

**Gonadenentwicklung und Eiproduktion dreier
Calanus-Arten (Copepoda): Freilandbeobachtungen,
Histologie und Experimente**

**Gonad development and egg production of three
Calanus species (Copepoda): Field observations,
histology and experiments**

Barbara Niehoff

**Ber. Polarforsch. 213 (1996)
ISSN 0176 - 5027**

Barbara Niehoff
Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung
Columbusstraße
D-27568 Bremerhaven

Die vorliegende Arbeit ist die inhaltlich unveränderte Fassung einer Dissertation, die dem Fachbereich 2 (Biologie/Chemie) der Universität Bremen im September 1995 vorgelegt wurde.

Inhaltsverzeichnis

	Danksagung.....	III
	Zusammenfassung.....	IV
	Summary.....	VI
1	Einleitung.....	1
2	Untersuchungsgebiet.....	4
2.1	Grönlandsee.....	4
2.2	Ostgrönlandpolynya.....	5
2.3	Grøtsund.....	6
3	Material und Methoden.....	9
3.1	Probennahme.....	9
3.1.1	Bongonetzfänge.....	9
3.1.2	WP II-Netz-Fänge.....	10
3.2	Bestimmung der Abundanz und Längenhäufigkeitsverteilung.....	11
3.3	Untersuchung der Gonaden.....	12
3.3.1	Gonadenreifezustands-Bestimmung.....	13
3.3.2	Präparation und Vermessung der Gonaden.....	14
3.4	Histologie.....	15
3.4.1	Herstellung der Präparate.....	15
3.4.1.1	Fixierung.....	16
3.4.1.2	Entwässerung und Einbettung.....	16
3.4.1.3	Anfertigung der Schnitte.....	18
3.4.2	Bearbeitung der histologischen Präparate.....	20
3.5	Experimente.....	22
3.5.1	Eiproduktion.....	22
3.5.1.1	Durchführung der Experimente.....	22
3.5.1.2	Berechnung der Eiproduktionsraten und Gelegegrößen.....	24
3.5.2	Nahrungsexperimente.....	25
3.5.2.1	Kurzfristige Hungerperioden.....	25
3.5.2.2	Langfristige Hungerperioden.....	26
3.5.3	Veränderung der Gonaden zwischen zwei Eiablagen.....	27
3.5.3.1	<i>Calanus finmarchicus</i> und <i>C. glacialis</i>	27
3.5.3.2	<i>Calanus hyperboreus</i>	28
3.6	Statistische Verfahren.....	29
4	Ergebnisse.....	33
4.1	<i>Calanus finmarchicus</i>	33
4.1.1	Oogenese und Entwicklungsstadien der Oocyten.....	33
4.1.2	Gonaden: Morphologie und Histologie während Entwicklung und Reproduktion.....	39
4.1.2.1	Gonadenentwicklung und Reifestadien.....	39
4.1.2.2	Verteilung der Oocyten in der Gonade.....	43
4.1.2.3	Vorgänge während der Eiproduktionsphase.....	45
4.1.3	Freilanduntersuchungen zur Reproduktion von <i>C. finmarchicus</i>	48
4.1.3.1	Abundanz.....	46
4.1.3.2	Entwicklung der Gonaden.....	51
4.1.3.3	Reproduktion.....	52
4.1.4	Abschätzung der Eiproduktion anhand fixierter Proben.....	56

4.1.4.1	Gonadenreifestadien und Eiproduktion	56
4.1.4.2	Abschätzung der Gelegegröße	58
4.1.5	Einfluß der Nahrungsbedingungen	60
4.1.5.1	Einfluß kurzzeitiger Hungerphasen auf die Reproduktion	60
4.1.5.2	Einfluß langzeitiger Hungerperioden auf die Reproduktion	64
4.2	<i>Calanus glacialis</i>	73
4.2.1	Morphologie	73
4.2.1.1	Morphologie der Oocyten	73
4.2.1.2	Morphologie der Gonaden	77
4.2.2	Reifungsprozeß der Oocyten zwischen zwei Eiablagen	79
4.2.3	Abschätzung der Gelegegröße	81
4.3	<i>Calanus hyperboreus</i>	83
4.3.1	Morphologie und Entwicklungsstadien der Gonaden	83
4.3.1.1	Aufbau und Reifestadien der Gonaden	83
4.3.1.2	Histologische Untersuchungen zur Gonadenentwicklung	85
4.3.2	Gonadenentwicklung im Labor	87
4.3.3	Eiproduktion	89
4.3.4	Abschätzung der Eiproduktion	91
5	Diskussion	94
5.1	Methodendiskussion	94
5.1.1	Histologische Arbeitsgänge	94
5.1.2	Untersuchung der Gonaden	96
5.1.2.1	Färbung der Gonaden	97
5.1.2.2	Lebendbeobachtung	97
5.1.3	Experimentelle Bestimmung der Eiproduktionsraten und der Gelegegrößen	98
5.2	Oocyten: Oogenese, Oocytenreifestadien und Vitellogenese	101
5.2.1	Oogenese und Oocytenreifestadien	101
5.2.2	Vitellogeneseprozesse	105
5.3	Gonaden: Aufbau, Entwicklung und Reifestadien	108
5.3.1	Aufbau der Gonaden und Verteilung der Oocyten	108
5.3.2	Entwicklung der Gonaden und Gonadenreifestadien	109
5.3.3	Gonadenreifestadien: Vitellogenese und Nahrungsversorgung	112
5.3.4	Vergleich der Gonadenschemata	115
5.4	Quantitative Vorhersage der Eiproduktion	119
5.5	Einfluß der Nahrungsverfügbarkeit auf die Reproduktion von <i>Calanus finmarchicus</i>	126
5.5.1	Reproduktion im Freiland	126
5.5.2	Einfluß des Gonadenreifestadiums auf den Beginn der Eiproduktion	127
5.5.3	Reproduktion bei unterschiedlichen Nahrungsbedingungen	129
5.5.4	Hungereffekt oder Seneszenz?	131
5.5.5	Nahrung und Gelegegröße	133
6	Abschlußdiskussion	135
7	Literatur	139
8	Anhang	150

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. W. Arntz für sein förderndes Interesse an meiner Arbeit, für die Durchsicht des Manuskripts und die aufmunternden Kommentare danken. Dr. H.-J. Hirche danke ich für die Betreuung dieser Arbeit, seine Unterstützung und die konstruktive Kritik in dieser Zeit. Er hat mir als "Binnenländerin" vor drei Jahren die Chance gegeben, Einblick in die Tiefen der Ozeane zu gewinnen und mir die Teilnahme an zwei faszinierenden Arktis-Expeditionen ermöglicht.

Bei Dr. T. Brey bedanke ich mich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung, die intensiven Diskussionen und die hilfreichen Korrekturen an meinem Manuskript. Vielen Dank auch an Dr. Claudio Richter für die Begutachtung dieser Arbeit und für seine konstruktive Kritik.

Dr. habil. T. Bartholomäus (Universität Göttingen, II. Zoologisches Institut) danke ich herzlich für seine Hilfe bei der Interpretation der histologischen Schnitte, für seine Diskussionsbereitschaft und seine wertvollen Anregungen. Frau R. Grahneis (Universität Göttingen) hat mich in die praktischen Methoden der Histologie eingewiesen, wofür ich mich bedanken möchte.

Für die hervorragende Zusammenarbeit mit der Besatzung und der wissenschaftlichen Crew der "Polarstern" bedanke ich mich sehr. Das gute Arbeitsklima und die "vielen Hände" halfen mir sehr bei den zahlreichen Probennahmen und den Experimenten an Bord.

Während meines Forschungsaufenthalts an der Marinbiologischen Station Tromsø hat mich vor allem Prof. K. S. Tande in allen praktischen und fachlichen Fragen unterstützt, wofür ich ihm danken möchte. Vielen Dank auch an G. Pederson, der mir meine vielen Fragen geduldig beantwortet hat. U. Norman war so freundlich, mir die hydrographischen Daten aus dem Untersuchungsgebiet zur Verfügung zu stellen. Bei H. Tøllefsen bedanke ich mich für die Bereitstellung der Algenkulturen.

Für die Unterstützung und Geduld bei allen technischen Fragen und Arbeiten, die in den letzten Jahren so zahlreich anfielen, danke ich Jan Wegner, Birgit Stroscher und Renate Thomzik ganz herzlich! Mein Dank gilt auch den HiWis, die mir manch nervtötende Arbeit abnahmen.

Außerdem bedanke ich mich herzlich bei Corinna Dahm und Katin Iken für ihre Unterstützung und Freundschaft in allen Lebenslagen. Mein Dank gilt Tatjana Bruns, Sandra Jaklin, Till Scherzinger und Switgard Düstherloh und vor allem Axel Schweizer für ihre Hilfe. Ich bedanke mich auch bei meinen Eltern für ihre Unterstützung.

Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Reproduktionsbiologie der drei dominanten Copepodenarten der Arktis *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* und *C. hyperboreus*. Im Mittelpunkt standen die interne Organisation und Reifung der Gonaden und die Morphologie der Oocyten in unterschiedlichen Entwicklungsstadien. Den methodischen Schwerpunkt bildete die Kombination von lichtmikroskopischen Arbeiten, die eine histologische Aufarbeitung des Probenmaterials erforderte, mit der makroskopischen Untersuchung intakter, gefärbter Tiere. Die Reproduktion von *C. finmarchicus* wurde zusätzlich im Freiland und in Nahrungsexperimenten untersucht, um den Einfluß der Nahrungsbedingungen auf die Reproduktion zu klären. Das verwendete Probenmaterial stammt von zwei Arktis-Expeditionen der "Polarstern" aus den Monaten März bis April und Mai bis Juni 1993. Die Freilanduntersuchungen und die Nahrungsexperimente wurden im Rahmen eines dreimonatigen Forschungsaufenthalts an der Marinbiologischen Station Tromsø durchgeführt.

Die histologische Untersuchung der drei *Calanus*-Arten zeigte eine grundsätzlich gleiche Morphologie der Oocyten: Das Ovar ist in drei Zonen untergliedert, in denen die ersten Schritte der Eizellen-Entwicklung ablaufen. Die jungen Oocyten werden von der Wachstumszone aus in die Gonodukte abgegeben. Während der weiteren Reifung treten in den Oocyten Vesikel auf, die mit Dotter und Lipiden gefüllt sind. In diesem Entwicklungsstadium ist eine breite Follikelzellschicht um die Oocyten zu finden. Kurz vor der Eiablage lösen sich Nucleolus und Kernmembran auf, und die Chromosomen treten in die Metaphase der ersten Reifeteilung ein.

Die Ergebnisse der Untersuchung der Oocyten von *C. finmarchicus* ließen weitergehende Interpretationen über die physiologischen Prozesse der Oocytenentwicklung zu. So gibt es Hinweise darauf, daß in den jungen Oocyten die Vitellogenese 1, für die die endogene, langsame Dotterbildung charakteristisch ist, stattfindet. In den älteren Oocyten, die Vesikel enthalten, findet die Vitellogenese 2 statt, die durch exogene, schnelle Dotterbildung gekennzeichnet ist. Aufgrund der gleichen Morphologie der Oocyten der drei Arten ist es denkbar, daß diese Prozesse auch bei *C. glacialis* und *C. hyperboreus* ablaufen.

Die interne Organisation der Gonaden ist bei allen drei *Calanus*-Arten ebenfalls gleich. Prinzipiell befinden sich die jüngeren Oocyten dorsal in den Divertikeln und Ovidukten. Der Entwicklungszustand und die Größe der Eizellen nehmen in ventraler Richtung zu, so daß ventral immer die Schicht der am weitesten entwickelten Oocyten zu finden ist. Bei einer Eiablage werden die ventral liegenden reifen Oocyten abgegeben, und die nächste,

darüber liegende Schicht Oocyten nimmt die Reifung auf. Die Reifungsprozesse zwischen zwei Eiablagen erfolgen also immer synchron in einzelnen Oocytenschichten, was die Ablage von Eiern in Gelegen erklärt.

Bei *Calanus finmarchicus* und *C. hyperboreus* konnten die morphologischen Veränderungen der Gonaden während der Entwicklung verfolgt und in vier Gonadenreifestadien (GS 1 bis 4) unterteilt werden. Vom unreifen (GS 1) zum reifen Weibchen (GS 4) nahmen die Anzahl und der Reifegrad der Oocyten gleichzeitig in den Divertikeln und den Ovidukten zu. Die reifen Gonaden waren durch die Oocyten, die zahlreiche Vesikel enthielten, gekennzeichnet. Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Schema der Gonadenreifung wird ausführlich im Vergleich mit früher benutzten Schemata diskutiert.

Der Verlauf der Gonadenreife und die unterschiedlichen Reproduktionsstrategien der drei Arten lassen Rückschlüsse auf den Energiebedarf der Vitellogeneseprozesse zu. Zur Vitellogenese 1 nutzen alle Arten die körpereigenen Speicherstoffe. Die Vitellogenese 2 findet bei *C. finmarchicus* nur bei Nahrungsaufnahme statt, während die Vitellogenese 2 bei *C. glacialis* fakultativ und bei *C. hyperboreus* generell ohne Nahrung abläuft.

Durch die Kombination der histologischen Ergebnisse und der Klassifizierung der Entwicklungsstadien der Gonaden konnte eine Methode entwickelt werden, die die Abschätzung der Eiproduktionsrate an fixierten Tieren ermöglicht. Mit dem Gonaden-Index ($GI = \% GS 4$) läßt sich der Anteil der Weibchen in der Reproduktionsphase bestimmen. Die erwartete Gelegegröße kann durch die Anzahl reifender Oocyten in der Gonade ermittelt werden.

Die Freilanduntersuchungen und die Nahrungsexperimente mit *Calanus finmarchicus* zeigten, daß sich die Weibchen ohne Nahrungsaufnahme nur bis zum GS 3 entwickeln, daß aber schon geringe Phytoplanktonkonzentrationen ausreichen, um die endgültige Reifung und eine geringe Eiproduktion zu ermöglichen. Bei gutem Nahrungsangebot war die Frequenz der Eiablagen hoch, und die Gelege waren größer. Bei Hungerphasen degenerieren die Oocyten, und das Material wird wahrscheinlich resorbiert und dem Stoffwechsel zugeführt.

Die Reproduktion von *C. finmarchicus* ist generell eng an das Nahrungsvorkommen gekoppelt. Diese Art ist damit im Vergleich zu *C. glacialis* und *C. hyperboreus* weniger gut an die Nahrungsbedingungen in den polaren Gewässern angepaßt.

Summary

Summary

The present study aims at the reproductive biology of *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* and *C. hyperboreus*. Samples were taken on two expeditions of RV 'Polarstern' in 1993 (ARK IX/1 and 3). The reproduction of *C. finmarchicus* was studied in the field and in feeding experiments during the winter/spring transition in a North Norwegian fjord (Tromsø). Observations on whole stained animals (macroscopic) and histological methods (light microscopy) were combined to reveal the morphology and the internal organisation of the gonads and the maturation of oocytes.

The morphology of oocytes is similar in all three *Calanus*-species. This indicates that development is basically identical: three zones of different cell types form the ovary, where early development of the oocytes takes place. Young oocytes containing only yolk vesicles are spread from the growth zone into the diverticula and oviducts. During maturation, lipid vesicles occur, and a thick layer of follicle cells surrounds the oocytes. Prior to spawning, the nucleolus and the nuclear membrane dissolve; the chromosomes are situated on the equatorial plate of metaphase I.

The results suggest that young oocytes of *Calanus finmarchicus* are undergoing vitellogenesis 1 which is characterised by an endogenous and slow formation of yolk. Vitellogenesis 2 which is characterised by a rapid accumulation of yolk provided by an extraovarian source, takes place in advanced oocytes.

The internal morphology of the gonads is similar in all investigated species: young oocytes are situated dorsally in diverticles and oviducts. The oocytes increase in size and development stage towards the ventral part both in diverticula and oviducts. During spawning the ventrally situated oocytes are released and the adjacent dorsal layer begins final maturation. As a result of the simultaneous maturation of oocytes eggs are deposited as clutches.

In *Calanus finmarchicus* and *C. hyperboreus*, 4 gonad development stages (GS) were identified. The development from GS 1 (immature) to GS 4 (mature) is characterised by increasing number, size and development stage of the oocytes both in diverticula and oviducts. Oocytes containing numerous vesicles are typical for mature gonads.

Gonad development and reproductive strategy suggest that vitellogenesis 1 is supplied by internal energy stores. In *C. finmarchicus* vitellogenesis 2 only occurs while feeding. In *C. glacialis*, vitellogenesis 2 seems to be facultatively depended on food supply, while in *C. hyperboreus* it is independent of food.

Summary

Histological results and gonad development stages were combined to establish a method to predict egg production rate of *Calanus*-populations from preserved samples. The parameters required are the number of females spawning, the interval of clutch deposition, and the clutch size. The number of females ready to spawn within the minimum spawning interval characteristic for a given temperature was determined from the presence GS 4. Clutch size was determined from serial cuts of the gonads by counting the number of the oocyte stages to be released during the next spawning event .

Field observations and feeding experiments showed that female *Calanus finmarchicus* develop mature gonads already at low food concentrations. High food concentrations increase the frequency of spawning events and the clutch size. During starvation periods, oocytes dissolve and the material is presumably resorbed.

The reproduction of *Calanus finmarchicus* is strongly dependent on food supply. Nevertheless, the females are able to sustain starvation periods, and due to the optimal use of food for reproduction, they are adapted to the feeding conditions in high latitudes.

1 Einleitung

Die Copepoden gehören zu den individuenreichsten Tiergruppen der Erde (KÄSTNER 1993, MACKINTOSH 1937). Sie sind in fast allen Regionen der Weltmeere verbreitet und stellen bis zu 90% der Biomasse des Zooplanktons der oberen Wasserschichten (KÄSTNER 1993).

Im Nordpolarmeer dominieren die drei Copepodenarten *Calanus finmarchicus* (GUNNERUS), *C. glacialis* JASCHOV und *C. hyperboreus* KRØYER. Während *C. finmarchicus* als boreale Art mit atlantischem Wasser nordwärts transportiert wird (MARSHALL & ORR 1955, HOPKINS et al. 1984), bewohnen die beiden anderen Arten den polaren bzw. arktischen Wasserkörper (GRAINGER 1963, HOPKINS 1969, CONOVER 1988). Die *Calanus*-Arten sind die bedeutendsten herbivoren Konsumenten (SMITH et al. 1986) und die wichtigste Nahrungsressource für viele Konsumenten höherer trophischer Stufen wie z.B. die Fische (CONOVER & CORNER 1968, KANE 1984).

Da die herbivoren Copepoden direkt vom Phytoplankton abhängig sind, muß ihre Lebensweise an die saisonal stark wechselnden Nahrungsbedingungen der arktischen Gewässer angepaßt sein (NEMOTO & HARRISON 1981, CLARKE 1983). Die nahrungsarmen Wintermonate werden von den *Calanus*-Arten in einer Diapause in tieferen Wasserschichten überdauert (CONOVER 1988, HIRCHE 1989). Zu Beginn des Frühjahrs kehren sie in die Oberflächenschicht zurück und nutzen die Phytoplanktonblüte für das Wachstum, für den Aufbau der Lipidspeicher (LEE 1974) und für die Reproduktion.

Besonders aus der Reproduktionsbiologie lassen sich wichtige Rückschlüsse sowohl auf die Evolution verschiedener Arten als auch auf ihre Rolle im Ökosystem ziehen. Bei den hier untersuchten *Calanus*-Arten spiegeln z.B. unterschiedliche Reproduktionsstrategien die verschieden starke Kopplung des Lebenszyklus an die Phytoplanktonblüte wider. Während *C. finmarchicus* und *C. glacialis* nur bei gutem Nahrungsangebot hohe Eiproduktionsraten erreichen (z. B. MARSHALL & ORR 1955, HIRCHE & BOHRER 1987, DIEL 1991), verbraucht *C. hyperboreus* körpereigene Lipidreserven für die Reifung der Gonaden und beginnt in den Wintermonaten mit der Eiablage (CONOVER 1967, SMITH 1990, HIRCHE & NIEHOFF, im Druck). Im ökologischen Kontext ist die Reproduktion der Copepoden vor allem deswegen von Bedeutung, weil die Eiproduktionsrate nach BERGGREEN et al. (1988) als Maß für die Produktion der herbivoren Copepoden und damit für die Energiebilanz der gesamten Population dienen kann.

Einleitung

Die bisherigen Kenntnisse über die Reproduktionsbiologie der drei Arten stammen zumeist aus populationsdynamischen und experimentellen Arbeiten (z.B. HIRCHE 1990, TANDE et al. 1985, CONOVER 1962, 1967). Für das Verständnis der Physiologie und für die Modellierung der Reproduktion sind jedoch Informationen über die interne Organisation der Gonaden und die Prozesse bei der Reifung der Eizellen unbedingt notwendig. Die bisherigen Untersuchungen beschränken sich auf Arbeiten aus den 30er Jahren über die Oogenese (HILTON 1931) und die Gonadenmorphologie (LOWE 1935) von *Calanus finmarchicus*. Unter der Verwendung moderner Techniken untersuchten RAYMONT et al. (1974) elektronenmikroskopisch die Ultrastruktur junger Eizellen von *C. finmarchicus*. Bis heute liegt jedoch keine wirklich umfassende und detaillierte Analyse der Morphologie von Gonaden und Oocyten der drei Arten vor. Diese Lücke versucht die vorliegende Arbeit zu schließen. Da bislang nur die morphologischen Veränderungen der Gonaden, die von außen sichtbar sind, zur Klassifizierung von Gonadenreifestadien verwendet wurden (z.B. MARSHALL & ORR 1952a, RUNGE 1985a, 1987, TANDE & GRØNVIK 1983, SMITH 1990), wird außerdem erstmals für calanoide Copepoden der Gonadenreifezustand mit der Oocytenentwicklung in Verbindung gebracht. Ziel war es, durch die Kombination der Histologie mit der Klassifizierung der Gonaden gefärbter, intakter Tiere ein Schema der Gonadenreife zu entwickeln.

Die in situ-Eiproduktionsrate konnte bisher nur experimentell unmittelbar nach dem Fang bestimmt werden, was häufig methodische Probleme aufwirft. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher versucht, eine Methode zu entwickeln, die die Abschätzung der Eiproduktion anhand fixierter Proben ermöglicht.

Ziel dieser Arbeit ist es also, die Reproduktionsbiologie von *Calanus finmarchicus* im Detail zu untersuchen. Dabei steht die Beschreibung der Gonadenreifung und der Reproduktionsperiode der Tiere anhand von histologischen Untersuchungen im Vordergrund. Die beiden Arten *C. glacialis* und *C. hyperboreus* werden zu Vergleichszwecken herangezogen. Zusätzlich sollen Nahrungsexperimente mit *C. finmarchicus* den Einfluß der Nahrungsbedingungen auf die Morphologie der Gonaden und die Eiproduktion klären. Anhand von Ergebnissen dieser Arbeit und Daten aus der Literatur wird abschließend die Reproduktionsstrategie von *C. finmarchicus* diskutiert.

