genügt auch nicht, von der relativ hohen Temperatur 13,3° C auf 20° C überzugehen, um Schlüpfen auszulösen: Maßgebend ist, daß Kälte für eine Mindestdauer einwirkt (Abb. 5, 6 und 7). Annähernd konstante niedrige Temperaturen, die nach Abb. 3 zum Schlüpfen führen, kommen im natürlichen Lebensraum nur in Quellnähe vor. Falls *Ephemerella ignita* in solchen Biotopen Eier ablegte, was nicht bekannt ist, müßten ab Januar Eilarven vorhanden sein. Eine weitere Möglichkeit zu relativ schneller Entwicklung wäre gegeben, wenn bei einer Flugzeit Gelege in noch kalte Bäche abgelegt würden, die sich zum Sommer erwärmten (entsprechend Abb. 5 und 6, jeweils Kurve I). Wie der Vergleich erkennen läßt, zeigt die von Thibault untersuchte Population von *Ephemerella ignita* in der Temperaturabhängigkeit ihrer Embryogenese eine von der Marburger deutlich verschiedene Reaktionsnorm.

Die gefundene Temperaturabhängigkeit der Embryogenese muß für die offenbar typischen mittel- und westeuropäischen Populationen von *Ephemerella ignita* mit sommerlicher Flugzeit eine Synchronisation der Entwicklung bewirken. Die herbstlich-winterliche Kälte beendet die Diapause: Auf Grund der Abb. 1, 3, 5 und 6 läßt sich z.B. für die Temperaturbedingungen des „Treisbach“ abschätzen, daß bereits Mitte Januar 50% der Eilarven bei Temperaturerhöhung auf 13° C schlüpfen müßten. Im Herbst, bei bereits niedrigen Wassertemperaturen abgelegte Eier würden auf Grund geringerer Diapauseintensität die Potenz zum Beginn der Postdiapausemorphogenese wahrscheinlich im gleichen Zeitraum erreichen. Entscheidend für den wirklichen Schlüpftermin im Freiland ist demzufolge der Termin des Anstiegs der Wassertemperaturen im Frühjahr: In dem Maße wie dieser sich verschiebt muß es auch der Zeitpunkt des Erscheinens der Eilarven im Biotop tun.

Die Ergebnisse über die Temperaturabhängigkeit der Postdiapause gestatten es, die Thermalkonstante zu berechnen; für 50% geschlüpfte Larven beträgt sie im mittleren Temperaturbereich nach Werten aus Abb. 8 z.B. 64 Tagesgrade. Die Frage der Übertragbarkeit solcher Werte auf Freilandverhältnisse zur Vorhersage der Schlüpftermine der Eilarven bedarf der Überprüfung: Legt man die für Biedenkopf gemessenen Tagesmitteltemperaturen zu Grunde, so ergibt sich für 76% geschlüpfter Larven (Abb. 1, 18. April) eine Summe von 82 Tagesgraden. Die auf Grund der Unterlagen für Abb. 8 bestimmten 84 Tagesgrade stimmen damit gut überein, doch kann dieser Befund die exakte Nachprüfung auf Grund ausreichender Messungen der Wassertemperatur nicht ersetzen. Außerdem bleibt zu berücksichtigen, daß der Einfluß vorher einwirkender Temperaturen auf die Postdiapausedauer noch nicht quantifizierbar ist (vgl. S. 265).

Literatur

- Bohle, H. W.: Untersuchungen über die Embryonalentwicklung und die embryonale Diapause bei *Baëtis vernus* Curtis und *Baëtis rhodani* (Pictet) (Baëtidae, Ephemeroptera). Zool. Jb. Abt. Anat. u. Ontog. **86**, 493—557 (1969).
- Browning, T. O.: The influence of temperature on the completion of diapause in the eggs of *Gryllulus commodus* Walker. Aust. J. Sci. Res. B **5**, 112—127 (1952).
- Degrange, Ch.: Recherches sur la reproduction des Ephéméroptères. Thèse, Grenoble (1960).
- Dittmar, H.: Ein Sauerlandbach, Untersuchungen an einem Wiesen-Mittelgebirgsbach. Arch. Hydrobiol. **50**, 305—552 (1955).
- Dürken, B.: Die postembryonale Entwicklung der Tracheenkiemen und ihrer Muskulatur bei *Ephemerella ignita*. Zool. Jb. Abt. Anat. u. Ontog. **44**, 439—614 (1932).
- Elliott, J. M.: The life histories and drifting of the Plecoptera and Ephemeroptera in a Dartmoor stream. J. Anim. Ecol. **36**, 343—362 (1967).

- Elliott, J. M.: Effect of temperature on the time of hatching in *Baëtis rhodani* (Ephemeroptera: Baëtidae). *Oecologia* (Berl.) **9**, 47—51 (1972).
- Flüchter, J.: In: C. Schlieper: Methoden der meeresbiologischen Forschung. Jena: Fischer 1968.
- Gledhill, T.: In: The Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera caught by emergence traps in two streams during 1958. *Hydrobiologia* **15**, 179—188 (1960).
- Haseloff, O. W., Hoffmann, H. J.: Kleines Lehrbuch der Statistik, 2. Aufl. Berlin: de Gruyter 1965.
- Jacobson, L. A.: Relation of temperature for hatching to elimination of diapause in eggs of the pale western cutworm *Agrotis orthogonia* Morrison (Lepidoptera, Noctuidae). *Canad. Entomologist* **94**, 889—892 (1962).
- Maitland, P. S.: The distribution, life cycle, and predators of *Ephemera ignita* (Poda) in the river Endrick, Scotland. *Oikos* **16**, 48—57 (1965).
- Masaki, S.: The influence of temperature on the intensity of diapause in the eggs of the Emma field cricket (Orthoptera: Gryllidae). *Kontyu* **30**, 9—16 (1962).
- Mudra, A.: Statistische Methoden für landwirtschaftliche Versuche. Berlin-Hamburg: Paray 1958.
- Müller, H. J.: Probleme der Insektendiapause. *Verh. dtsch. zool. Ges.* **13**, 192—222 (1965).
- Müller, H. J.: Formen der Dormanz bei Insekten. *Nova Acta Leopoldina*, N.F. **35**, 7—27 (1970).
- Müller-Liebenau, I.: Eintagsfliegen aus der Eifel. *Gewässer und Abwässer* **27**, 55—79 (1960).
- Pleskot, G.: Die Periodizität einiger Ephemeropteren der Schwechat. *Wasser und Abwasser* 1—32 (1958).
- Pleskot, G.: Die Periodizität der Ephemeropterenfauna einiger österreichischer Fließgewässer. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **14**, 410—416 (1961).
- Thibault, M.: Le développement des Ephéméroptères d'un ruisseau a truites des Pyrénées-Atlantiques, le Lissuraga. *Ann. Limnol.* **7**, 53—120 (1971).
- Weber, E.: Grundriß der Biologischen Statistik. Jena: Fischer 1956.

Dr. H. W. Bohle
Fachbereich Biologie
Zoologisches Institut der Universität
D-3550 Marburg a. d. Lahn
Ketzertbach 63
Bundesrepublik Deutschland