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit steht somit die Beantwortung folgender Fragen:

- Wie sind die Oocyten und die Gonaden aufgebaut, und wie verändern sie sich im Verlauf der Reifung?
- Wie sind die Gonaden der Weibchen in der Reproduktionsphase zu klassifizieren?

- Wie verändern sich die Gonaden während der Eiablage? Welche Reifungsprozesse finden zwischen zwei Eiablagen statt?
- Wie wirken sich die Nahrungsbedingungen auf die Morphologie der Gonaden von *C. finmarchicus* aus?

2 Untersuchungsgebiet

Die drei *Calanus*-Arten wurden entsprechend ihrer Verbreitungsschwerpunkte in unterschiedlichen Gebieten des Europäischen Nordmeers (Abb. 2.1-A) gefangen, die in diesem Kapitel vorgestellt werden.

2.1 Grönlandsee

Die Grönlandsee, wie die Norwegische See ein Randmeer des Atlantischen Ozeans (GIERLOFF-EMDEN 1980), wird im Norden durch die ca. 600 km breite Framstraße, im Osten durch Grönland, im Süden und Westen durch den Mohn-Rücken begrenzt (HOPKINS 1991). Sie besteht aus zwei Becken, dem nördlichen kleineren Boreasbecken mit 3200 m Wassertiefe und dem südlich gelegenen großen Becken mit bis zu 3600 m Wassertiefe, und dem Ostgrönland-Schelfgebiet. Im Süden ist der Ostgrönlandschelf etwa 50 km breit. Richtung Norden dehnt er sich aus und erreicht in der Framstraße seine maximale Ausdehnung von 280 km (PERRY 1986).

Aufgrund der unterschiedlichen Wassermassen beschreiben SWIFT & AAGAARD (1981) drei hydrographische Domänen in der Grönlandsee: die atlantische Domäne, die vom warmen, salzreichen Wasser (AW; $T > 3\text{ °C}$, $S > 34,9\text{ ‰}$) aus dem Nordatlantik geprägt wird, die polare Domäne unter dem Einfluß des kalten, salzarmen polaren Wassers (PW; $T < 0\text{ °C}$, $S < 34,4\text{ ‰}$) und die arktische Domäne, deren Wasserkörper durch Vermischung und Modifikation von PW und AW entstanden ist.

Die Wassermassen in der Grönlandsee setzen sich folgendermaßen zusammen: Im Westen werden durch den Ost-Grönland-Strom (EGC = East Greenland Current) PW und Eis aus dem Nordpolarmeer eingetragen (Abb. 2.1-B). AW gelangt über den Farøer-Shetlandkanal in die Norwegische See und wird als Atlantischer Strom (NAC = Norwegian Atlantic Current) nach Norden transportiert (HOPKINS 1991). Das AW fließt dann in der östlichen Grönlandsee mit dem Westspitzbergenstrom (West Spitsbergen Current = WSC) entlang der westlichen Küste Spitzbergens teilweise weiter nordwärts in das Nordpolarmeer (AAGAARD 1982). Bedingt durch die Bodentopographie zweigen zwischen 75 und 80 °N Teile des WSC nach Westen ab (QUADFASEL et al. 1987, GASCARD et al. 1988) und bilden den Atlantischen Rückstrom (Return Atlantic Current = RAC). Dieser unter dem EGC verlaufende Strom transportiert AW und durch Vermischung entstandenes Arktisches Zwischenwasser (Arctic Intermediate Water = ArIW, $T 0,5 - 3\text{ °C}$; $S > 34,7\text{ ‰}$) (PAQUETTE et al. 1985). Südlich von 74 °N wird ein Teil des RAC nach Osten gelenkt. WSC, EGC und RAC bilden den Grönlandseewirbel, dessen Zentrum im südlichen Becken der Grönlandsee liegt. Im Zentrum des

Grönlandseewirbels bestehen zwischen den vertikal geschichteten Wasserkörpern relativ geringe Unterschiede, was in manchen Wintern eine tiefe Konvektion ermöglicht.

Im Sommer (Probennahmesituation) bildet sich in der Grönlandsee durch Arktisches Oberflächenwasser (Greenland Arctic Surface Water = GArSW; T Gefrierpunkt bis 5 °C; S 34,7 - 34,9 ‰; HOPKINS 1991) eine Oberflächenschicht von ca. 20 bis 40 m. Darunter befindet sich eine Schicht Arktisches Zwischenwasser (Greenland Arctic Intermediate Water = GARiW, T < 2 °C; S 34,7 - 34,9 HOPKINS 1991). Unterhalb 2000 m findet sich das Tiefenwasser (Greenland Sea Deep Water = GSDW; T -1,25 °C; S 34,89 ‰; HOPKINS 1991). Jede Domäne ist durch eine spezielle Zooplanktongemeinschaft geringer Diversität mit einer dominanten *Calanus* -Art charakterisiert (AW *C. finmarchicus*, PW *C. glacialis*, GARiW *C. hyperboreus*).

Zum Zeitpunkt der Probennahme von *C. finmarchicus* im WSC (25.3.1993) betrug die Wassertemperatur an der Oberfläche bis in ca. 100 m Tiefe 1,5 °C und die Salinität 34,9 ‰. Unterhalb 100 m lag die Wassertemperatur bei ca. 3 °C und die Salinität bei 35,0 ‰ (MEINCKE et al. 1994). In der Grönlandsee (Probennahme am 12.4.1993) und in der Norwegensee (Probennahme 13.4.1993) war die Wassertemperatur bis in 500 m ca. 2,5 °C, die Salinität betrug 35,0 ‰ (MEINCKE et al. 1994).

C. hyperboreus wurde im Zentrum des Grönlandseewirbels am 1.8.1993 gefangen. Hier betrug die Wassertemperatur -1,03 °C und die Salinität 34,89 ‰ (BUDÉUS & SCHNEIDER 1994).

2.2 Ostgrönlandpolynya

Die Ostgrönlandpolynya (North East Water Polynya = NEW) liegt auf dem Ostgrönlandshelf nördlich von 79 °N. Die Polynya öffnet sich in den Monaten April bis Mai, vergrößert sich während der Frühjahrs- und Sommermonate und schließt sich wieder im September (PEDERSEN et al. 1993). Sie erreicht eine Öffnung von maximal 44.000 km² (WADHAMS 1981).

Die Bathymetrie der Polynya ist durch ein Grabensystem, das die Belgica-Bank umgibt, gekennzeichnet (BUDÉUS & SCHNEIDER 1995): Der Belgica-Graben im Süden (77 - 78 °N), ist 400-500 m tief, ca. 250 km lang und ca. 40 km breit. Der westliche Teil (70 - 80 N), der parallel zur ostgrönländischen Küste verlaufende Norske-Graben, ist bis zu 400 m tief. Der Westwind-Graben ist ca. 300 m tief und verläuft nordwestlich der Belgica Bank.

Die Wassermassen über dem Ostgrönlandshelf sind - vereinfacht - vertikal in zwei Schichten unterteilt (AAGAARD & COACHMAN 1968). Die oberste Schicht wird von PW gebildet und erreicht die maximale Dicke von ca. 140 m im Zentrum der Polynya

(BUDÉUS & SCHNEIDER 1995). Unterhalb des PW befindet sich Wasser mit höherer Temperatur und Salinität aus dem RAC. In den Gräben sind verschiedene Tiefenwassertypen zu finden, die alle atlantischen Ursprungs sind.

Im Zeitraum der Probennahmen von *C. glacialis* in der Polynya schwankte die Wassertemperatur zwischen - 1,5 und 0 °C, die Salinität lag zwischen 34,1 und 34,9 ‰.

2.3 Grøtsund

Der Grøtsund, ein subarktischer Fjord, liegt nordwestlich von Tromsø (Abb. 2.1-C). Die maximale Tiefe dieses Fjords, der ein großes Becken bildet, liegt bei 205 m. Über den Grøtsund liegen bislang nur wenige hydrographische Daten vor, während der benachbarte Balsfjord gut untersucht ist (EILERTSEN et al. 1981). TANDE & SLAGSTAD (1992) gehen jedoch davon aus, daß sich die physikalischen Bedingungen in etwa entsprechen. Allerdings steht der Wasserkörper im Grøtsund unter stärkerem ozeanischen Einfluß, da ein häufiger Wasseraustausch mit der Norwegischen See über den Ullsfjord im Norden und den Kvalsund im Westen erfolgt (TANDE & SLAGSTAD 1992, PEDERSEN pers. Mit.). Die Wassertemperatur schwankt in den Fjorden dieses Gebietes zwischen 1 und 7 °C, die Salinität zwischen 32,8 und 34,0 (TANDE & SLAGSTAD 1992). Der Grøtsund ist das ganze Jahr über eisfrei (PEDERSEN, pers. Mit.).

Für den Untersuchungszeitraum März bis Mai 1994 liegen hydrographische Daten aus dem Grøtsund von 5 Probennahmen vor (NORMAN, unveröffentlichte Daten). Während dieser Zeit lag die Wassertemperatur zwischen 2,4 und 4,6 °C und die Salinität zwischen 33,3 und 34,4 ‰ (Abb. 2.3). Die für die Fjorde ab Mai typische Schichtung des Wasserkörper in eine obere salzarme Schmelzwasserschicht und in eine tiefe salzreiche Wasserschicht (TANDE & SLAGSTAD 1992) wurde im Untersuchungszeitraum nicht beobachtet (NORMAN, unveröffentlichte Daten, Abb. 2.2). Die Chlorophyll-Konzentration stieg von 0,5 g m⁻³ (29.3.) auf maximal 7 g m⁻³ (25.4.) und sank bis Mitte Mai auf ca. 2 g m⁻³ ab.

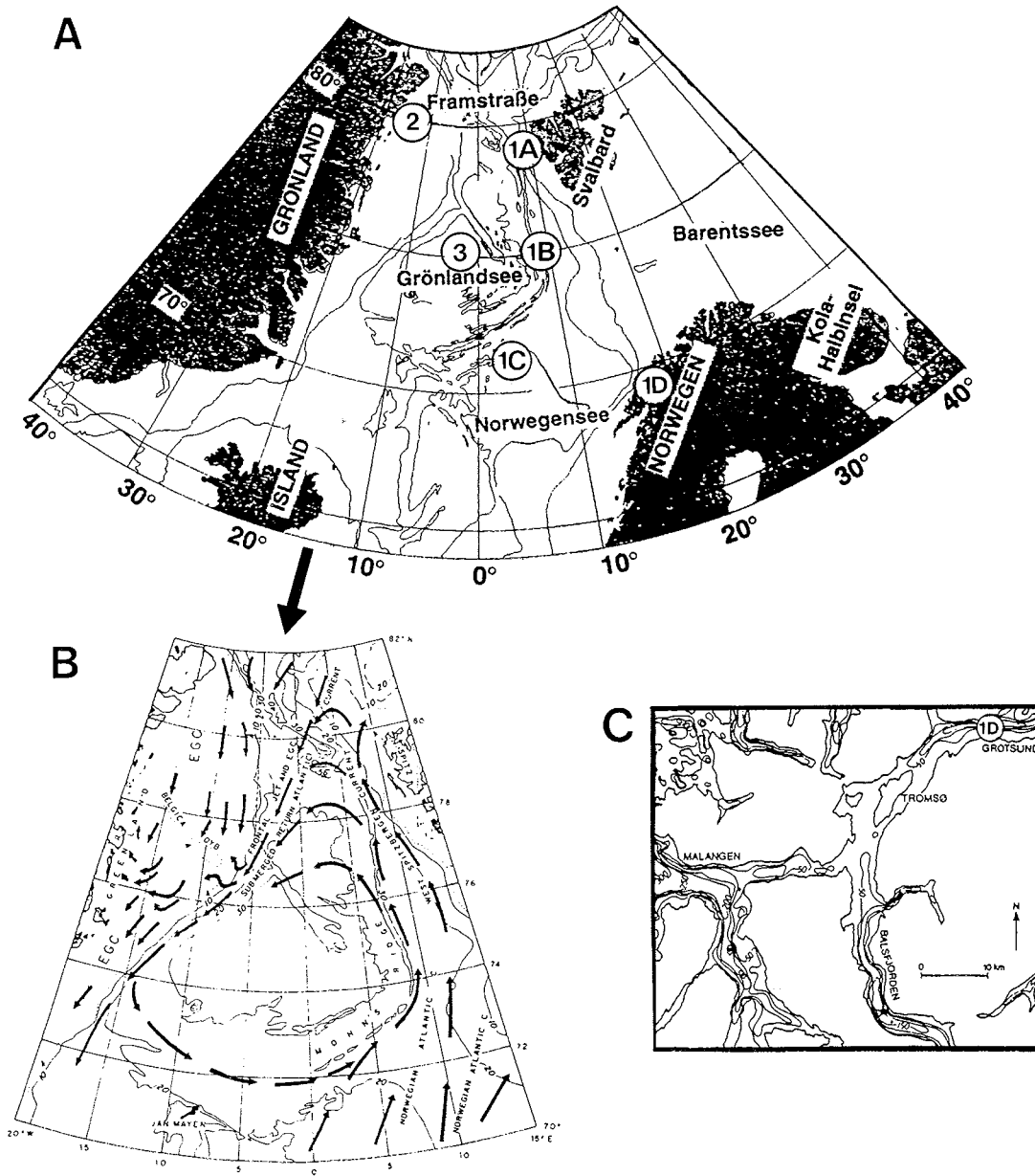


Abb. 2.1: Lage der Untersuchungsgebiete (Übersicht und Detail) und Darstellung der Stömungsverhältnisse in der Grönlandsee.

A: Übersicht über die Lage der Probennahmestationen. Die genauen Koordinaten sind Tab. 3.2. zu entnehmen. 1 = *C. finnarchicus* A-C Expedition (ARK IX 1b); D Forschungsaufenthalt Tromsø; 2 = *C. glacialis* Expedition (ARK IX 3) 3 = *C. hyperboreus* Expedition (ARK IX 3)

B Bodentopographie und Strömungen in der Grönlandsee (nach PAQUETTE et al. 1985)

C Probennahmestationen im Grøtsund (1D) und benachbarte Fjorde

Untersuchungsgebiet

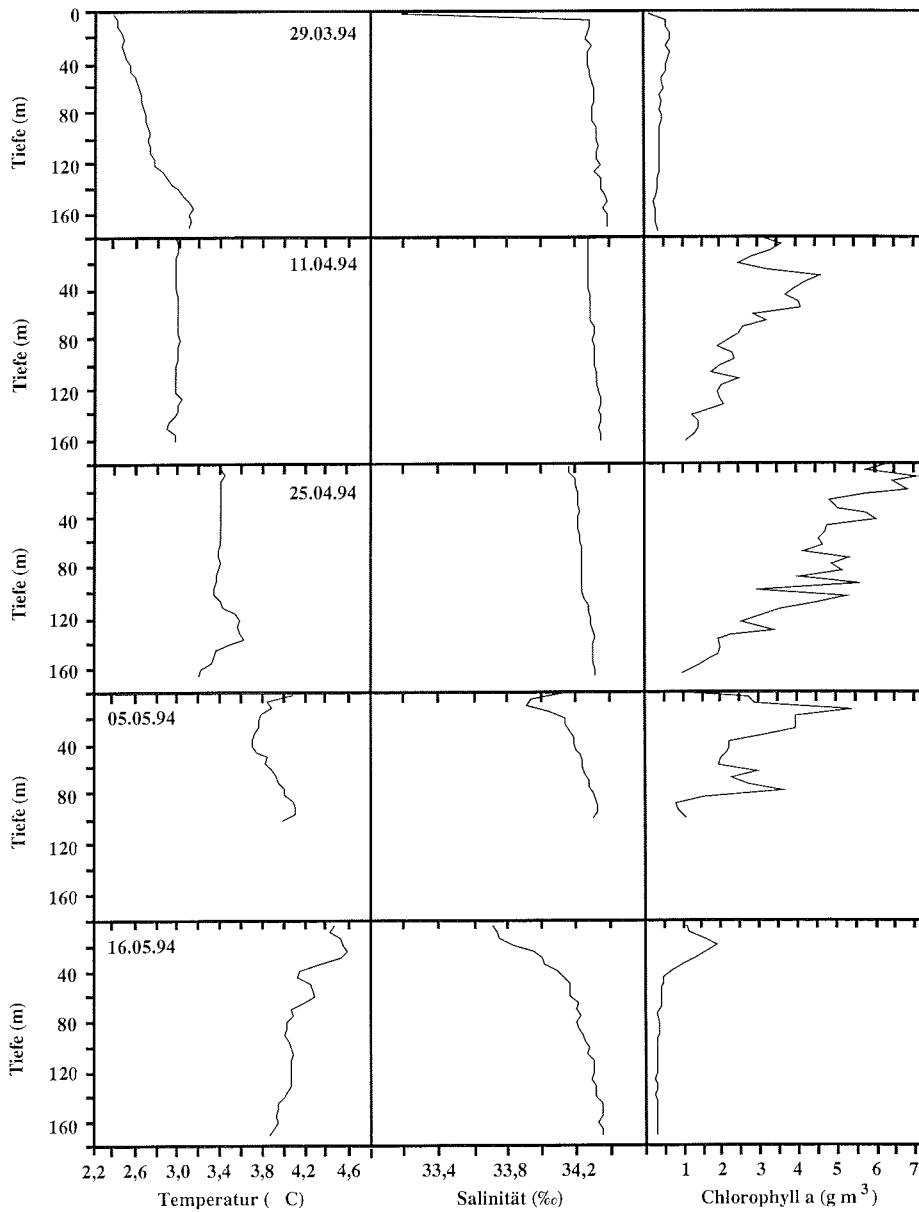


Abb. 2.2: Temperatur, Salinität und Chlorophyll *a* -Gehalt im Grøtsund an 5 Meßtagen im Untersuchungszeitraum von März bis Mai 1994 (NORMAN, unveröffentlichte Daten).

3 Material und Methoden

In diesem Kapitel werden zuerst die Methoden der Probennahme und der Abundanzbestimmung beschrieben. Anschließend werden die Untersuchung der Gonaden und die histologischen Methoden dargestellt. Außerdem werden die verschiedenen Experimente erläutert. Da die drei *Calanus*-Arten mit z.T. unterschiedlichen methodischen Ansätzen bearbeitet wurden, schließt dieses Kapitel mit einer Übersicht der Arbeitsmethoden.

3.1 Probennahme

Entsprechend der Verbreitung der drei *Calanus*-Arten *C. finmarchicus*, *C. glacialis* und *C. hyperboreus* stammen die verwendeten Weibchen aus unterschiedlichen Wassermassen:

C. finmarchicus: atlantischer Wasserkörper - Norwegische See, Grøtsund (Tromsø);

C. glacialis: polarer Wasserkörper - Ostgrönlandpolynya

C. hyperboreus: arktischer Wasserkörper - Grönlandsee.

Die Copepoden wurden mit zwei unterschiedlichen Netzen gefangen, dem Bongonetz und dem WP II - Netz (Working-Project II - Netz (TRANTER 1974)).

3.1.1 Bongonetz-Fänge

Während zweier Arktis-Expeditionen des FS "Polarstern" im Frühjahr und Sommer 1993 (ARK XI/1b und ARK XI/3) wurden Weibchen der drei Arten für die Untersuchung der Gonaden und für die Lichtmikroskopie mit dem Bongonetz gesammelt. Eine Übersicht über die Stationen wird in Tab. 3.1 gegeben. Die vertikalen Hols erfolgten mit einer Hievgeschwindigkeit von $0,3 \text{ m s}^{-1}$ zwischen 100 und 200 m Tiefe bis zur Oberfläche. Der Bongonetzrahmen war mit 335 und 500 μm Gaze bespannt. Der Fang aus dem 335 μm Netz wurde für die Bestimmung der Abundanz und des Artenspektrums in 4%igem Formalin, gepuffert mit Hexamethylentetramin, fixiert. Die Auswertung dieser Proben hinsichtlich der Abundanzen und Biomassen erfolgte im Rahmen der Arbeitsgruppe (siehe dazu DÜSTERLOH 1994, HIRCHE, unveröffentlichte Daten). Aus dem 500 μm Netz wurden im Kühllabor (10 °C) die Weibchen bzw. die Copepodit-

Stadien V (CV) sofort nach dem Fang lebend aussortiert und in Experimenten eingesetzt (vergl. Kap. 3.5) oder für lichtmikroskopische Untersuchungen fixiert (vergl. Kap. 3.4).

Tab. 3.1 Stationsdaten der Bongonetzfänge. Die *C. glacialis*-Weibchen wurden an 12 benachbarten Stationen auf dem Ostgrönlandschelf gefangen, daher werden hier nur der Zeitraum der Probennahme und die ungefähre geographische Lage angegeben. St. = Stationsnummer.

Art	Expedition	St.	Datum	Breite	Länge	Fangintervall
<i>C. finmarchicus</i>	ARK IX/1b	9	25.3.93	79°02' N	08°48' O	200-0 m
"	ARK IX/1b	69	11.4.93	75°00' N	08°10' O	100-0 m
"	ARK IX/1b	70	12.4.93	71°00' N	04°00' O	100-0 m
<i>C. glacialis</i>	ARK IX/3		15.- 20.7.93	ca.80°00' N	ca.12°00' W	100-0 m
<i>C. hyperboreus</i>	ARK IX/3	279	1.8.93	75°00' N	03°00' W	1500-0 m

3.1.2 WP II-Netz-Fänge

Die Gonadenentwicklung und Eiproduktion von *Calanus finmarchicus*-Weibchen wurden während eines Forschungsaufenthaltes an der Marinbiologischen Station Tromsø (MBS) von März bis Mai 1994 detailliert untersucht.

Mit dem Forschungskutter "Hyas" der Universität Tromsø wurde einmal wöchentlich die tiefste Stelle des Grøtsund (Lottiefe 205 m; 69°48'N 19°24'O) angefahren. Die Probennahmetermine sind in Tab. 3.2 angegeben.

Der Fang der Tiere erfolgte mit einem WP II-Netz (Fläche 0,53 m²), bespannt mit 150 µm Gaze, in vertikalen Hols von 200 m Tiefe bis zur Oberfläche bei einer Hievgeschwindigkeit von 0,2 - 0,3 m s⁻¹. Der erste Fang wurde in 4%igem Formalin, gepuffert mit Hexamethylenetetramin, fixiert; der zweite Fang wurde mit Seewasser verdünnt und innerhalb von 1,5 bis 2 h zur MBS gebracht und aussortiert. Unter einem Binokular (WILD M5) wurde bei 25-facher Vergrößerung überprüft, ob die Weibchen vollständig intakt waren. Nur unbeschädigte Weibchen wurden für die Experimente oder histologischen Untersuchungen verwendet.

Tab. 3.2 Probennahmetermine zur Untersuchung der Reproduktionsbiologie von *C. finmarchicus* im Grøtsund (Nordnorwegen), Frühjahr 1994.

Probennahme	Datum
1	15.3.
2	21.3.
3	28.3.
4	5.4.
5	11.4.
6	19.4.
7	25.4.
8	3.5.
9	10.5.
10	19.5.

3.2 Bestimmung der Abundanz und Längenhäufigkeits-Verteilung

Aus den formolfixierten Proben der wöchentlichen Probennahmen im Grøtsund (vergl. Kap. 3.1.2) wurden unter einem Binokular (WILD M5) die Weibchen, Männchen und CV von *C. finmarchicus* aussortiert und gezählt. Da kein Durchflußmeßgerät ("flow-meter") zur Verfügung stand und daher das filtrierte Volumen nicht exakt bekannt war, wurde von einer 90 %igen Filtrationsleistung ausgegangen. Bei einer Öffnung des Netzes von 0,56 m² und der Fangtiefe von 200 m ergibt sich ein filtriertes Volumen von 100,8 m³. Mit diesem Wert wurden die Abundanzen auf 1m³ umgerechnet.

Mit einem Bildanalyse-system (VIDS) wurde unter dem Binokular die maximale Prosomalänge der einzelnen Copepoden bei 12,5 -facher Vergrößerung gemessen.

3.3 Untersuchung der Gonaden

Zum besseren Verständnis der Methoden und der Darstellung der Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen werde ich an dieser Stelle kurz den allgemeinen Aufbau der Gonaden, wie er von *Calanus finmarchicus* (LOWE 1935; Abb. 3.1) bekannt ist, darstellen:

In der Mitte des Thorax liegt dorsal das längliche Ovar, welches aus drei Zonen besteht (HILTON 1931), die anhand der Morphologie der Oocyten im Lichtmikroskop zu unterscheiden sind. Jede dieser drei Zonen ist durch den physiologischen Zustand der darin befindlichen Oocyten gekennzeichnet: In der ersten, hinten liegenden Zone finden mitotische Teilungen statt (Teilungszone). In der zweiten Zone, die sich nach vorne anschließt, treten die Eizellen in die Prophase I der Reifeteilung ein (Synapsiszone). In der dritten Zone beginnen die Oocyten zu wachsen (Wachstumszone) (HILTON 1931).

Vom vorderen Bereich des Ovars aus führen die Gonodukte als zwei Kanäle nach vorn in den Kopfbereich (der übliche Nomenklatur folgend als Divertikel bezeichnet) und zwei weitere Kanäle (Ovidukte) lateral nach hinten. In dieser Arbeit werde ich zusätzlich den Begriff "Gonodukte" (Gonadengänge) verwenden, der die Divertikel und die Ovidukte umfaßt. Die Ovidukte münden in die unpaare Geschlechtsöffnung im ersten Abdominalsegment, in dem sich auch die Spermatheke befindet (HILTON 1931, LOWE 1935).

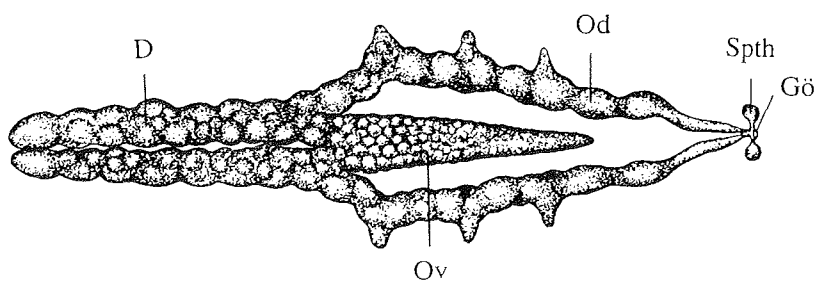


Abb. 3.2: Dorsalansicht der weiblichen Gonade von *C. finmarchicus*. D = Divertikel, Ov = Ovar, Od = Ovidukt, Spth = Spermatheke, Gö = Geschlechtsöffnung (aus LOWE 1935).

3.3.1 Gonadenreifezustands-Bestimmung

Die formolfixierten *Calanus*-Weibchen der drei Arten wurden mit 2%igem Methylboraxkamin in Alkohol (ROMEIS 1968) überfärbt und danach in mit HCl angesäuertem 70%igen Alkohol differenziert (langsam entfärbt), bis sich die dunkelrot angefärbten Gonaden deutlich vom umgebenden Gewebe absetzten. Die Dauer der Färbung variierte bei den verschiedenen Proben zwischen 3 und 12 Stunden. Je nach der Intensität der Färbung betrug die nachfolgende Differenzierungszeit 24 bis 48 Stunden. Danach wurden die Weibchen in einer aufsteigenden Alkoholreihe (80, 90, 95%ig für jeweils 20 Minuten) entwässert und für die Klärung der Gewebe in Glycerin überführt.

Die Morphologie der Gonaden und der Oocyten wurde anschließend unter dem Binokular bei 25-facher Vergrößerung untersucht und beschrieben mit dem Ziel, ein Klassifizierungsschema zum Gonadenreifezustand zu erstellen.

Freilanduntersuchungen liegen für *C. finmarchicus* während der Frühjahrsmonate März bis Mai 1994 im Grøtsund vor. Dazu wurden in ca. wöchentlichen Abständen Proben genommen (siehe Tab. 3.2), die Gonaden angefärbt und untersucht.

An *C. hyperboreus* ließ durch die Beobachtung lebender Weibchen die Entwicklung der Gonaden im Labor verfolgen. *C. hyperboreus* ist mit bis zu 9 mm Prosomalänge die größte der drei Arten, die Gonaden sind durch die Chitinhülle hindurch gut im lebenden Tier zu erkennen. Zur Untersuchung der Reifung der Gonaden wurden im August 1993 (ARK IX/3) 36 Weibchen gefangen und im Kühlraum bei 0°C über mehrere Monate (18.8.1993 bis 28.2.1994) gehältert (Beschreibung der Hälterungsbedingungen in Kap. 3.5.1.1). In mindestens monatlichen Abständen wurde die Morphologie der Gonaden der lebenden Weibchen beschrieben und daraus ein Schema zur Klassifizierung des Reifegrades erarbeitet. Zusätzlich wurden 60 Weibchen in unterschiedlichen Entwicklungsstadien fixiert. Bei 30 Weibchen wurden die Gonaden gefärbt, die anderen Weibchen wurden lichtmikroskopisch untersucht.

Für *C. glacialis* konnte ich kein Schema für die Entwicklung der Gonaden erarbeiten, da diese Art zum Zeitpunkt der Expeditionen (ARK IX/2 und IX/3) schon reproduktionsbereit war. Alle untersuchten Weibchen wurden als reif klassifiziert.

3.3.2 Präparation und Vermessung der Gonaden

Aus einem Teil der gefärbten Weibchen der drei Arten wurden mit Hilfe eines augenchirurgischen Bestecks die Gonaden herauspräpariert. Dazu wurde zuerst mit einem diagonal verlaufenden Schnitt der Kopf samt den Antennen und den Mundwerkzeugen abgetrennt und dann der Körper links und rechts der Extremitäten geöffnet. So ließ sich die Unterseite des Tieres in einem Stück abheben. Nach Entfernen des Darmes und der Dorsoventralmuskulatur lag beim dem auf dem Rücken liegenden Tier die Gonade offen und ließ sich mit Hilfe von Minutiennadeln herauslösen.

Unter einem Binokular wurden die Gonaden mit einem Bildanalysesystem (VIDS) vermessen (Abb. 3.2).

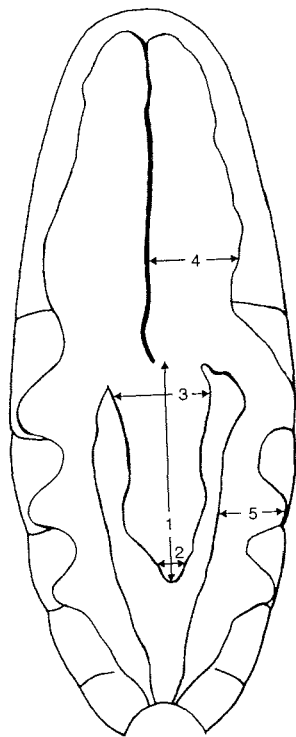


Abb. 3.2: Schematische Darstellung der Gonade von *Calanus* spp. Die Linien kennzeichnen die Meßstrecken: 1 = Länge des Ovars, 2 = Breite der Teilungszone, 3 = Breite der Wachstumszone, 4 = Breite der Divertikel, 5 = Breite der Ovidukte.

3.4 Histologie

Für eine standardisierte Untersuchung vieler Individuen, wie sie in dieser Arbeit durchgeführt wurde, sollten folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

- Die verwendete Methode führt zu reproduzierbaren Ergebnissen.
- Die Chemikalien für die Fixier- und die Pufferlösungen sind leicht zu beschaffen, einfach zu verarbeiten und möglichst wenig giftig.
- Eine längerer Aufbewahrung der Proben im Puffer ist möglich.
- Die Einbettung erfolgt schnell und unter normalen Laborbedingungen (Raumtemperatur, Normaldruck).

Um die optimale Lösung für die problematische Fixierung und Einbettung der Tiere zu finden, wurden daher Voruntersuchungen an *Calanus finmarchicus* (ARK IX/1b) durchgeführt. Dazu wurden unterschiedliche Fixierlösungen (Bouin, Glutaraldehyd/Paraformaldehyd, Glutaraldehyd/Osmiumtetroxid, Formalin 5%, Glutaraldehyd, Lösung nach Krallinger, Dubrosq-Brasil (ROMEIS 1968)) bei unterschiedlich langen Einwirkzeiten getestet. Danach wurden die Tiere in verschiedenen Kunstharzen (Epon, Araldit und Technovit 7100) oder Paraffin eingebettet.

Die Voruntersuchungen haben gezeigt, daß für die Lichtmikroskopie eine Fixierung mit einem Glutaraldehyd/Paraformaldehyd-Gemisch nach KARNORVSKY (1965) mit nachfolgender Einbettung in den Kunstharz Technovit 7100, einem Methylacrylat, die besten Ergebnisse lieferte und für die Standarduntersuchungen der Morphologie der Oocyten geeignet war. Daher wird hier dieses Verfahren vorgestellt. Eine Zusammenfassung der Methoden zur Fixierung und Einbettung (inklusive Zeitangaben und Zusammensetzung der verwendeten Lösungen) gibt ein Schema am Ende dieses Kapitels (s. S. 17).

3.4.1 Herstellung der Präparate

Zur Anfertigung lichtmikroskopischer Schnittpräparate wurden die Weibchen oder CV der *Calanus*-Arten sofort nach dem Aussortieren aus den Fängen für die histologische Untersuchung vorbereitet. Je nach Versuch und Art wurden zwischen einem und zehn Tiere in ein Schnappdeckelglas (10 ml) überführt. Von den jeweiligen Lösungen wurde immer das ca. zwanzigfache Volumen des Gewebevolumens eingesetzt (ROMEIS 1989), um einen vollständigen Austausch der Flüssigkeiten zu garantieren. Zusätzlich wurden die Probengefäße auf einem Rotator bewegt. Außerdem wurde sichergestellt, daß die

Proben zu keinem Zeitpunkt trockenfielen, um Gewebeveränderungen zu vermeiden. Um Verunreinigungen zu vermeiden, wurden Einmal-Pipetten verwendet.

3.4.1.1 Fixierung

Zunächst wurden die Tiere für einige Minuten in 2,5%igem Glutaraldehyd, gepuffert mit 0,2 M Natriumkakodylat, vorfixiert. Dann wurden zur optimalen Infiltration Kopf und Extremitäten entfernt. Die Proben wurden danach in ein Fixiergemisch nach KARNORVSKY (1965), gepuffert mit einer 0,2 M Natriumkakodylat-Lösung, (Gebrauchskonzentration: 1,25% Glutaraldehyd und 1% Paraformaldehyd, Herstellung vergl. Schema) überführt. Die Fixierlösungen wurden wenige Stunden vor jedem Fixierungsdurchgang hergestellt. Die Tiere verblieben zwischen 3 Stunden (bei Zimmertemperatur) oder 12 Stunden (bei 4 °C) im Fixanz. Danach wurden die Proben mehrfach mit 0,1 M Natriumkakodylat-Puffer (eine Arsenat-Lösung) gespült und bis zur weiteren Aufbereitung z.T. bis zu 4 Wochen bei 4 °C im Kühlschrank im Puffer aufbewahrt. Die Qualität der Proben veränderte sich im Lauf dieser Zeit nicht. Natriumkakodylat hat bakteriozide und fungizide Eigenschaften und wirkt damit gleichzeitig als Puffer und als Konservierungsmittel. Daher wurde trotz der Giftigkeit der Pufferlösung nicht auf den Einsatz dieser Chemikalie verzichtet. Eine Alternative bei der histologischen Aufarbeitung wäre Phosphat-Puffer (BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH 1984, BLADES-ECKELBARGER & MARCUS 1992), aber hier müssen die Proben direkt nach Abschluß der Fixierung weiter bearbeitet werden.

3.4.1.2 Entwässerung und Einbettung

Um die Entwässerung des empfindlichen Gewebes der Gonaden möglichst schonend durchzuführen, wurden die Proben durch eine aufsteigende Alkoholreihe in 10% Schritten, beginnend mit 10%igem Ethanol, geführt (vergl. Schema). Nach insgesamt ca. 5 h befanden die Gewebe sich im 100%igem, unvergälltem Ethanol.

Die Einbettung des Gewebes erfolgte in einem Kunststoff (Technovit 7100) auf der Basis von Glykolmethacrylat. Dieser Kunststoff ist wenig viskos (GLAUERT 1975) und dringt daher gut in das fixierte Gewebe ein. Außerdem ist Glykolmethacrylat mit Wasser mischbar und reagiert daher nicht empfindlich auf Wasserreste, die bei einer unvollständigen Entwässerung im Gewebe verbleiben können.

Zur Präinfiltration des Einbettmediums verblieben die Proben für 2 h in einem Gemisch von Ethanol und Basislösung Technovit 7100 (Fa. Heraeus-Kulzer). Danach wurden die

Gewebe für ca. 24 Stunden in dem flüssigem Kunstharz, dem der Härter I (Dibenzolperoxid, 1% des Infiltrationsmediums) zugesetzt war, inkubiert und nach der Infiltration in spezielle Einbettungsformen aus Teflon überführt. Der dann zugesetzte Härter II (Barbitursäurederivat, 6,25% des Einbettmediums) löste die abschließende Polymerisation aus, so daß nach 2 - 6 Stunden die fertigen Blöcke entnommen werden konnten. Das Ansetzen der Kunstharz-Lösungen erfolgte in Plastikgefäßen, da in manchen Glasgefäßen eine vorzeitige Polymerisation induziert wurde. In Schnapdeckelgläsern wurde ein solcher Prozeß jedoch nicht beobachtet.

Die Teflon-Einbettungsformen haben den Vorteil, daß die Temperatur bei der Polymerisation nicht über 37°C steigt, da die durch den Polymerisationsvorgang entstehende Wärme abgeleitet wird. Die Präparate mußten aufgrund der starren Struktur der Formen mit einem speziellen Verfahren herausgelöst werden (Abb. 3.3): Auf den erstarrten Kunstharz wurde in eine Vertiefung der Einbettform eine dickflüssige Mischung (Technovit 3040 - Lösung und Pulver im Verhältnis 1:2) gegeben. Darauf wurden Plastik- (Histoblock-Träger, Fa. Heraeus-Kulzer) oder einfache Holzblöckchen gedrückt. Technovit 3040 verbindet beim Aushärten den Kunstharzblock und das Blöckchen miteinander. Die Blöckchen dienten dadurch als Halter, und das Präparat konnte nach 2-5 Min. entnommen werden.

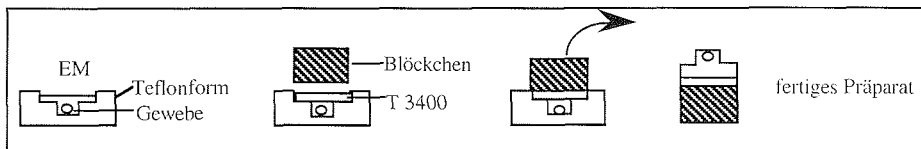


Abb. 3.3: Schematische Darstellung des Herauslöses der Kunstharz-Präparate aus Teflon-Einbettformen. EM = Einbettmedium (Technovit 7100), T 3040 = Technovit 3040

3.4.1.3 Anfertigung der Schnitte

Die Kunstharzblöcke mußten zur Pyramide getrimmt werden, bevor an einem halbautomatischen Mikrotom (Fa. Reichert, Autocut 2040) Serienschnitte mit Hilfe von Glasmessern hergestellt werden konnten. Die Glasmesser wurden mit einem Messerbrecher (KnifeMaker 7800B Fa. LKB Produkter AB) aus 25 mm dicken Glasstäben gebrochen. Zur Standarduntersuchung wurde in dieser Arbeit eine Schnittdicke von 5 µm gewählt, was einen guten Kompromiß bildet zwischen guter Lichtdurchlässigkeit und Schnelligkeit bei der Herstellung der Schnitte. Die fertigen Schnitte wurden zum Spreiten auf Wassertropfen auf einen Objektträger übertragen und bei 60-80°C getrocknet. Da die Serienschnitte auf den Objektträgern in kontinuierlicher Folge angeordnet wurden, konnten später Rekonstruktionen der Morphologie der Gonaden und Zählungen der Oocyten durchgeführt werden. Abschließend wurden die histologischen Schnitte mit Richardson Blue (RICHARDSON et al. 1960) oder mit Hämatoxylin/Eosin gefärbt und als Dauerpräparate in Malinol, einem Eindeckmedium (Kunstharz, Fa. Merk), eingeschlossen.

Übersicht über die histologischen Arbeitsgänge

Arbeitsgang	Dauer	Temperatur	Lösung	Rezept
Vorfixierung	5 - 10 min	Rt	100 ml 2,5% GA-Lösung ph = 7,4 -7,5	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> 10 ml 25 % GA + 40 ml H₂O dest + 50 ml 0,2 M NaK + 1-2 Tr. konz. HCl </div>
Entfernen der Antennen und Extremitäten				
Fixierung	3 h 12 - 16 h	Rt 4°C	100 ml 1,25% GA+1%PFA (nach Karnovsky 1965) ph= 7,4-7,6	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> 2 g PAF (Pulver) + 25 ml H₂O dest erhitzen auf 60 - 70 C° + 1 Tr. NaOH → PFA löst sich, Lösung wird klar Lösung abkühlen auf Zt + 5 ml 25% GA + 70 ml 0,2 M NaK </div>
Spülen	5 min 30 min 30 min	4°C 4°C 4°C	0,1 M NaK-Puffer 0,1 M NaK-Puffer 0,1 M NaK-Puffer	GA = Glutaraldehyd NaK = Natriumkakodylat PFA = Paraformaldehyd
Aufbewahrung	max. 4 Wochen	4°C	0,1 m NaK-Puffer	
Entwässerung	je 5 min je 10 min 20 min 40 min 90 min 30 min 3*30 min	Rt	10%, 20%, 30% Ethanol 40%, 50%, 60% Ethanol 70% Ethanol 80% Ethanol 90% Ethanol + Eosin 95% Ethanol 100% Ethanol (unvergällt)	
Präinfiltration	2 - 4 h		Präinfiltrationsmedium	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> 100% Ethanol+Basis T 7100 in Verhältnis 1:1 </div>
Infiltration	12-18h		Infiltrationsmedium	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> 100 ml Basis T 7100 + 1 g Dibenzolperoxid (Härter I) </div>
Einbettung			Einbettmedium (EM)	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> 15 ml Infiltrationsmedium + 1 ml Beschleuniger mit Barbitursäurederivat (Härter II) </div>
Aushärtung	2-6 h			
Herauslösen der Präparate				
Schneiden, Spreiten und Trocknen				
Färbung	30 min — Hämatoxylin/Eosin 10 min 1-2 sec 5 min 3*5 min — Richardson Blue 2-5 sec		Hämatoxylin nach Harris fließendes Leitungswasser H ₂ O dest Eosin/Phloxin-Lösung H ₂ O dest Richardson Färbelösung	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> 5 g Hämatoxylin + 37 ml Ethanol + 75 g Aluminium- Ammoniumsulfat + 2,5 g Quecksilberoxid + 750 ml H₂O erhitzen, dann abkühlen + 5 ml Eisessig </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> 100 ml 1% Eosin Y in H₂O + 10 ml 1% Phloxin B in H₂O + 780 ml Ethanol + 5 ml Eisessig </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> 50 ml 1% Methyleneblau in 1%iger Boraxlösung + 50 ml 1% Azur II in H₂O dest </div>

Die angegebenen Zeiten wurden bei *C. finmarchicus* verwendet, bei *C. glacialis* wurden die Zeiten ca. 1,5-mal, bei *C. hyperboreus* 2-mal so lang gewählt. Rt = Raumtemperatur.

3.4.2 Bearbeitung der histologischen Präparate

Unter einem Mikroskop (AXIOSKOP, Fa. Zeiss) wurde bei 25- bis 100-facher Vergrößerung der Entwicklungszustand der Oocyten auf zellulärer Ebene untersucht. Die Färbung, die Anordnung der Zellorganellen und die Kernkonfiguration wurden besonders berücksichtigt. Basierend auf den Ergebnissen wurde ein Schema zur Einteilung von Oocytenreifstadien erstellt.

Die Lichtmikroskopie wurde mit der Durchlicht-Interferenz-Kontrast-Methode (DIK-Methode) durchgeführt. Dieses mikroskopische Kontrastierungsverfahren erzeugt aufgrund der Änderung der optischen Länge (Produkt aus mechanischer Länge (Dicke des Objekts) und Brechungszahl) reliefartige Bilder, wobei die Objekte schräg beleuchtet erscheinen. Mit Hilfe dieses Verfahrens ließen sich mit Dottersubstanz oder Lipiden gefüllte Vesikel in den Oocyten unterscheiden: Bei einer Färbung mit Hämatoxylin/Eosin erscheinen die Dottervesikel rosa angefärbt, während die Lipidvesikel farblos sind. Das DIK-Verfahren verstärkt die optischen Unterschiede der Vesikel, da Lipide und Dottersubstanzen eine unterschiedliche Brechungszahl aufweisen. Die Lipidvesikel erscheinen bei optimaler Einstellung stärker erhoben als die Dottervesikel.

Die Oocyten wurden in den histologischen Schnitten vermessen: Da die Schnittdicke mit 5 μm geringer war als der Durchmesser der Oocyten und der kleineren Oogonien, wurde jede Eizelle mehrfach geschnitten, jedoch nur in einem dieser Schnitte war der Querschnitt optimal getroffen. Dies war zum einen an der maximalen Anschnittsfläche zu erkennen; zum anderen war der zentral in der Zelle liegende Nucleus mit Nucleolus ebenfalls in der Mitte getroffen (Abb. 3.4). Die Querschnittsfläche der Eizelle und ihr maximaler Durchmesser wurden in diesem Schnitt mit Hilfe des VIDS vermessen. Bei *Calanus finmarchicus* wurden bei insgesamt 24 Weibchen alle, und bei weiteren 25 nur die reifen Oocyten vermessen. Bei *C. glacialis* wurden jeweils 100 Oocyten der verschiedenen Entwicklungsstadien an insgesamt 25 Weibchen vermessen.

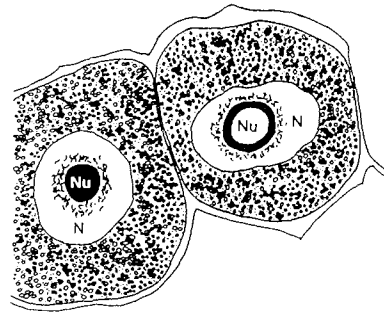


Abb. 3.4: Querschnitt der Oocyten im histologischen Schnitt. Rechte Oocyte = optimal in der Mitte geschnitten: Nucleolusanschnittsfläche groß, zentrale Nucleolusvakuole (hell) angeschnitten, linke Oocyten = peripher angeschnitten, Nucleolusanschnittsfläche klein, Nucleolusvakuole nicht sichtbar.

Der Vergleich der gemessenen Längen und Flächen zeigte, daß die Anschnittsfläche das genauere Maß für die Wachstumsvorgänge lieferte. Das ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Durchmesser stark variierten, wenn die Eizellen dicht gepackt in den Gonaden lagen und deshalb verformt waren. Zudem ergaben Zellen unterschiedlichen Reifungsgrades gleiche Durchmesser bei verschiedenen Anschnittsflächen, die Zuordnung zu höheren Reifungsgraden war anhand der Flächen exakter. Das Flächenmaß bot darüber hinaus den Vorteil, daß nur die maximale Anschnittsfläche durch den Bearbeiter ausgewählt werden mußte. Zur Bestimmung des Durchmessers mußten maximale Anschnittsfläche und maximaler Durchmesser subjektiv ermittelt werden, was den individuellen Fehler erhöht.

In einigen Weibchen wurde außerdem die Anzahl der am weitesten ausgereiften Oocyten bestimmt: Eine Oocyte wird aufgrund ihres Durchmessers mehrfach angeschnitten, erscheint also in vielen Schnitten. Die Oocyten sind deshalb schwer zu zählen. Die Nucleoli der reifen Oocyten dagegen werden bei einer Schnittdicke von 5 µm mit hoher Wahrscheinlichkeit nur einmal im Querschnitt optimal geschnitten, da sie einen Durchmesser von nur ca. 20 µm haben. Daher wurden in jedem 3. Schnitt nur die Nucleoli, die optimal in der Mitte getroffen waren (Abb. 3.4), d.h. Nucleoli mit maximaler Querschnittsfläche, gezählt. Gleiches gilt für die in den ablagebereiten Oocyten sichtbaren Chromosomen. Diese Methode sollte Mehrfachzählungen der Oocyten verhindern.

3.5 Experimente

3.5.1 Eiproduktion

3.5.1.1 Durchführung der Experimente

Aufgrund der unterschiedlichen Biologie der drei untersuchten *Calanus*-Arten mußten die Eiproduktionsraten mit verschiedenen Methoden erfaßt werden. In diesem Kapitel werden daher die Methoden für *C. finmarchicus*, *C. glacialis* und *C. hyperboreus* getrennt vorgestellt.

Calanus finmarchicus

Die Weibchen der wöchentlichen Probennahmen mit dem WP II-Netz (vergl. Kapitel 3.1.2) wurden bei 5 °C einzeln in Bechergläsern (250 ml) mit Plastikeinsätzen gehältert, deren Boden mit 300 µm Gaze verschlossen war (HIRCHE & BOHRER 1987). Die abgelegten Eier fielen durch die Maschen, so daß Weibchen und Eier getrennt waren und Ei-Kannibalismus verhindert wurde. Alle 24 Stunden wurde das Wasser über ein Sieb (70 µm) gefiltert und die darin zurückgehaltenen Eier unter dem Binokular gezählt. Da *Calanus finmarchicus* bei guten Nahrungsbedingungen hohe Eiproduktionsraten erreicht (z.B. MARSHALL & ORR 1955, HIRCHE 1990, DIEL 1991), wurde immer ein Teil der untersuchten Weibchen mit der Kieselalge *Thalassiosira antarctica* in Konzentrationen > 30 µg Chlorophyll l⁻¹ gefüttert. Um den Einfluß von Hungerperioden auf die Reproduktion zu untersuchen, wurde der andere Teil der Weibchen in gefiltertem (0,45 µm) Seewasser gehältert (vergl. auch Kap. 3.5.2).

Frühere Hälterungsexperimente bei 5 °C haben nachgewiesen, daß die Laborbedingungen innerhalb der ersten 24 h nach dem Fang keinen Einfluß auf die Eiproduktion haben (HIRCHE 1990). Daher galten die Eier, die innerhalb der ersten 24 h nach dem Fang abgelegt wurden, als in-situ Eiproduktion.

Calanus glacialis

Die Reproduktion von *C. glacialis* hängt ebenfalls von der Phytoplanktonversorgung ab (HIRCHE & BOHRER 1987, HIRCHE 1989), daher war auch für diese Art eine Hälterung unter optimalen Futterbedingungen vorgesehen. Da während der Experimente mit *C. glacialis* an Bord der "Polarstern" jedoch die als Futteralge vorgesehene Kultur von *Thalassiosira antarctica* abstarb und nicht zu ersetzen war, wurden die Versuche später im AWI durchgeführt. Zwischen dem Fang und dem Beginn der Versuche lagen also ca. 3 Wochen, in denen die Tiere nicht gefüttert werden konnten. Im AWI war noch

ein Restbestand der Futteralge vorhanden, dennoch reichten die verbliebenen Algen nicht aus, um in den üblichen 250 ml Bechergläsern hohe Konzentrationen herbeizuführen. Um die Tiere dennoch füttern zu können, mußte ich sie einzeln in Gewebe-Kulturschalen (3 ml) halten. Zweimal am Tag wurde den Tieren je 3 ml der verbliebenen Algenkultur (*T. antarctica*) zugesetzt. Einmal täglich wurde das Wasser gewechselt und die Eier unter dem Binokular (25-fache Vergrößerung) gezählt und entfernt.

Calanus hyperboreus

C. hyperboreus-Weibchen befinden sich in den Wintermonaten in größeren Wassertiefen und fressen dort wahrscheinlich nicht (CONOVER 1962, 1967). Da die Weibchen unter den natürlichen Bedingungen zu dieser Zeit körpereigene Speicherstoffe zum Aufbau der Gonaden und zur Eiablage nutzen, war keine Fütterung vorgesehen.

Die Methode der Hälterung über mehrere Monate sollte täglich eine schonende und schnelle Kontrolle der Morphologie der Gonaden und der Eiproduktion ermöglichen. Im Labor verhalten sich die Tiere weitgehend inaktiv und sinken in den Hälterungsgefäßen, unabhängig von deren Volumen, zu Boden (HIRCHE & NIEHOFF, im Druck). Darüber hinaus steigt ein Teil der abgelegten Eier zur Oberfläche, eine Hälterung in Bechergläsern mit Einsätzen kann daher Ei-Kannibalismus nicht verhindern. Aus diesen Gründen wurden die Weibchen einzeln in Gewebekulturschalen (3 ml) gehältert, die direkt unter das Binokular gestellt werden konnten; ein regelmäßiges Umsetzen der Weibchen entfiel also. Die Eier wurden täglich gezählt und entfernt; der Wasserwechsel erfolgte alle zwei Tage.

3.5.1.2 Berechnung der Eiproduktionsraten und Gelegegrößen

Die Eiproduktionsrate (EPR) gibt die Eiproduktion pro Weibchen und Zeiteinheit an. Zur Bestimmung der Eiproduktionsraten wurden die abgelegten Eier gezählt und die durchschnittliche Eiproduktion pro Weibchen und Tag anhand aller im Versuch eingesetzten Tiere ermittelt.

$$\text{mittlere tägliche Eiproduktionsrate (EPR)} = \frac{1}{n_w} \sum_{i=1}^{n_w} n_{\text{Eier}}$$

$i = 1, 2, 3, \dots, n_w$ n_w = Anzahl Weibchen

Außerdem wurde die durchschnittliche Größe der Gelege (GG) berechnet. Dazu wurden die Eier aller Gelege mit mehr als 8 Eiern, gezählt und durch die Anzahl Weibchen, die mehr als 8 Eier abgelegt hatten, geteilt. Kleinere Gelege wurden methodischen Fehlern zugeschrieben (HIRCHE & NIEHOFF, im Druck): Bei der Hälterung in Bechergläsern mit Einsätzen (*Calanus finmarchicus*) könnten zum einen die Tiere während eines Ablagevorganges gestört worden sein und die Eiablage daher nicht vollendet haben. Zum anderen ist es möglich, daß eine geringe Anzahl Eier zunächst im Einsatz hängen bleibt und erst bei der folgenden Kontrolle gezählt wird (pers. Beobachtung). Bei der Hälterung in Kulturschalen (*C. glacialis*, *C. hyperboreus*) kann Kannibalismus zur Dezimierung der Eier führen.

$$\text{mittlere Gelegegröße (GG)} = \frac{1}{n_w} \sum_{i=1}^{n_w} n_{\text{Eier} \geq 9}$$

n_w = Anzahl Weibchen, die mehr als 8 Eier gelegt haben.

Je nach Fragestellung wurden folgende weitere Parameter berechnet:

$$\text{MTGG (mittlere tägliche GG)} = \frac{1}{n_w} \sum_{i=1}^{n_w} \text{GG}_i$$

$$\text{MIGG (mittlere individuelle GG)} = \frac{1}{n_T} \sum_{j=1}^{n_T} \text{GG}_j$$

$$\text{GMGG (gesamte mittlere GG aller Weibchen bei mehreren Tagen Hälterung)} = \frac{1}{(n_w * n_T)} \sum_{i=1}^{n_w} \sum_{j=1}^{n_T} \text{GG}_{i,j}$$

GG = Gelegegröße

GG_{i,i} = GG von Weibchen_i am Tag j

n_T = Zahl der Untersuchungstage

3.5.2 Nahrungsexperimente

3.5.2.1 Kurzfristige Hungerperioden

Versuche zum Einfluß der Nahrungsbedingungen auf die Reproduktion wurden lediglich mit *Calanus finmarchicus* durchgeführt. Zur Untersuchung der Auswirkungen kurzer Hungerperioden auf die Eiproduktion und den Gonadenreifezustand wurden die Weibchen aus verschiedenen Probenahmen an der MBS unter Hunger- und Futterbedingungen über mehrere Tage bei 5°C im Kühlraum gehältert. Nach den Ausfahrten 5 und 6 konnten keine Experimente durchgeführt werden, da die Futteralgenkultur abgestorben war und neu angesetzt werden mußte. Als Futteralge diente die Diatomeen-Art *Thalassiosira antarctica*, die in Konzentrationen > 30 µg Chlorophyll l⁻¹ angeboten wurde. Die hungernden Tiere wurden in 0,45 µm gefiltertem Seewasser belassen. Zum Ende des jeweiligen Versuchsansatzes (Dauer zwischen 4 und 9 Tagen) wurden die Tiere für histologische Untersuchungen /oder zur Untersuchung der Gonaden fixiert. (Tab. 3.3)

Tab. 3.3: Übersicht über die Anzahl gefütterter und hungernder Weibchen von *C. finmarchicus* und die nachfolgende Bearbeitungsmethode. Angegeben wird die Anzahl Weibchen, die pro Versuchsansatz gefüttert bzw. nicht gefüttert und untersucht wurde. Tage= Hälterungsdauer, n_W GS = Anzahl Weibchen zur Bestimmung des Gonadenreifestadiums, die Daten der Probenahmen (P 1-10) sind in Tabelle 3.2. aufgeführt.

	Tage	Futter		Hunger	
		n W	n _W GS	n W	n _W GS
P 1	4	55	49	30	24
P 2	7	40	32	45	33
P 3	5	50	48	30	-
P 4	4	50	41	30	16
P 8	5	50	43	35	32
P 9	9	45	45	30	23
P 10	5	45	30	35	19

3.5.2.2 Langfristige Hungerperioden

Zusätzlich führte ich an der MBS zwei Langzeitversuche zum Einfluß längerfristiger Hungerperioden auf die Eiproduktion, den Gonadenreifezustand und die Morphologie der Oocyten durch, in deren Rahmen *Calanus finmarchicus*-Weibchen über drei Wochen beobachtet wurden. Dazu wurden jeweils ca. 80 hungrige und gefütterte Weibchen in 3 l Bechergläser mit Einsätzen gesetzt (ca. 25 Weibchen pro Versuchsgefäß). In Abständen von 4 bis 8 Tagen wurden Weibchen für die Analyse des Zustands der Gonaden (Stadieneinteilung und Präparation) und histologische Untersuchungen entnommen (Tab. 3.4).

Tab. 3.4: Versuch zum Einfluß längerer Hungerperioden auf die Morphologie der Gonaden von *C. finmarchicus*. Angegeben ist jeweils die Anzahl der Weibchen, deren Gonadenreifestadien bestimmt wurden (n_w GS), deren Gonaden präpariert und vermessen wurden (n_w Präp) oder die histologisch untersucht wurden (n_w Histo). V 1 = Versuch I, Beginn am 22.3.1994, Ende am 14.4.1994. V 2 = Versuch II, Beginn am 29.4.1994, Ende am 19.5.1994.

Versuch	Fixiert nach Labortagen	Futter			Hunger		
		n _w GS	n _w Präp	n _w Histo	n _w GS	n _w Präp	n _w Histo
V 1	4	14	7	5	12	8	5
	8	12	6	5	12	6	5
	16	12	5	5	14	6	5
	23	12	5	5	10	5	5
V 2	6	9	-	-	18	7	5
	14	9	8	5	10	5	5
	19	9	-	-	15	6	5
	23	-	-	-	10	8	5

3.5.3 Veränderungen der Gonaden zwischen zwei Eiablagen

Mit diesem Versuch sollten die Veränderungen in der Morphologie der Gonaden und der Reifung der Oocyten zwischen zwei Eiablagen erfaßt werden.

3.5.3.1 *Calanus finmarchicus* und *C. glacialis*

Die Versuche mit *Calanus finmarchicus* wurden an der MBS mit Weibchen aus der Probennahme 7 (vergl. Kap. 3.1.2) durchgeführt. Die *C. glacialis*-Weibchen wurden in der Ostgrönlandpolynya (ARK IX/3) gefangen und im AWI in die Experimente eingesetzt.

Eierlegende Weibchen von *C. finmarchicus* und *C. glacialis* wurden über mehrere Tage im Labor unter täglicher Kontrolle der Eiproduktion gehältert (vergl. Kap. 3.5.1). Die Weibchen mit regelmäßiger Eiproduktion wurden dann alle zwei Stunden (*C. finmarchicus*) bzw. alle sechs Stunden (*C. glacialis*) auf Eiablage hin überprüft. Jeweils circa 15 Weibchen wurden in Intervallen von mehreren Stunden nach der Eiablage fixiert. (Tab. 3.5). Ein Teil der Tiere wurde für die histologische Untersuchung verwendet. Die restlichen Weibchen wurden gefärbt, der Reifezustand bestimmt und die Gonaden herauspräpariert.

Tab. 3.5: Versuch zur Veränderung der Morphologie der Gonaden von *C. finmarchicus* und *C. glacialis* zwischen zwei Eiablagen. Angegeben ist jeweils die Anzahl der Weibchen, deren Gonadenreifestadien bestimmt wurden (nw GS), deren Gonaden präpariert und vermessen wurden (nw Präp) und die histologisch untersucht wurden (nw Histo). h Eiablage = Zeitpunkt der Fixierung nach der Eiablage in Stunden.

Art	h Eiablage	n _w GS	n _w Präp	n _w Histo
<i>C. finmarchicus</i>	0	9	9	5
	6	9	9	5
	12	8	8	6
	18	4	4	5
	24	7	7	3
<i>C. glacialis</i>	0	-	3	7
	24	-	7	4
	48	-	5	5
	72	-	3	5

3.5.3.2 *Calanus hyperboreus*

Bei *Calanus hyperboreus* sind die Gonaden durch die Chitinhülle der lebenden Tiere sichtbar. Daher konnten die Veränderungen der Gonaden zwischen den Eiablagen an lebenden Weibchen beobachtet werden. So wurde zwischen dem 3. und 21. Dezember 1993 bei insgesamt 68 eierlegenden Weibchen täglich die Morphologie der Gonaden unter dem Binokular untersucht.

Aufgrund der hohen Variabilität in den Intervallen zwischen den Eiablagen (4 bis 39 Tage) war eine Fixierung in bestimmten Intervallen nach der Eiablage nicht sinnvoll.

3.6 Statistische Verfahren

In diesem Kapitel werde ich kurz die statistische Bearbeitung der Daten darstellten. Für alle Arten und Fragestellungen wurden die selben Verfahren verwendet.

Kolmogorov-Smirnov-Test:

Mit diesem Test werden Unterschiede der Verteilungsfunktionen zweier unabhängiger Stichproben erfaßt (SACHS 1978, S. 228 ff.).

Nullhypothese: Die zwei miteinander zu vergleichenden Stichproben entstammen derselben Grundgesamtheit.

Mit diesem Test wurden die Verteilungen der Meßdaten der Oocytenflächen in Divertikeln und Ovidukten verglichen.

U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney:

Die mittleren Werte zweier unabhängiger Stichproben, die nicht normal verteilt sind, können mit diesem Test verglichen werden (SACHS 1978, S. 209 ff.). Dabei ist dieser Test Medianunterschieden gegenüber empfindlich.

Nullhypothese: Die mittleren Werte der miteinander zu vergleichenden Stichproben sind gleich.

Mit diesem Test wurden die mittleren Werte der Oocytenfläche in den Divertikeln und Ovidukten verglichen.

Varianzanalyse (ANOVA)

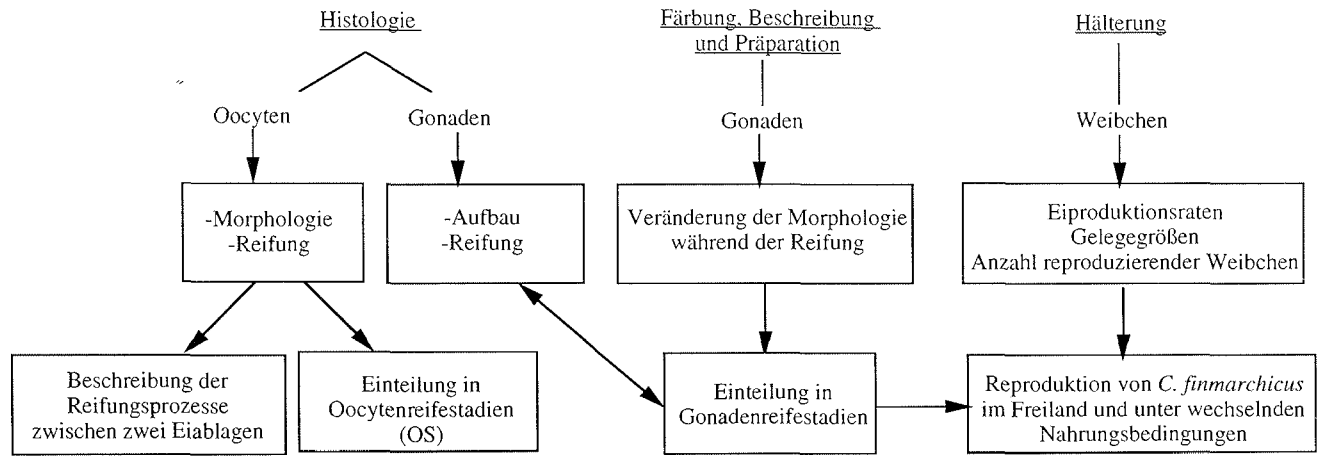
Mit Hilfe einer Varianzanalyse können beliebig viele Mittelwerte normalverteilter Grundgesamtheiten verglichen werden. Daher wurden mit einer ANOVA Datenreihen, die bei mehreren Probennahmeterminen erhoben wurden, getestet. So wurde der Einfluß des Zeitpunkts der Probennahme auf die Eiproduktionsrate und die Gelegegröße getestet. Außerdem wurde der Einfluß der Nahrungsbedingungen und der Laborhälterung überprüft.

Nullhypothese: Der untersuchte Faktor (Nahrung, Zeitpunkt der Probennahme, Dauer der Hälterung) hat keinen Einfluß auf den ermittelten Parameter (Eiproduktionsrate, Gelegegröße).

Ergab die Varianzanalyse einen signifikanten Einfluß einer Größe auf eine Probenserie, wurden mit dem Post-Hoc-Test nach Games-Howell die Mittelwerte der einzelnen Probennahmen oder Versuchsansätze gegeneinander auf signifikante Unterschiede getestet (95% Signifikanzniveau).

Nullhypothese: Die Meßwerte zweier Datenreihen unterscheiden sich nicht.

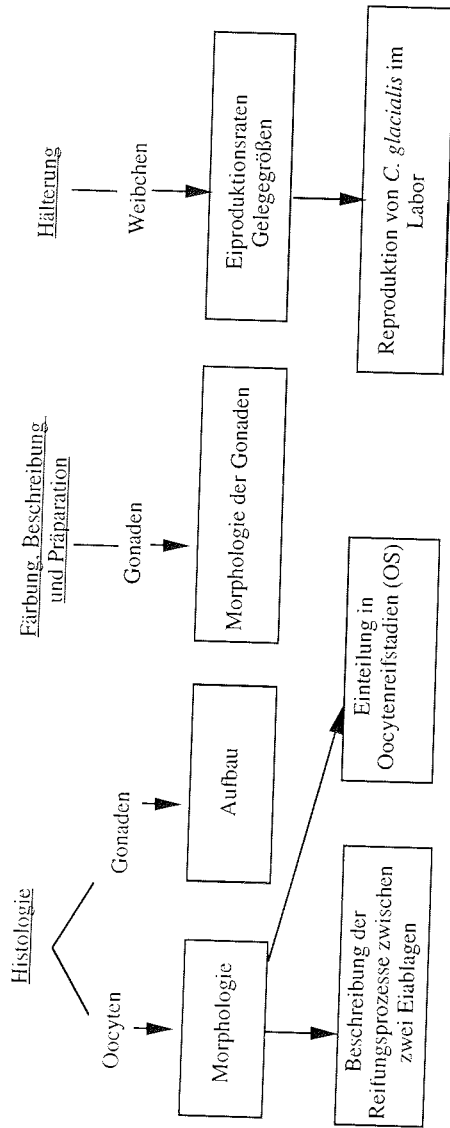
Calanus finmarchicus



30

Schematische Darstellung der Bearbeitung von *C. finmarchicus*. Das Diagramm zeigt die drei Methoden (unterstrichen) mit den entsprechenden Untersuchungsobjekten und Zielen (Kästen weiß und grau). Die Kombination der hier dargestellten methodischen Ansätze und deren Ergebnisse ermöglicht außerdem, eine Vorhersage der Eiproduktion zu treffen (vergl. Kapitel 4.1.6) und den Einfluß der Nahrungsversorgung auf die Reproduktion von *C. finmarchicus* zu untersuchen (vergl. Kap. 3.5 und 4.1.6.).

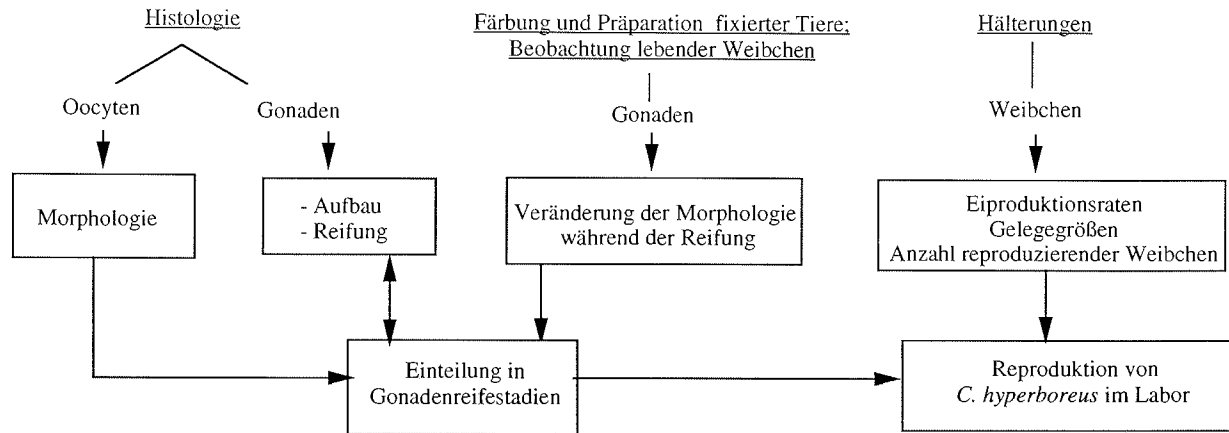
Calanus glacialis



Schematische Darstellung der Bearbeitung von *C. glacialis*. Das Diagramm zeigt die drei Methoden (unterstrichen) mit den entsprechenden Untersuchungsobjekten und Zielen (Kästen weiß und grau). Die Kombination der hier genannten methodischen Ansätze und deren Ergebnisse ermöglicht außerdem, eine Vorhersage der Gelegegröße zu treffen (vergl. Kap. 4.2.3).

Calanus hyperboreus

32



Schematische Darstellung der Bearbeitung von *C. hyperboreus*. Das Diagramm zeigt die drei Methoden (unterstrichen) mit den entsprechenden Untersuchungsobjekten und Zielen (Kästen weiß und grau). Die Kombination der hier dargestellten methodischen Ansätze und deren Ergebnisse ermöglicht außerdem, eine Vorhersage der Eiproduktion zu treffen (vergl. Kapitel 4.3.4).

4 Ergebnisse

4.1 *Calanus finmarchicus*

4.1.1 Oogenese und Entwicklungsstadien der Oocyten

Dieses Kapitel beschreibt die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen zur Oogenese von *Calanus finmarchicus*. Die Längen- und Breitenangaben zu den Ovarien wurden anhand von präparierten Gonaden ermittelt.

Die Oocyten durchliefen während der Oogenese morphologische Veränderungen, die in histologischen Schnitten im Lichtmikroskop deutlich sichtbar waren. Anhand bestimmter Charakteristika wie Form der Zellen, Morphologie des Ooplasmas und des Kernes, Auftreten von Dotter und Lipidvesikeln, habe ich die Oocyten in vier Entwicklungsstadien (OS) eingeteilt, die hier vorgestellt werden. Dabei wurden nur die Oocyten klassifiziert, die in den Divertikeln und Ovidukten der Gonaden zu finden waren. Eizellen, die ausschließlich im Ovar vertreten waren, wurden nicht in Betracht gezogen. Zusätzlich wird das Wachstum der Oocyten im Laufe ihrer Entwicklung dargestellt (Abb. 4.1). Hierzu habe ich die Daten der Flächenvermessung der Anschnitte der Eizellen verwendet (maximale Anschnittsfläche der Oocyte, vergl. Kap. 3.4.2). Die Durchmesser der Oocyten in den histologischen Präparaten erwiesen sich als sehr variabel und werden daher nur zur Beschreibung der Oocyten verwandt.

Die Ovarien veränderten sich auf lichtmikroskopischer Ebene durch die Entwicklungsstadien der Gonaden (CV bis zum reproduzierenden Weibchen) hindurch nicht und werden daher nur kurz beschrieben: Das Ovar ($631 \pm 153 \mu\text{m}$ lang) ließ sich anhand morphologisch unterschiedlicher Oocyten in drei Zonen gliedern: In der ersten, hinten liegenden Zone waren bei fast allen Weibchen mitotische Teilungsstadien unabhängig vom Entwicklungsstand der Gonaden nachzuweisen. Die Breite dieser Teilungszone ($112 \pm 124 \mu\text{m}$) blieb in allen Entwicklungsstadien der Gonaden gleich. Nach vorne folgte darauf eine zweite Zone, innerhalb derer die Zellen durch einen großen dunkel angefärbten Kern, umgeben von einem dünnen Film Ooplasma, gekennzeichnet waren. Daran schloß sich eine dritte Zone an, in der die Eizellen von hinten nach vorne deutlich an Größe zunahmten. Die durchschnittliche Breite dieser Wachstumszone wuchs von $197 \mu\text{m}$ (unreife Gonaden) auf $337 \mu\text{m}$ (reife Gonaden) an und wurde immer von mehreren Reihen und Schichten von Oocyten gebildet. Die Oocyten der Wachstumszone waren auch in Divertikeln und Ovidukten zu finden und sind daher als erstes Entwicklungsstadium beschrieben (siehe OS 1).

Ergebnisse

Oocyten im Oocytenstadium 1 (OS 1):

Der Durchmesser der OS 1 liegt bei $40\ \mu\text{m}$ ($\pm 15\ \mu\text{m}$), sie sind im Querschnitt achteckig. Im Zentrum befindet sich der Nucleus, der den größten Teil der Zelle ausfüllt (Fototafel I.A). Der Kern enthält einen zentralen Nucleolus und ist vollständig von der Kernmembran umschlossen. Die Kernmembran erscheint in der lichtmikroskopischen Ansicht mit DIK-Verfahren gegenüber dem umgebenden Zellmaterial deutlich erhoben. Außerhalb des Zellkernes liegen dunkel angefarbte Strukturen (dm). Verfolgt man die Entstehung dieser Strukturen, handelt es sich eventuell um Kernausschlüsse: Zu Beginn der Oogenese sind die Zellkerne der Oocyten mit der dunkel angefarbten Struktur angefüllt. Im Laufe der Entwicklung der Oocyten verringert sich ihre Menge in den Zellkernen, während sie in gleichem Maße im Ooplasma zunimmt. In jungen OS 1 konzentrieren sich Vesikel um den Kern, während sie bei reiferen OS 1 verstreut im Ooplasma liegen. Die Vesikel sind mit Dottermaterial gefüllt (vergl. Kap. 3.4). Mit zunehmender Größe der OS 1 nimmt die Anzahl der Dottervesikel zu.

Oocyten im Oocytenstadium 2 (OS 2):

Der Durchmesser der OS 2 liegt bei $66\ \mu\text{m}$ ($\pm 12\ \mu\text{m}$). Die Zellen sind oval. Kern und Nucleolus liegen zentral im Oo- bzw. Caryoplasma (Fototafel I.B). Durch cytoplasmatisches Wachstum bei gleichbleibender Größe des Kernes nimmt der Kern relativ weniger Raum in der Zelle ein als bei OS 1. Die Kernmembran umgibt den Kern vollständig. Um den Nucleolus ist Chromatin in fädiger Struktur sichtbar. In jungen OS 2 verteilen sich die dunkel angefarbten Strukturen im Ooplasma, in älteren OS 2 sind sie nicht mehr oder nur noch vereinzelt zu finden. Das Ooplasma wird von Dottervesikeln ausgefüllt. In diesem Stadium ließ sich bei manchen Oocyten eine schmale Follikelzellschicht nachweisen, die kleine Bereiche der Zelle umgab.

Oocyten im Oocytenstadium 3 (OS 3):

Innerhalb des Oocytenstadiums 3 wachsen die Eizellen relativ stark (Abb. 4.1). Die Oocyten sind im Querschnitt rund und der Durchmesser nimmt von $79\ \mu\text{m}$ ($\pm 14\ \mu\text{m}$, junge OS 3) auf $119\ \mu\text{m}$ ($\pm 64\ \mu\text{m}$, späte OS 3) zu.

In jungen OS 3 (Durchmesser $79\ \mu\text{m}$, $\pm 14\ \mu\text{m}$) liegt der Zellkern mit Nucleus im Zentrum (Fototafel I.C). Die Kernmembran beginnt, sich an einem Pol aufzulösen. Das Chromatin bildet dünne, knotige Fäden. Im Ooplasma tauchen kleine Vesikel auf, die nach Färbung und Erscheinungsbild im DIK-Verfahren mit Lipiden gefüllt waren (vergl. Kap. 3.4.2). Häufig treten die ersten Vesikel fleckenhaft verteilt im Ooplasma auf. Die jungen OS 3 sind fast vollständig von einer breiten Follikelzellschicht umgeben; innerhalb dieser Schicht lassen sich Vesikel erkennen, die denen im Ooplasma ähnlich sind (Fototafel I.D).

In fortgeschrittenen OS 3 (Durchmesser $113 \mu\text{m}$, $\pm 32 \mu\text{m}$) liegt der Kern mit Nucleus noch zentral, bildet aber meist lappenförmige Ausläufer. Teile der Kernmembran sind aufgelöst. Die Chromatinfäden kondensieren. Das Ooplasma wird vollständig von Vesikeln ausgefüllt, von denen die meisten Lipide, viele aber auch Dottersubstanz enthalten. Die Vesikel sind zunehmend größer. Die Follikelzellschicht ist schmal.

In späten OS 3 (Durchmesser $119 \pm 64 \mu\text{m}$) ist der Kern in die Peripherie der Oocyte gewandert, der Nucleolus beginnt sich aufzulösen. Die Kernmembran ist weitgehend verschwunden. Chromosomen werden deutlich als kurze Fäden oder Ringstrukturen sichtbar und konzentrieren sich um den Nucleolus bzw. dessen Fragmente (Fototafel I.E). Das Ooplasma ist mit Lipid- und Dottervesikeln angefüllt. Bei einigen Oocyten sind Einstülpungen der Eizellmembran in das Ooplasma zu erkennen (Fototafel I.F). Späte OS 3 waren nur selten in den Gonaden nachzuweisen. Das deutet darauf hin, daß die Entwicklung von OS 3 zu OS 4 sehr schnell verläuft.

Oocyten im Oocytenstadium 4 (OS 4):

Die OS 4 sind sehr unregelmäßig geformt, was die Vermessung in den Schnitten schwierig machte. Der Durchmesser liegt im Mittel bei $171 \mu\text{m}$ ($\pm 36 \mu\text{m}$). Die Kernmembran und der Nucleolus sind vollständig aufgelöst, ein Kern ist damit nicht mehr vorhanden (Fototafel II.B). Die Chromosomen liegen kondensiert auf der äquatorialen Ebene der Metaphase I der Reifeteilung im Ooplasma vor (Fototafel II.A). Sie befinden sich häufig in der Peripherie der Zelle. Das Ooplasma ist angefüllt mit Lipidvesikeln und großen Dotterschollen. In diesem Stadium der Oocyten erfolgt die Eiablage. Während und kurz nach der Eiablage verbleiben die Chromosomen in der Metaphase I. In seltenen Fällen ist die erste Reifeteilung abgeschlossen und ein Polkörperchen ausgebildet.

Zwischen den hier dargestellten Entwicklungsstadien der Oocyten waren immer Übergangsstadien in den Gonaden zu finden. Insbesondere war es schwierig, OS 1 gegen OS 2 abzugrenzen, da sich die Oocyten kontinuierlich verändern, z.B. steigende Anzahl Dottervesikel und die Dispersion der "dunkel gefärbten Strukturen". Dagegen war OS 3 durch die auftretenden Vesikel klar von den jüngeren Stadien zu unterscheiden. Charakteristische Übergänge fand ich zwischen den OS 3 und OS 4. In solchen Übergangsstadien war der Nucleolus nicht mehr zu erkennen und die Kernmembran aufgelöst, die Metaphasekonfiguration der Chromosomen jedoch noch nicht eingenommen.

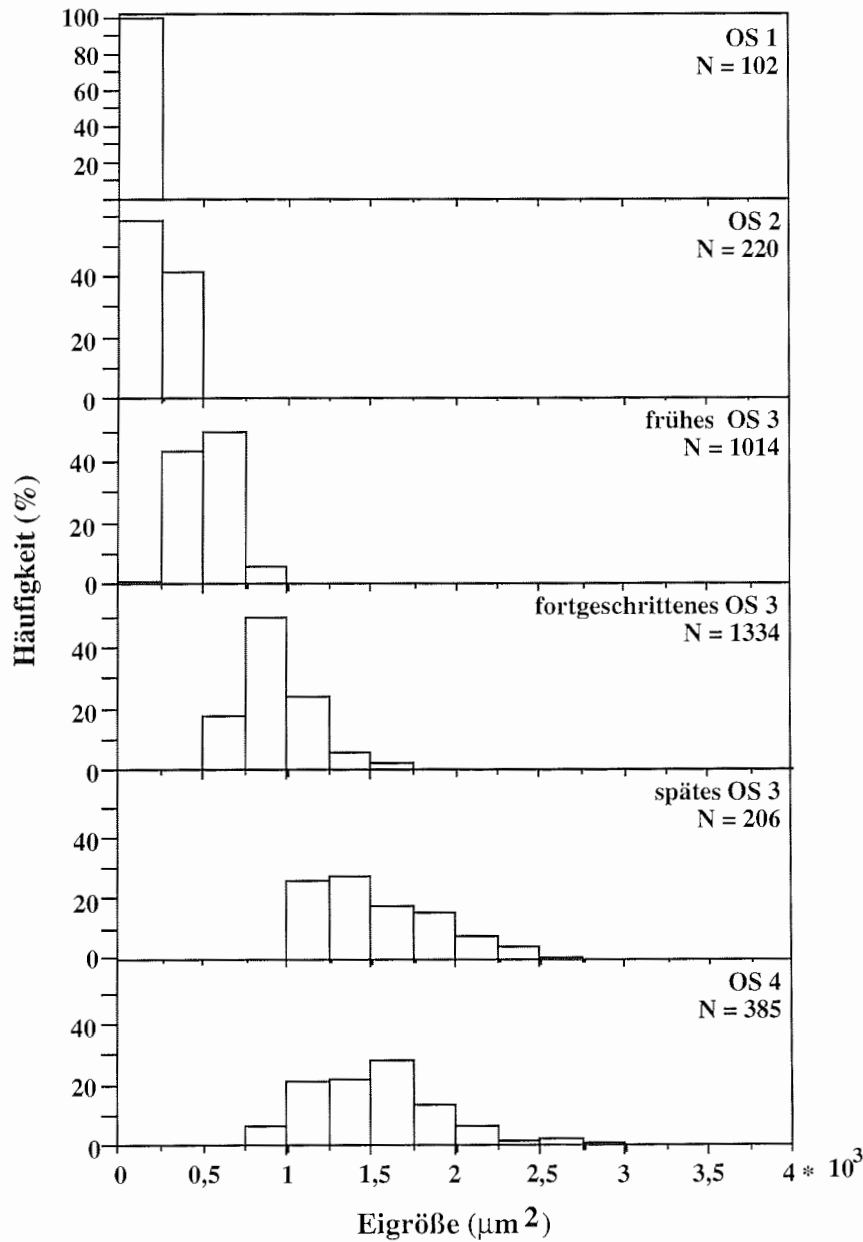
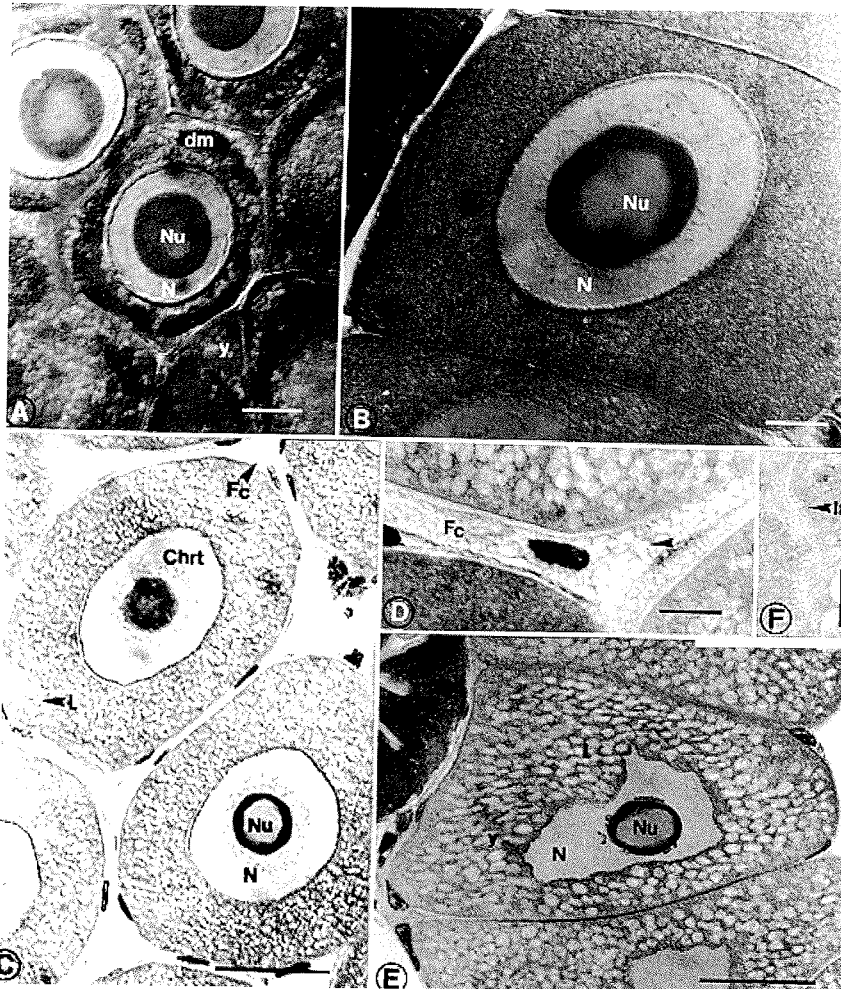
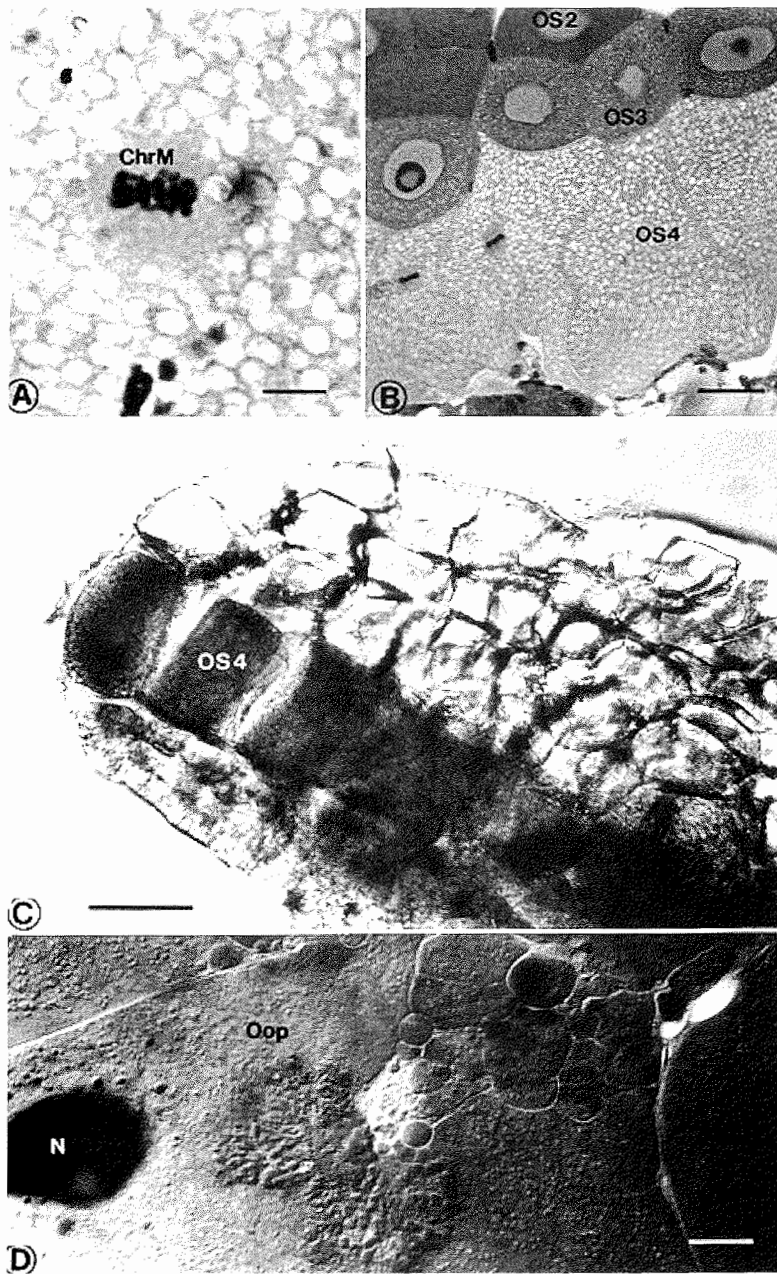


Abb. 4.1: Größenhäufigkeits-Verteilungen der Oocyten von *C. finmarchicus* in unterschiedlichen Entwicklungsstadien (OS). Aufgetragen wurde die maximale Querschnittsfläche der Oocyten in histologischen Schnitten als Maß für die Eigröße, die Skalierung der y-Achse wurde den Werten entsprechend unterschiedlich gewählt. N = Anzahl der Messungen.



Fototafel I: Oocytenreifstadien von *C. finmarchicus* A: OS 1; B: OS 2; C: junges OS 3; D: Follikelzellschicht mit Vesikeln (schwarzer Pfeil) (OS 3); E: spätes OS 3; F: Einstülpungen in das Ooplasma (spätes OS 3). N = Nucleus, Nu = Nucleolus, dm = dunkel angefärbte Struktur, Fc, Follikelzellschicht, y = Dottervesikel, L = Lipidvesikel, Chrt = Chromatin, In = Einstülpung. Maßstäbe: A, B, D, F = 10 µm; C, E = 50 µm.



Fototafel II: Oocytenreifstadien und Gonadenansicht von *C. finmarchicus* A: OS 4, Chromosomen auf der Äquatorialebene der Metaphase I; B: Längsschnitt durch einen Divertikel, dorsal liegen OS 2, ventral OS 4; C Divertikel einer präparierten Gonade, junge Oocyten dorsal, OS 4 ventral; D: degenerierte Oocyte. N = Nucleus, Nu = Nucleolus, ChrM = Metaphase-Chromosomen Ooplasma, OS = Oocytenreifstadium. Maßstäbe: A, D = 10 µm; B = 50 µm; C = 100 µm.

4.1.2 Gonaden: Morphologie und Histologie während Entwicklung und Reproduktion

4.1.2.1 Gonadenentwicklung und Reifestadien

In ihrer Entwicklung durchlaufen die Gonaden verschiedene Stadien, die gut an fixierten Tieren klassifiziert werden können. Die makroskopische Untersuchung der Weibchen von *Calanus finmarchicus* in unterschiedlichen Entwicklungsstadien zeigte, daß dabei die morphologischen Veränderungen der Gonaden durch die Ansammlung und Reifung von Oocyten in den Divertikeln und Ovidukten bestimmt wurden, während die Ovarien sich nicht wesentlich veränderten (vergl. auch Kap. 4.1.1). Daher benutzte ich Anzahl, Lage und Erscheinungsbild der Oocyten in den Gonodukten der mit Boraxkarmin gefärbten Weibchen, um die Entwicklung der Gonaden zu beschreiben und mit folgendem Schema Gonadenreifestadien (GS) zu klassifizieren:

GS 1	keine Oocyten in Divertikeln und Ovidukten sichtbar, eventuell sind die Ansätze am Ovar mit kleinen Oocyten gefüllt
GS 2	eine Reihe kleiner, dunkelrot gefärbter Oocyten ist über die gesamte Länge der Divertikel und Ovidukte sichtbar
GS 3	mehrere Reihen kleiner, dunkelrot angefarbter Oocyten sind in Divertikeln und Ovidukten sichtbar
GS 4	große, hellrosa gefärbte Oocyten bilden eine ventrale Schicht in Divertikeln und Ovidukten, darüber liegen Reihen kleiner, dunkelroter Oocyten
seneszent	große, hellrosa gefärbte Oocyten sind vereinzelt in Divertikeln und Ovidukten zu finden, zwischen den Oocyten sind häufig Lücken

Als reif galten die Weibchen im GS 4. Die Einordnung in dieses GS erfolgte ausschließlich über die Morphologie der Oocyten, die Anzahl Oocyten in den Gonaden wurde nicht berücksichtigt.

Die GS beziehen sich auf von außen sichtbare morphologische Veränderungen der Gonade. Die histologische Untersuchung der einzelnen Stadien liefert dagegen Informationen über die Prozesse auf zellulärer Ebene, die bei der Entwicklung der Gonaden ablaufen. Nachfolgend werde ich vor allem auf qualitative Veränderungen eingehen. Eine genaue quantitative Analyse der Eizahlen ließ sich mit der histologischen Untersuchung nicht durchführen. Die Angaben über die Anzahl der Oocyten in den

Ergebnisse

verschiedenen Entwicklungsstadien geben daher nur eine allgemeine Beschreibung des histologischen Bildes wieder.

CV und GS 1

In den Divertikeln und Ovidukten der untersuchten CV befanden sich keine Oocyten. Präparationen der Gonaden wurden nicht durchgeführt, exakte Maße für die Größe der Ovarien fehlen daher; im Lichtmikroskop erschienen die Ovarien aber noch klein.

Bei Weibchen, die innerhalb eines Tages nach der Häutung zum Adultus fixiert wurden, waren Oocyten im OS 1 und 2 in die an das Ovar angrenzenden Bereichen der Divertikel und Ovidukte gewandert. Bei einigen Weibchen waren ein Drittel bis maximal die Hälfte der Gonodukte mit einer Reihe Oocyten gefüllt. Diese Gonaden entsprachen denen der Weibchen, die im Freiland gefangen und als unreif (GS 1) klassifiziert wurden.

GS 2

In den Gonaden der Weibchen im GS 2 waren in den Gonodukten über die gesamte Länge des Tieres zwei bis drei Reihen OS 1 und OS 2 zu finden. OS 1 konzentrierten sich vor allem in der Nähe des Ovars, während OS 2 bis in die Spitze der Divertikel und zum Ende der Ovidukte hin vorkamen. Zwischen den OS 2 waren bei einigen Weibchen Lücken. Die Größenklassen-Verteilung im GS 2 bestätigt, daß sich ausschließlich junge Oocyten in den Gonaden befanden (Abb. 4.2).

GS 3

GS 3 war durch die Ausbildung mehrerer Schichten von Oocyten charakterisiert. OS 1 lagen jeweils dorsal und waren überwiegend in direkter Nachbarschaft des Ovars und im ersten Drittel der Gonodukte zu finden. Nach unten hin, und im Falle der Divertikel auch nach vorn in Richtung Kopf, schlossen sich mehrere Reihen von OS 2 an, die in ventraler Richtung größer wurden. Die histologische Untersuchung zeigte, daß der Zuwachs an Oocyten in der Gonade im wesentlichen aus der erhöhten Anzahl OS 2 resultierte. In geringerem Umfang wurden vermehrt OS 1 gefunden. Neben der höheren Zahl Eizellen ließ sich eine Verschiebung im Größenspektrum der Oocyten feststellen (Abb. 4.2). Einige Weibchen trugen junge OS 3.

GS 4

Im GS 4 nahmen die Gonaden, die mit OS 1 bis OS 4 gefüllt waren, nahezu den gesamten vorderen Thorax ein. Die Ovidukte bildeten sogenannte "Taschen", indem sich Oocyten (OS 1 bis OS 4) zwischen die Muskelstränge der Schwimmbeine drängten.

Die Anordnung der OS 1 und OS 2 in den Gonaden entsprach der in GS 3. Unterhalb der am weitesten entwickelten Schicht OS 2 befanden sich eine bis maximal zwei Schichten

OS 3 und / oder OS 4, wobei ventral immer die am weitesten entwickelten Oocyten positioniert waren (Fototafel II B).

Das Vorkommen von OS 3 und/oder OS 4 war für das GS 4 charakteristisch. Die bei der Färbung mit Boraxkarmin rosa erscheinenden Oocyten wurden im histologischen Schnitt als OS 3 bzw. OS 4 identifiziert. In präparierten Gonaden ließen sie sich einfach von den jüngeren Oocyten trennen (Fototafel II C). Außerdem waren aufgrund der fehlenden Zellkerne OS 4 leicht von OS 3 zu unterscheiden. OS 3 und OS 4 nahmen zwar ein relativ zu OS 1 und OS 2 großes Volumen in der Gonade ein, sie bildeten jedoch nur einen geringen Anteil an den gesamten Oocyten. Die größere Anzahl Oocyten bestand aus OS 2 (Abb. 4.2). Im GS 4 enthielten die Gonaden nicht alle Entwicklungs- und Übergangsstadien der reifenden Eizellen. Darauf wird unter im Kapitel 4.1.2.3 eingegangen.

"seneszente Gonaden"

Weibchen, die am Ende der Untersuchung (Ende Mai) fixiert wurden, trugen Oocyten in ihren Gonaden, die deutlich abnorme Strukturen aufwiesen. OS 3 und OS 4 waren häufig nicht mehr vollständig mit Vesikeln ausgefüllt, es kam zu Auflösungserscheinungen des Ooplasmas, einzelne Oocyten degenerierten zu Vesikeln (Fototafel II D). Diese Veränderungen betrafen in einigen Weibchen nur einzelne Oocyten, während in anderen Weibchen ein großer Teil der Oocyten aufgelöst war. Häufig waren noch alle Stadien vorhanden, sogar reife OS 4 lagen in den Gonaden vor, die darüberliegende Schicht von jüngeren Oocyten war jedoch z.T. vollständig degeneriert. Ob es sich hier um seneszente Tiere im eigentlichen Sinne (Tiere, die alt sind) oder um durch Nahrungslimitierung auftretende Mangelerscheinungen handelt, wird später diskutiert.

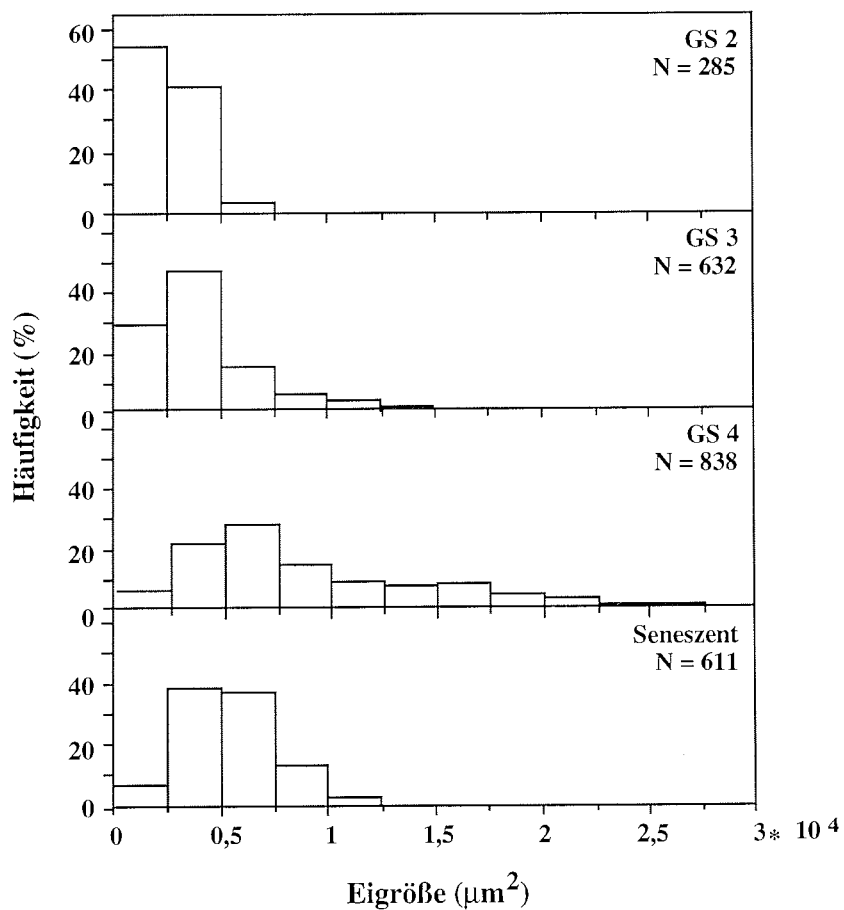


Abb. 4.2: Größenhäufigkeits-Verteilungen der Oocyten in Gonaden unterschiedlicher Entwicklungsstadien bei *C. finmarchicus*. Aufgetragen wurde die maximale Querschnittsfläche als Maß für die Eigröße; berücksichtigt wurden ausschließlich Oocyten in Divertikeln und Ovidukten, GS 1 fehlt aus diesem Grund. N = Anzahl der Messungen. Anzahl Weibchen je GS = 5.

4.1.2.2 Verteilung der Oocyten in der Gonade

Im folgenden Absatz soll erläutert werden, wie sich die unterschiedlichen OS auf die verschiedenen Bereiche in der Gonade verteilen, da daraus Rückschlüsse auf die Vorgänge während der Reifung gezogen werden.

In den weiblichen Gonaden von *Calanus finmarchicus* befanden sich unterschiedliche Entwicklungsstadien von Oocyten. Dabei waren im Verlauf der Entwicklung von CV zum adulten Weibchen im GS 4 in den Divertikeln und Ovidukten die verschiedenen OS gleichzeitig vorhanden. Eine Unterteilung des Divertikels durch eine Membran in einen oberen und unteren Kanal, wie von LOWE (1935) vorgeschlagen, konnte ich nicht nachweisen.

Mit Ausnahme des Ovars nahmen in den Gonaden von *Calanus finmarchicus* sowohl der Reifegrad als auch die Größe der Oocyten von dorsal nach ventral hin zu (Abb. 4.3-B). In den Divertikeln und Ovidukten unterschied sich die Stadienzusammensetzung nicht. Die am weitesten ventral liegenden Oocyten waren immer die am weitesten entwickelten, unabhängig vom Entwicklungsgrad der Gonaden.

Die Größenhäufigkeits-Verteilungen der Oocyten in Divertikeln und Ovidukten wurde in insgesamt 29 Weibchen unterschiedlicher GS untersucht. Dabei wurden in den Divertikeln mehr Oocyten gefunden als in den Ovidukten. Das geometrische Mittel der maximalen Querschnittsfläche der Oocyten betrug in den Divertikeln $558 \mu\text{m}^2$ und in den Ovidukten $543 \mu\text{m}^2$. Da die Daten nicht normalverteilt sind, beschreibt das geometrische Mittel bei der vorliegenden Verteilung den zentralen Wert besser.

Die Größenhäufigkeits-Verteilungen der Oocyten (Abb. 4.3-B) zeigen, daß nicht nur alle Entwicklungsstadien der Eizellen in den Divertikeln und Ovidukten vertreten waren, sondern daß sie auch in gleichen Anteilen auftraten. Um Unterschiede in der Verteilung zu prüfen, wurden folgende statistische Verfahren verwendet:

1. Kolmogorov-Smirnov-Test

Nullhypothese: Die Größenhäufigkeits-Verteilung der Oocyten ist in den Divertikeln und den Ovidukten gleich.

2. U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney

Nullhypothese: Die mittlere Größe der Oocyten unterscheidet sich in den Divertikeln und den Ovidukten nicht.

Mit beiden Tests waren keine signifikanten Unterschiede nachzuweisen (Kolmogorov-Smirnov-Test: $p = 0,091$; U-Test: $p = 0,3029$). Demnach sind generell sowohl die mittlere Größe als auch die Größenhäufigkeits-Verteilung in Divertikeln und Ovidukten nicht signifikant unterschiedlich.

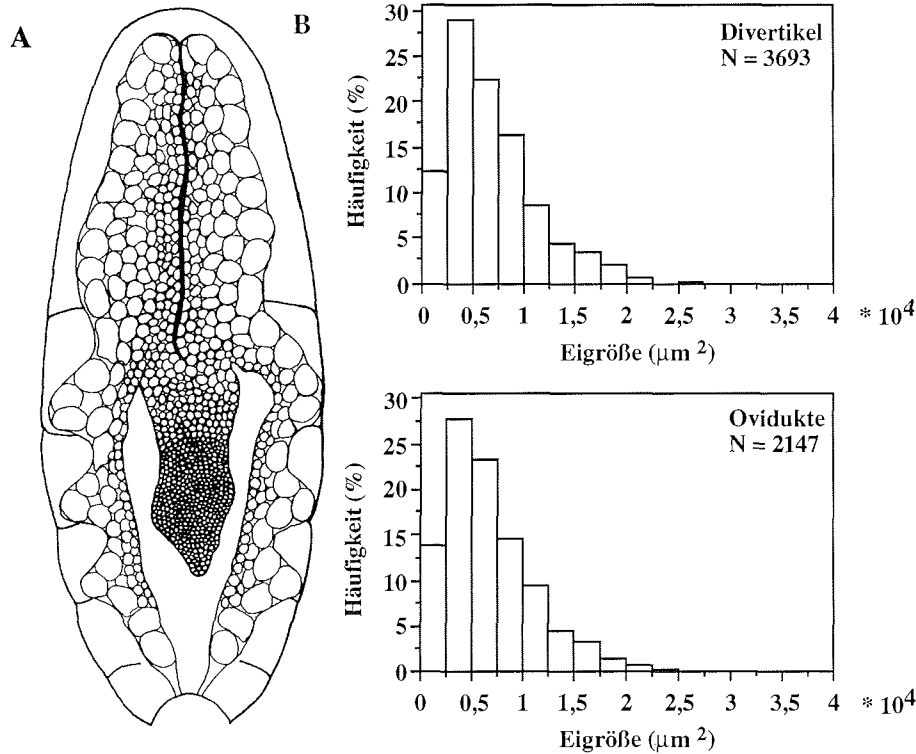


Abb. 4.3: Verteilung der Oocyten in der Gonade von *C. finmarchicus*.
 A Schematische Darstellung der Oocyten im GS 4, dorsale Ansicht der Gonade.
 B Größenhäufigkeits-Verteilung der Oocyten in Divertikeln und Ovidukten; angegeben ist der Querschnitt der Oocyten in μm^2 ; es wurden die Vermessungsdaten von insgesamt 29 Weibchen unterschiedlicher Entwicklungsstadien berücksichtigt. N = Anzahl der Messungen.

Um zu überprüfen, ob sich während der Entwicklung der Gonaden die Größen der Oocyten in den Ovidukten und Divertikeln unterscheiden, wurden die gleichen statistischen Tests für die einzelnen Weibchen durchgeführt. Zwar ergaben sich Unterschiede in der Verteilung und mittleren Größe der Oocyten, es ließ sich aber keine generelle Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium der Weibchen feststellen. Bei 10 von 29 Weibchen war die Verteilung der Oocyten in den Divertikeln und Ovidukten unterschiedlich (Kolmogorov-Smirnov-Test, $p < 0.05$). Bei 8 dieser Weibchen unterschieden sich auch die Mittelwerte der Oocytengrößen (U-Test nach Mann-Whitney, $p < 0.05$) (vergl. Tab. A.1 im Anhang).

4.1.2.3 Vorgänge während der Eiproduktionsphase

Ziel des folgenden Experimentes war es, durch Eiablage und Reifungsprozesse hervorgerufene Veränderungen in den Gonaden zu beschreiben. *Calanus finmarchicus*-Weibchen in der Reproduktionsphase wurden für diesen Versuch in zweistündigen Intervallen beobachtet und in regelmäßigen Abständen nach der Eiablage fixiert. In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Bestimmung des GS, der Vermessung der Gonaden, der Histologie und der Lebendbeobachtung vergleichend dargestellt.

80 Weibchen wurden vor der Fixierung für 5 Tage unter guten Futterbedingungen im Labor gehältert. Am dritten Tag stieg der Anteil der eierlegenden Weibchen und gleichzeitig erhöhte sich die Eiproduktion (Abb. 4.4). 96,6 % der Weibchen legten zumindest einmal innerhalb dieses Zeitraumes ab, die meisten Tiere produzierten in regelmäßigen Abständen von 1 bis 2 Tagen ein Gelege. Die Gelegegröße (47 ± 24 Eier) veränderte sich in diesem Zeitraum nicht signifikant (ANOVA, $p = 0,4504$).

Die Kontrolle der Eiproduktion in zweistündigen Abständen ergab, daß die Eiablage gleichmäßig über 24 h verteilt erfolgte.

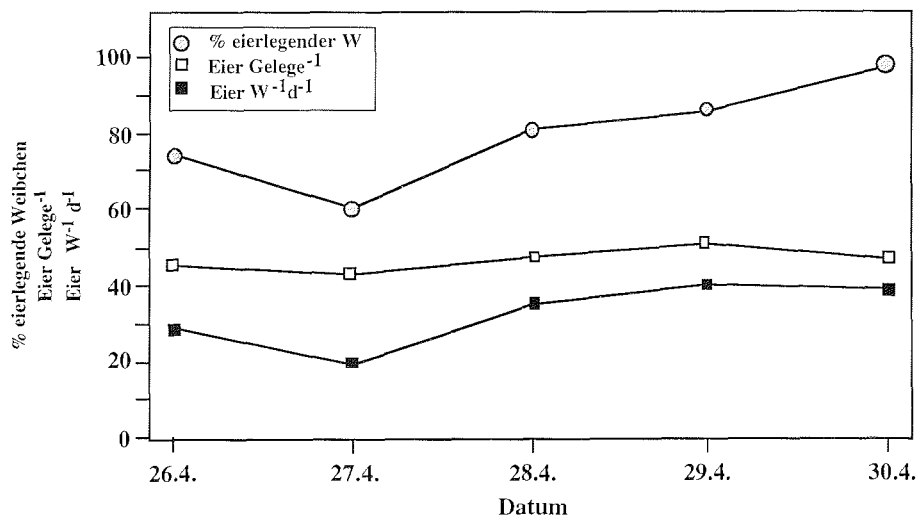


Abb. 4.4: Eiproduktion, Gelegegröße und Anteil reproduzierender Weibchen von *C. finmarchicus* im Labor. Aufgetragen wurden die durchschnittliche Eiproduktion (Eier W⁻¹d⁻¹), Gelegegröße (Eier Gelege⁻¹) und der prozentuale Anteil eierlegender Weibchen an fünf aufeinander folgenden Tagen unter guten Futterbedingungen. Die Daten vom 30.4. wurden bei der Hälterung in Kulturschalen erfaßt. Wegen der Übersichtlichkeit wurden keine Fehlerbalken eingefügt, vergl. dazu Tab. A.2 im Anhang.

Ergebnisse

Die Gonaden aller Weibchen, die während dieses Versuchs fixiert wurden, waren im GS 4. Es ließen sich keine Veränderungen der Gonadenreife aufgrund einer Eiablage feststellen. Die Anzahl der Oocyten in den Gonaden hatte nicht abgenommen. Auch die durchschnittliche Breite der Divertikel ($355 \pm 61 \mu\text{m}$) und der Ovidukte ($237 \pm 50 \mu\text{m}$) blieben konstant.

Die histologische Aufarbeitung dagegen zeigte deutliche zeitliche Unterschiede in der Morphologie der Oocyten innerhalb eines Legeintervalls. Auch die an lebenden Weibchen beobachtete Färbung der Oocyten veränderte sich:

In Gonaden von Weibchen, die direkt oder 6 h nach der Eiablage fixiert wurden, bestand die ventrale Schicht Oocyten aus jungen OS 3. Darüber lagen, wie üblich im GS 4, mehrere Schichten OS 2 bzw. OS 1. OS 1 und OS 2 bildeten auch in allen weiteren untersuchten Weibchen den größten Anteil der Oocyten in der Gonade. Im lebenden Zustand waren die Gonaden der 6 h nach der Eiablage fixierten Weibchen farblos.

12 Stunden nach der Eiablage hatten sich bei drei von sechs untersuchten Weibchen die Oocyten der ventralen Schicht zu fortgeschrittenen OS 3 entwickelt. Ein Weibchen enthielt Oocyten im Übergangsstadium von OS 3 zu OS 4; dazwischen lagen außerdem vereinzelte OS 4. Die darüberliegende Schicht Eizellen war dem OS 2 zuzuordnen. In den lebenden Weibchen hatte sich die ventrale Schicht Oocyten rosa gefärbt. Die Oocyten zweier Weibchen hatten sich nicht weiterentwickelt (junges OS 3), deren Gonaden waren im lebenden Zustand farblos. Nach 12 h zeigte sich im Größenspektrum der ventralen Oocyten insgesamt eine deutliche Verschiebung zu größeren Eizellen (Abb. 4.5).

18 h (fünf untersuchte Weibchen) bzw. 24 h (drei untersuchte Weibchen) nach der Eiablage trugen alle Weibchen OS 4. Die darüberliegenden Oocyten waren junge OS 3. Weibchen, die während der Eiablage fixiert wurden, enthielten ebenfalls neben OS 4 junge OS 3. Die ventrale Schicht Oocyten war in den lebenden Tieren deutlich rosa gefärbt. Die relativ geringe Zahl der Weibchen, die ich 24 h nach der Eiablage fixieren konnte, resultierte daraus, daß einige in der Zwischenzeit schon ein zweites Mal abgelegt hatten. Die Intervalle zwischen den Eiablagen waren demnach bei einigen Weibchen kürzer als 24 h.

Die Reifung der Oocyten zwischen zwei Eiablagen läßt sich aus den oben beschriebenen Beobachtungen wie folgt zusammenfassen: Nach der Eiablage, bei der alle OS 4 abgegeben werden, verbleibt eine Schicht junger OS 3 in den Gonaden. Diese jungen OS 3 entwickeln sich weiter zu fortgeschrittenen OS 3 und später zu OS 4. Mit der Reifung der ventralen Schicht von OS 3 zu OS 4 beginnt die darüberliegende Schicht OS 2, sich zu jungen OS 3 zu entwickeln. Erst nach der Ablage aller OS 4 nehmen diese jungen OS

3 die endgültige Reifung auf. Diese Prozesse laufen in Divertikeln und Ovidukten gleichzeitig ab. Die Oocyten in der ventralen Schicht entwickeln sich synchron.

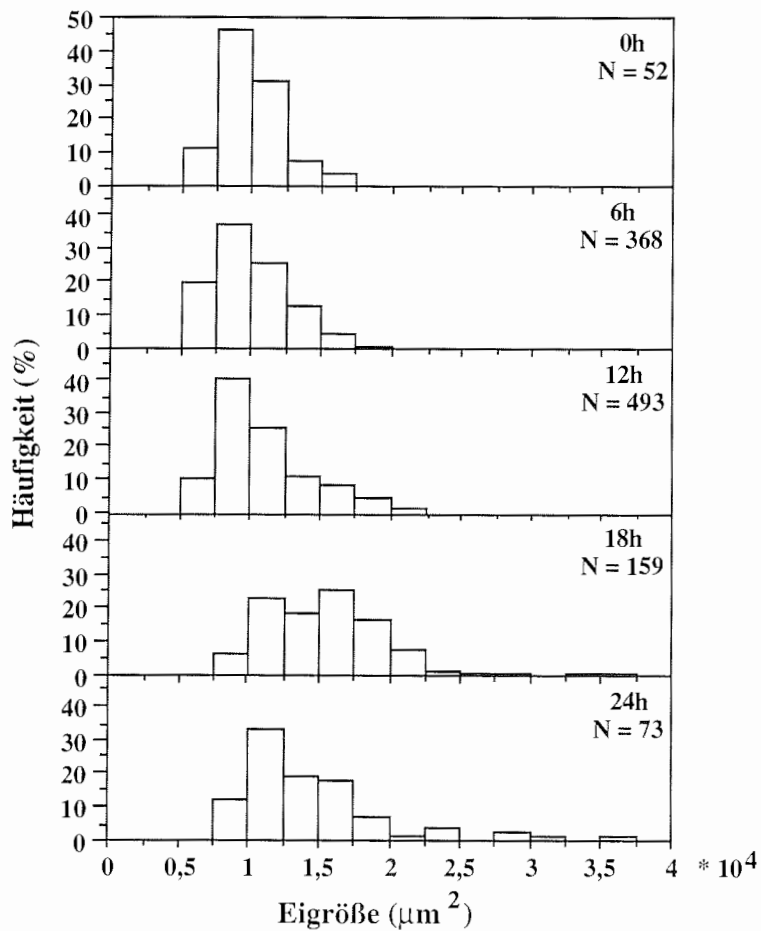


Abb. 4.5: Größenhäufigkeits-Verteilung der reifenden Oocyten von *C. finmarchicus* im zeitlichen Verlauf innerhalb eines Legeintervalls (0, 6, 12, 18 und 24 h). Dargestellt sind nur OS 3 und OS 4, aufgetragen wurde die maximale Querschnittsfläche in μm^2 der Oocyten im histologischen Schnitt. N = Anzahl der Messungen.

4.1.3 Freilanduntersuchungen zur Reproduktion von *Calanus finmarchicus*

Im Zeitraum von Mitte März bis Ende Mai 1994 untersuchte ich CV, adulte Weibchen und Männchen einer *C. finmarchicus*-Population in einem nordnorwegischen Fjord (Grøtsund), um die Entwicklung der Gonaden und die Eiproduktion in den Frühlingsmonaten zu dokumentieren.

4.1.3.1 Abundanz

Die Abundanz der untersuchten Stadien von *C. finmarchicus* schwankte im Untersuchungszeitraum von März bis Mai sehr stark (Tab. 4.1).

Tab. 4.2: Abundanz der CV, Weibchen und Männchen von *C. finmarchicus* im Grøtsund (Nordnorwegen) von Mitte März bis Ende Mai 1994. Angegeben sind Anzahlen Individuen m⁻³ und das Verhältnis von Weibchen zu Männchen (W/M) bei zehn Ausfahrten.

Datum	15.3.	21.3.	28.3.	5.4.	11.4.	19.4.	25.4.	3.5.	10.5.	19.5.
CV	21,4	4,4	2,8	1,4	0,7	0,2	0,6	4,64	5,6	94,3
Weibchen	21,8	5,9	13,3	5,2	16,0	7,9	9,7	29,1	18,0	52,6
Männchen	6,4	2,3	2,2	1,2	0,6	0,1	0,4	1,4	1,6	2,0
W/M	3,4	2,6	6,1	4,3	29,0	111,0	23,1	20,4	11,4	26,3

Zu Beginn meiner Untersuchung im Grøtsund Mitte März war das Verhältnis von CV zu Adulten in etwa ausgeglichen. Ein Teil der überwinterten CV hatte sich schon vor Probennahmebeginn zu Adulten gehäutet. Im Laufe der folgenden Wochen nahm der Anteil der CV (Prosomalänge 1800 - 2900 µm) stark ab, bis sie im April nur noch 0,5% der untersuchten Tiere ausmachten. Ab Anfang Mai stieg die Abundanz der CV langsam wieder an, bis am 19. Mai ein sprunghafter Anstieg auf ca. 60% der Gesamtpopulation verzeichnet wurde. Die Weibchen traten zu diesem Zeitpunkt relativ zu den CV in erheblich geringeren Abundanzen auf, wenn auch die höchste absolute Anzahl Individuen m⁻³ erreicht wurde.

C. finmarchicus-Weibchen waren zu allen Probennahmen relativ häufig. Mitte März lag der Anteil der Weibchen bei 42 % der untersuchten Stadien, bis Mitte April stieg er auf 92 % an. Danach verringerte er sich wieder bis Ende Mai auf ca. 40%. Die durchschnittliche Prosomalänge der Weibchen lag zwischen 2511 und 2668 μm , sie veränderte sich nicht signifikant über den Untersuchungszeitraum (Abb. 4.6) (ANOVA, $p = 0,7883$).

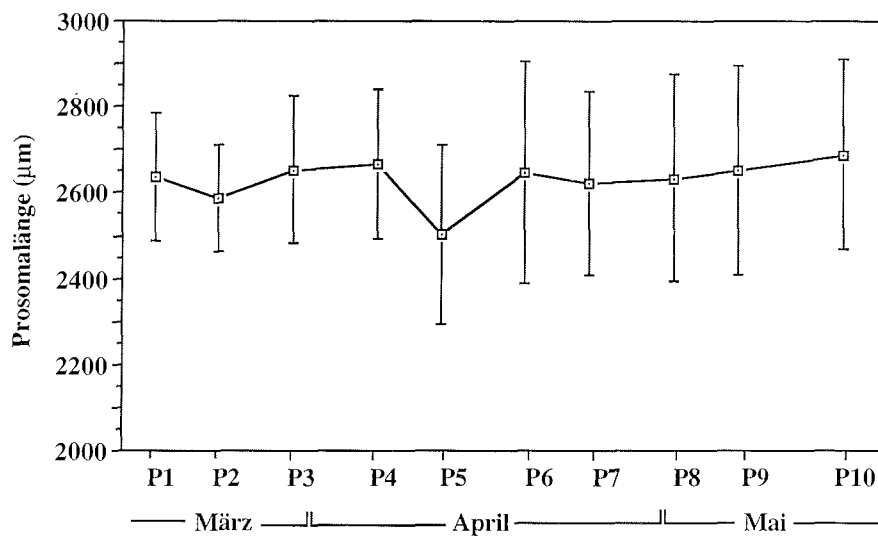


Abb. 4.6: Prosomalänge adulter *C. finmarchicus* -Weibchen von März bis Mai 1994 im Grøtsund (Norwegen). Dargestellt ist die durchschnittliche maximale Länge des Prosoma mit Standardabweichung an 10 Probennahmeterminen (P1-P10, die genauen Daten sind der Tab. 3.1 zu entnehmen).

Adulte Männchen von *C. finmarchicus* (Prosomalänge 2300 - 2900 μm) waren in nur geringen Zahlen vorhanden, das Geschlechterverhältnis lag immer deutlich auf Seiten der Weibchen. Maximale Abundanzen der Männchen traten von Mitte März bis Anfang April auf, in diesen Wochen variierte das Verhältnis Weibchen zu Männchen zwischen 3 und 6. Im gleichen Zeitraum trugen viele der Weibchen eine Spermatophore. Der überwiegende Teil der Weibchen (mehr als 95%) war schon zu Beginn des Frühjahres befruchtet. (Bei befruchteten Weibchen färbten sich die Spermien mit Boraxkarmin ebenfalls rot; die Spermatheke erscheint dunkelrot.)

Abb. 4.7 veranschaulicht die Veränderung der Abundanzverhältnisse zwischen Weibchen, Männchen und CV im Verlauf der Untersuchung von März bis Mai.

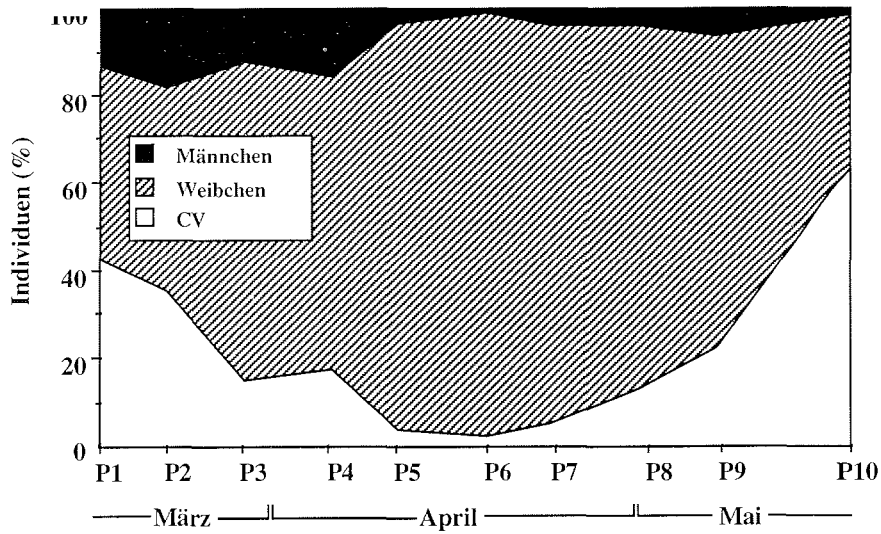


Abb. 4.7: Zusammensetzung der Population von *C. finmarchicus* im Grøtsund während des Untersuchungszeitraums von März bis Mai 1994; aufgetragen sind die prozentualen Anteile der Weibchen, CV und Männchen an den Probennahmen P1 bis P 10, die genauen Daten sind der Tab. 3.1 zu entnehmen.

4.1.3.2 Entwicklung der Gonaden

Entsprechend der unter Punkt 4.1.2.1 dargestellten Klassifizierung wurden die Gonadenreifestadien (GS) von ca. 50 Weibchen aus den wöchentlichen Probennahmen bestimmt, um den Verlauf der Entwicklung der Gonaden zu dokumentieren (Abb. 4.8).

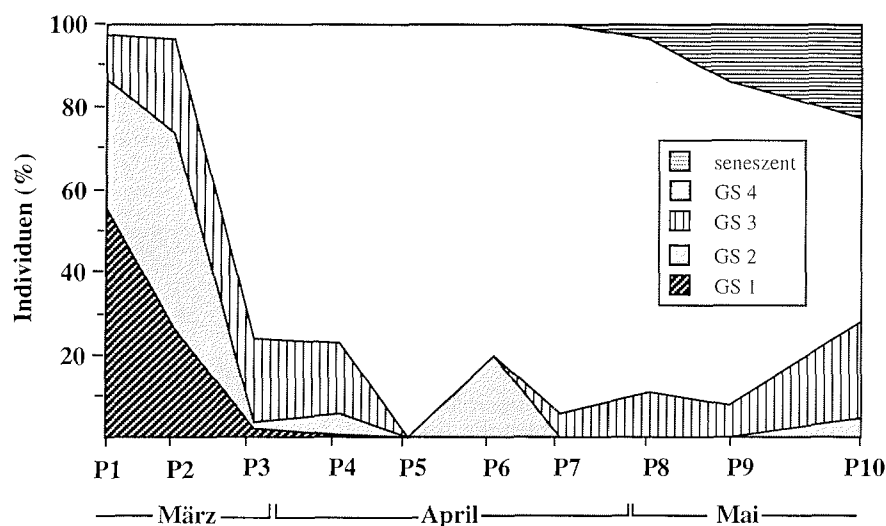


Abb. 4.8: Gonadenreifestadienverteilung (GS) der Weibchen von *C. finmarchicus* im Grøtsund von März bis Mai 1994. Erläuterung der Reifestadien in Kapitel 4.1.2.1, Übergangsstadien wurden je zur Hälfte den vorherigen bzw. nachfolgenden Stadien zugeteilt. Daten der Probennahmen (P1 bis P10) sind Tab. 3.1 zu entnehmen.

Zu Beginn der Untersuchung Mitte März waren die Gonaden von 85% der *C. finmarchicus*-Weibchen nicht (GS 1) oder wenig (GS 2) entwickelt. Ca. 10% der Gonaden waren im GS 3 und nur ca. 3% der Gonaden waren reif (GS 4). Bis zur zweiten Probennahme verschob sich das Verhältnis zu Gunsten der Gonaden im GS 2. Außerdem traten vermehrt Gonaden im GS 3 auf. Im Laufe der folgenden drei Wochen (P2-P5) erhöhte sich der Anteil der reifen Gonaden (GS 4) rapide, im Gegenzug sanken die Anteile der Gonaden in GS 1, GS 2 und GS 3. Am 11. April (P5) waren alle Weibchen voll entwickelt (GS 4). Am 19. April (P6) befanden sich ca. 20% Prozent Weibchen im GS 2. Von Mitte April bis Anfang Mai blieb der Anteil der Gonaden im GS 4 gleichbleibend hoch. Daneben fanden sich GS 3 in geringer Anzahl. Ab Ende April waren auch seneszente Weibchen zu finden. Ihr Anteil stieg langsam bis Ende Mai an. Bei der letzten Probennahme am 19. Mai (P10) war der Anteil der GS 4 von ca. 80% am

Ergebnisse

10. Mai (P9) auf ca. 50 % gesunken. Ein Viertel der Weibchen hatte Gonaden in GS 3 oder GS 2, ein Viertel war seneszent.

4.1.3.3 Reproduktion

Um die Reproduktion von *Calanus finmarchicus* im Grøtsund zu beschreiben, wurden folgende Parameter erfaßt:

- in-situ-Eiproduktionsrate
- Gelegegröße
- Anteil eierlegender Weibchen im Labor
- % GS 4 (Gonaden-Index)

Die Tabelle 4.2 gibt eine Übersicht über die ermittelten Parameter.

Tab. 4.3 Reproduktion von *C. finmarchicus* im Grøtsund zwischen März und Mai 1994. Angegeben werden die Anzahl der gehälterten Weibchen (N), der prozentuale Anteil der eierlegenden Weibchen (W), die Eiproduktionsrate (EPR) mit Standardabweichung, die Gelegegröße (n) mit Standardabweichung und der prozentuale Anteil der GS 4 = Gonaden-Index (GI).

Datum	N	W (%)	EPR ($n W^{-1} d^{-1}$)	Gelegegröße (n)	GI
15.3.	85	1,2	0,1 ± 0,9	0,0 ± 0,00	3,2
21.3.	85	0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	4,1
28.3.	85	51,8	16,9 ± 21,4	36,7 ± 18,7	64,6
5.4.	79	62,0	20,2 ± 21,9	36,7 ± 19,4	77,6
11.4.	83	89,2	47,2 ± 26,1	47,2 ± 22,0	100,0
19.4.	77	80,5	38,2 ± 25,4	52,7 ± 17,7	80,4
25.4.	85	64,7	28,7 ± 28,5	43,2 ± 23,6	93,8
3.5.	85	61,2	26,9 ± 24,7	41,7 ± 18,9	74,0
10.5.	70	47,1	18,5 ± 22,9	45,4 ± 16,1	77,6
19.5.	80	18,8	5,6 ± 13,3	33,4 ± 14,3	26,7

Die Parameter Eiproduktionsrate, Anteil reproduzierender Weibchen und Gonaden-Index zeigten im Verlauf der Untersuchung einen sehr ähnlichen Verlauf (Abb. 4.9 A,C,D). Die

Größe der Gelege veränderte sich in geringerem Ausmaß (Abb. 4.9 B) und wird daher gesondert behandelt.

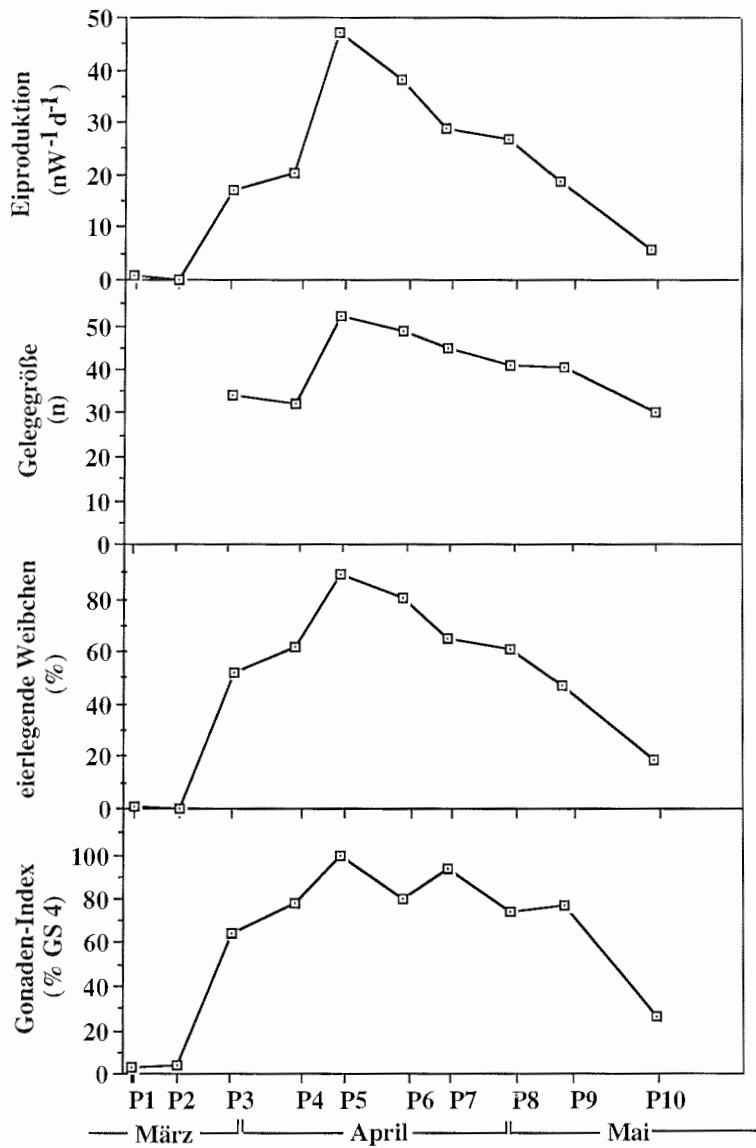


Abb. 4.9: Reproduktion von *C. finmarchicus* im Grøtsund zwischen März und Mai 1994. Dargestellt ist die zeitliche Entwicklung der Eiproduktionsraten (A), der Gelegegrößen (B), des Anteils der reproduzierenden Weibchen (C) und des Gonaden-Index (% GS 4) (D).

Ergebnisse

Es gibt signifikante zeitliche Veränderungen in der Eiproduktionsrate (ANOVA; $p=0,0001$).

Bei den ersten beiden Probennahmen Mitte und Ende März war keine in-situ-Eiproduktion festzustellen, der Gonaden-Index war niedrig. Bei der 3. Probennahme am 28.3. stieg die Eiproduktion signifikant auf durchschnittlich 17 Eier $W^{-1} d^{-1}$ innerhalb der ersten 24 h nach dem Fang an (Post-Hoc-Test nach Games-Howell, Abb. 4.10). Ca. 50% der Weibchen legten Eier ab. Im gleichen Maße nahm der Gonaden-Index zu. In den darauffolgenden Wochen stiegen die Eiproduktionsrate, die Anzahl eierlegender Weibchen und der Gonaden-Index weiter an. Am 11.4. war mit ca. 50 Eier $W^{-1} d^{-1}$ das Maximum erreicht. Die Eiproduktionsrate lag signifikant höher als bei allen anderen Probennahmen mit Ausnahme der 6. Probennahme am 19.4. (Post-Hoc-Test nach Games-Howell). 89% der im Labor gehälteren Weibchen legten Eier innerhalb von 24 h nach dem Fang ab. In den Proben waren ausschließlich Weibchen im GS 4, damit lag der Gonaden-Index bei 100%. An den darauffolgenden Probennahmeterminen in April und Mai nahm dann die Eiproduktionsrate langsam ab. Die Abnahme von einer Probennahme zur nächsten war nicht signifikant (Post-Hoc-Test nach Games-Howell). Die Anteile reproduzierender Weibchen im Labor verringerten sich ebenso wie der Gonaden-Index. Bei der letzten Probennahme am 19. Mai sank die Eiproduktionsrate auf 5 Eier $W^{-1} d^{-1}$ und war damit signifikant niedriger als zu der vorherigen Probennahme (Post-Hoc-Test nach Games-Howell). Nur noch 20 % der Weibchen legten Eier ab, der Gonaden-Index erreichte 26%.

Datum	21.3.	28.3.	5.4.	11.4.	19.4.	25.4.	3.5.	10.5.	19.5.
EPR	0,00	16,89	20,16	47,20	38,23	28,67	26,88	18,54	5,64
15.3. 0,09	ns	*	*	*	*	*	*	*	*
21.3. 0,00		*	*	*	*	*	*	*	*
28.3. 16,89			ns	*	*	ns	ns	ns	*
5.4. 20,16				*	*	ns	ns	ns	*
11.4. 47,20					ns	*	*	*	*
19.4. 38,23						ns	ns	*	*
25.4. 28,67							ns	ns	*
3.5. 26,88								ns	*
10.5. 18,54									*

Abb. 4.10: Überprüfung der in-situ-Eiproduktionsraten von *C. finmarchicus* im Grøtsund mit dem Post-Hoc-Test nach Games-Howell. Horizontal und vertikal sind die Probennahmeterminen und die Eiproduktionsraten (EPR) aufgeführt, ns = die Eiproduktionsraten dieser beiden Ausfahrten unterscheiden sich nicht signifikant ($p > 0,05$) * = die Eiproduktionsraten unterscheiden sich signifikant.

Die durchschnittliche Anzahl Eier pro Gelege, die innerhalb der ersten 24 h nach dem Fang produziert wurden, variierte zwischen ca. 30 und 52 pro Probennahmetermin. Während die minimale Anzahl durch die Methode auf 9 Eier festgelegt wurde (vergl. Kap. 3.5.1.2), lag das Maximum bei 148 Eiern. Die größten Gelege fand ich zu Zeiten der hohen Eiproduktionsraten bei der 5. und 6. Probennahme (Mitte April) mit durchschnittlich 47 bzw. 52 Eiern pro Gelege, wohingegen zu Beginn und zum Ende der Reproduktionsperiode die Gelege zwischen 30 und 45 Eier umfaßten.

Zeitliche Unterschiede in der Gelegegröße wurden mit einer Varianzanalyse (ANOVA) statistisch geprüft.

Null-Hypothese: Die Gelege aller Ausfahrten entstammen einer Grundgesamtheit und sind im Mittel gleich groß. Der Zeitpunkt der Probennahme hatte keinen Einfluß auf die Gelegegröße.

Die Null-Hypothese wurde auf einem Signifikanzniveau von 0,001 abgelehnt, d.h. der Zeitpunkt der Probennahme beeinflusste signifikant die Gelegegröße. Mit einem Post-Hoc-Test nach Games-Howell wurden daher die Gelegegrößen der einzelnen Ausfahrten gegeneinander getestet. Innerhalb der ersten 24 h wurden bei den ersten beiden Ausfahrten keine Gelege gefunden, daher bezog ich nur die Ausfahrten 3 bis 10 in die statistische Analyse mit ein. Inwieweit sich die Größe der Gelege an den verschiedenen Probennahmen unterscheidet, ist in Abb. 4.11 dargestellt.

Datum	GG	5.4.	11.4.	19.4.	25.4.	3.5.	10.5.	19.5.
		36,7	47,2	52,7	43,2	41,7	45,4	33,4
28.3.	36,7	ns	*	*	ns	ns	ns	ns
5.4.	36,7		*	*	ns	ns	ns	ns
11.4.	47,2			ns	ns	*	*	*
19.4.	52,7				ns	ns	ns	*
25.4.	43,2					ns	ns	ns
3.5.	41,7						ns	ns
10.5.	45,4							ns

Abb. 4.11: Überprüfung der Gelegegrößen von *C. finmarchicus* im Grøtsund mit dem Post-Hoc-Test nach Games-Howell. Horizontal und vertikal sind die Probennahmeterminale und die Gelegegrößen (GG) aufgeführt, ns = die Gelegegrößen dieser beiden Ausfahrten unterscheiden sich nicht signifikant ($p > 0,05$) * = die Gelegegrößen unterscheiden sich signifikant.

4.1.4 Abschätzung der Eiproduktion anhand fixierter Proben

Bisher wurde die in-situ-Eiproduktionsrate im Rahmen aufwendiger in-vivo-Experimente erfaßt. Ziel der vergleichenden Untersuchungen in dieser Arbeit war daher, anhand fixierter Proben die Eiproduktion bestimmen zu können. Dazu wurden der Gonadenreifezustand und die Reproduktion zum gleichen Zeitpunkt ermittelt. Zusätzlich wurden histologische Befunde herangezogen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden in den folgenden zwei Kapiteln dargestellt.

4.1.4.1 Gonadenreifestadien und Eiproduktion

Da nur Weibchen mit reifen Gonaden Eier ablegen können, sollte der Gonaden-Index (prozentualer Anteil der Weibchen im GS 4) in engem Zusammenhang mit der Eiproduktionsrate einer Population stehen. Inwieweit der Gonaden-Index mit den drei weiteren Parametern, die für die Beurteilung der Reproduktionsbereitschaft (Punkt 4.1.3.2) ermittelt wurden (prozentualer Anteil der reproduzierenden Weibchen im Labor, Gelegegröße und in situ-Eiproduktionsrate), korrelierte, wird in Abb. 4.12 dargestellt. Die Regressionsgeraden zeigen einen signifikanten Zusammenhang zwischen allen Parametern und dem Gonaden-Index.

Die beste Korrelation zeigte der Gonaden-Index mit dem prozentualen Anteil reproduzierender Weibchen ($R^2=0.923$, $p < 0,001$). Doch auch die Gelegegröße ($R^2=0,615$, $p = 0,0213$) und die Eiproduktionsrate ($R^2= 0,815$, $p = 0,004$) waren signifikant mit dem Gonaden-Index korreliert.

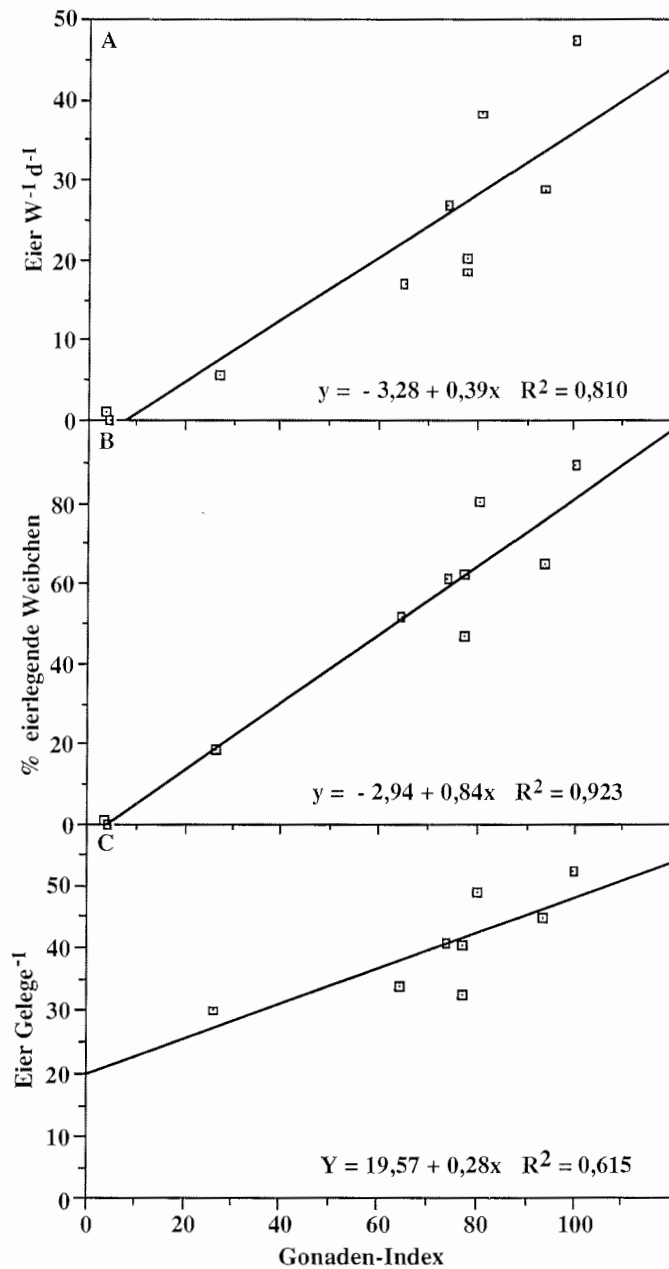


Abb. 4.12: Zusammenhang zwischen in-situ-Eiproduktion (A), prozentualen Anteil reproduzierender Weibchen (B), Gelegegröße (C) und Gonaden-Index. (In die statistische Analyse der Gelegegrößen wurden nur die Probenahmen 3 bis 10 einbezogen, da bei den ersten beiden Ausfahrten keine Gelege gefunden wurden.)

4.1.4.2 Abschätzung der Gelegegröße

Die histologische Untersuchung der reifenden Oocyten zwischen zwei Eiablage-Ereignissen zeigte, daß bei einer Eiablage alle OS 4 abgegeben werden und das nächste Gelege von synchron heranreifenden frühen OS 3 gebildet wird (vergl. Kap 4.1.3.3). Daher sollte man durch die Zählung der OS 4 bzw. OS 3 in den histologischen Schnitten die Gelegegröße des folgenden Geleges ermitteln können.

In dem im Kapitel 3.5.3.1 dargestellten Experiment wurden die Weibchen für 5 Tage im Labor gehältert und anschließend lichtmikroskopisch untersucht. Dabei zählte ich die OS 4 oder OS 3 und ermittelte so die zu erwartende Gelegegröße bei 19 Weibchen.

Aus der Hälterung waren folgende Größen bekannt:

$$\begin{aligned}
 \text{MTGG} \quad (\text{mittlere tägliche GG}) &= \frac{1}{n_w} \sum_{i=1}^{n_w} \text{GG}_i \\
 \text{MIGG} \quad (\text{mittlere individuelle GG}) &= \frac{1}{n_T} \sum_{j=1}^{n_T} \text{GG}_j \\
 \text{GMGG} \quad (\text{gesamte mittlere GG aller Weibchen bei} \\
 &\quad \text{mehreren Tagen Hälterung}) &= \frac{1}{(n_w * n_T)} \sum_{i=1}^{n_w} \sum_{j=1}^{n_T} \text{GG}_{i,j} \\
 \text{GG} &= \text{Gelegegröße} \\
 \text{GG}_{i,i} &= \text{GG von Weibchen}_i \text{ am Tag } j
 \end{aligned}$$

Die Zählung der OS 3 bzw. OS 4 in den histologischen Schnitten ergab folgende Größen:

$$\begin{aligned}
 \text{EGG} \quad (\text{erwartete GG des } W_i) &= n_{OS3} \text{ in } W_i \text{ oder } n_{OS4} \text{ in } W_i \\
 \text{MEGG} \quad (\text{mittlere EGG}) &= \frac{1}{n_w} \sum_{i=1}^{n_w} \text{EGG}_i
 \end{aligned}$$

Während der Hälterung produzierten die *Calanus finmarchicus*-Weibchen Gelege mit 9 bis 148 Eiern. Die anhand der Zählung der OS 3 bzw. O4 ermittelte individuelle erwartete Gelegegröße (EGG) variierte zwischen 25 und 84 Eiern.

Aufgrund der hohen Variabilität der Gelegegrößen während der Hälterung besteht nur eine schwach signifikante Korrelation der mittleren individuellen Gelegegröße (MIGG) mit der individuellen erwarteten Gelegegröße (EGG); ($R^2 = 0,202$; $p = 0,06$; vergl. im Anhang Tab. A.3 und A.4, Regressionsgerade Abb. A.1.) Die EGG lag jedoch im Größenbereich der zuvor im Experiment produzierten Gelege (Abb. 4.13)

Die mittlere tägliche Gelegegröße (MTGG) veränderte sich über den Hälterungszeitraum nicht signifikant.

Die gesamte mittlere Gelegegröße (GMGG) der fünftägigen Hälterung lag bei 49,8 Eiern. Die mit Hilfe der Histologie ermittelte durchschnittliche Anzahl OS 3 bzw. OS 4, d.h. die durchschnittliche erwartete Gelegegröße (MEGG) betrug 50,1 Eier. Die beiden Werte sind nicht signifikant unterschiedlich (ANOVA, $p = 0,789$).

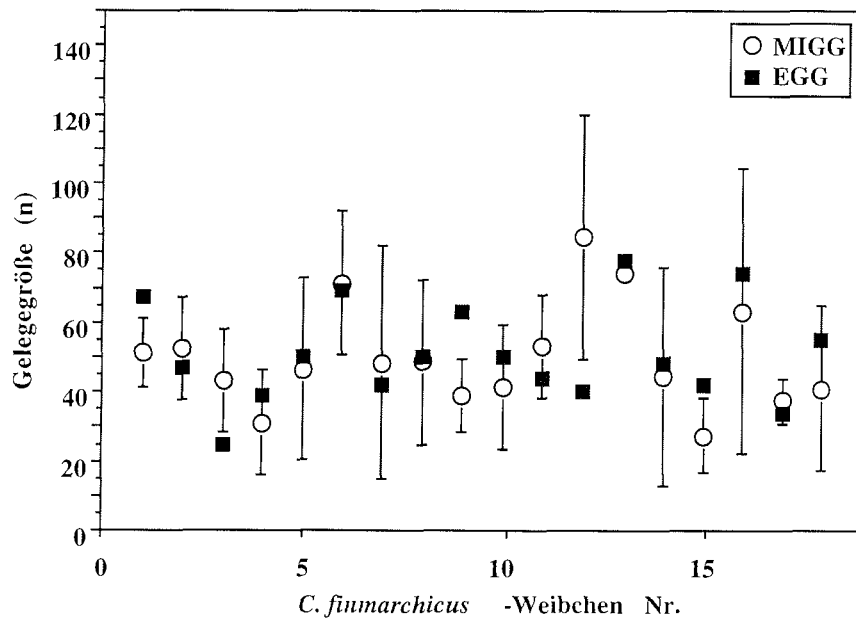


Abb. 4.13: Erwartete (EGG) und mittlere individuelle Gelegegröße (MIGG) von *C. finmarchicus*-Weibchen. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen (MIGG) und die EGG für 19 Weibchen.

4.1.5 Einfluß der Nahrungsbedingungen

4.1.5.1 Einfluß kurzzeitiger Hungerphasen auf die Reproduktion

Um den Einfluß kurzzeitiger Hungerphasen auf die Eiproduktionsrate zu untersuchen, hälterte ich nach den Probennahmen 1, 2, 4, 8, 9 und 10 (vergl Tab. 3.1) jeweils ca. 85 Weibchen über 4 bis 9 Tage im Labor. Zwischen 40 und 50 Tiere wurden mit Diatomeen gefüttert, während die restlichen Tiere in filtriertem Seewasser ohne Nahrung gehältert wurden. Nach Abschluß des Versuchs wurden die Weibchen zur Untersuchung der Gonadenreifestadien (GS) fixiert.

Während der Hälterung reagierten die Weibchen je nach Ausgangssituation und Hälterungsdauer unterschiedlich auf die verschiedenen Nahrungsbedingungen. Daher werde ich im folgenden Kapitel die Ergebnisse der Versuche in chronologischer Reihenfolge darstellen.

Bei keiner Probennahme wirkten sich die Nahrungsbedingungen innerhalb der ersten 24 h signifikant auf die Eiproduktionsraten aus (ANOVA, $p = 0,4396$).

Im ersten Versuch (begonnen am 16.3.) wurden in keinem der Versuchsansätze (gefütterte und nicht-gefütterte Tiere) Eier produziert (Abb. 4.14-1A). Die Gonaden veränderten sich während der viertägigen Laborhälterung weder bei den gefütterten noch bei den nicht gefütterten Weibchen (Abb. 4.14-3A).

Während bei der ersten Probennahme die Weibchen überwiegend im GS 1 waren, überwog bei der zweiten Probennahme der Anteil der Weibchen im GS 2. Bei der Hälterung nach der zweiten Probennahme hatten die unterschiedlichen Nahrungsbedingungen innerhalb der 9 Tage einen deutlichen Einfluß (ANOVA, $p < 0,0001$). Ab dem vierten Tag stieg die Eiproduktion der gefütterten Weibchen signifikant an (Post-Hoc-Test nach Games- Howell, $p = 0,05$), etwa die Hälfte der Weibchen hatte bis zum Ende des Versuchs zumindest einmal abgelegt. Bei der Fixierung waren 80% der Gonaden im GS 4. Im Gegensatz dazu hatten sich die Gonaden der hungernden Weibchen nicht verändert (Abb. 14.4-3B), die Tiere legten kaum Eier ab.

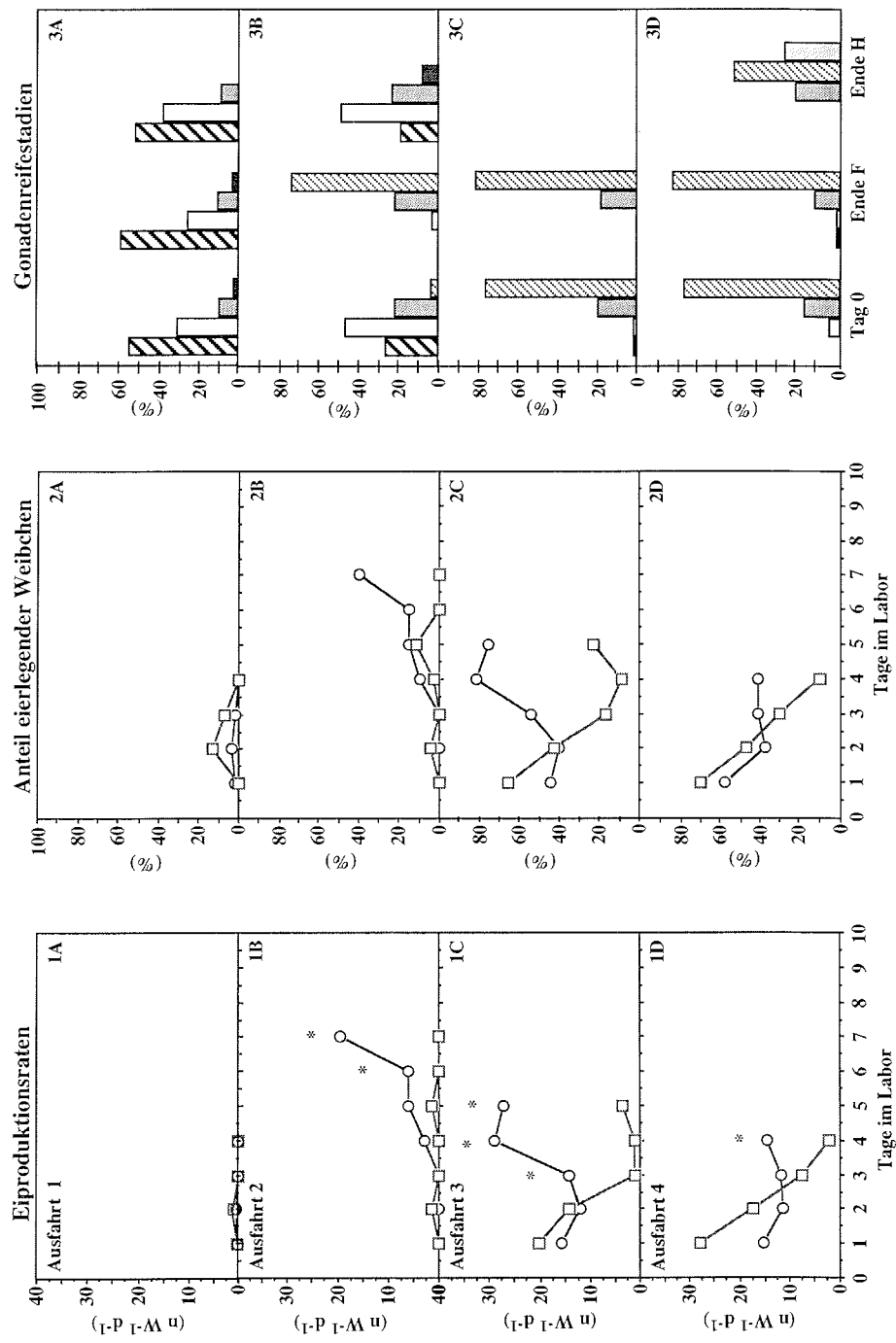
Während der Versuche zu den nachfolgenden Probennahmen lag die Eiproduktion der gefütterten Weibchen ab dem 3. Tag über der Eiproduktion der hungernden Weibchen. Bei niedrigen Eiproduktionsraten zu Beginn der Hälterung war dies auf einen Anstieg der Produktionsrate bei den gefütterten Weibchen zurückzuführen (Versuch nach Probennahme 3 und 10), während parallel dazu die Produktion der hungernden

Weibchen abnahm. In den Versuchen 4, 8 und 9 blieb die Eiproduktion der gefütterten Weibchen relativ konstant, die hungernden Weibchen legten jedoch auch hier erheblich weniger Eier. Der Reifegrad der Gonaden gefütterter Weibchen zeigte keine Veränderung gegenüber der Freilandsituation zu Beginn der Hälterung. Dagegen verringerte sich der Anteil reifer Gonaden (GS 4) bei den hungernden Weibchen deutlich. Außerdem fand ich in nicht gefütterten Tieren vermehrt Gonaden, die eine insgesamt "löchrige" Struktur aufwiesen oder in denen sich einzelne Oocyten aufgelöst hatten - Merkmale der als "seneszent" beschriebenen Tiere. Der Abbau der Gonaden scheint sich mit längerer Dauer der Hungerperiode zu verstärken, wie es sich im Versuch nach Ausfahrt 9 (Abb. 4.14-3F) als Trend abzeichnete.

Beim letzten Versuch (Probennahme 10) Ende Mai war die Eiproduktionsrate im Freiland auf 5 Eier $W^{-1}d^{-1}$ abgesunken. Etwa die Hälfte der Gonaden war reif, während die andere Hälfte unreife oder "seneszente" Gonaden umfaßte. Im Labor reagierten die Weibchen auf die Fütterung ab dem dritten Tag mit einer signifikant höheren Eiproduktion (ANOVA, $p = 0001$, Post-Hoc-Test nach Games-Howell). Am Ende des Versuchs nach 5 Tagen war der größte Teil der Gonaden im GS 4. Die Eiproduktion der hungernden Weibchen dagegen blieb niedrig, die Gonaden veränderten sich nicht.

Bei allen Versuchen war die veränderte Eiproduktion auf Veränderungen in der Anzahl eierlegender Weibchen (Abb. 4.14-2A bis G) und damit der Frequenz der Eiablage zurückzuführen. Die Größe der Gelege blieb während der Hälterung konstant.

Ergebnisse



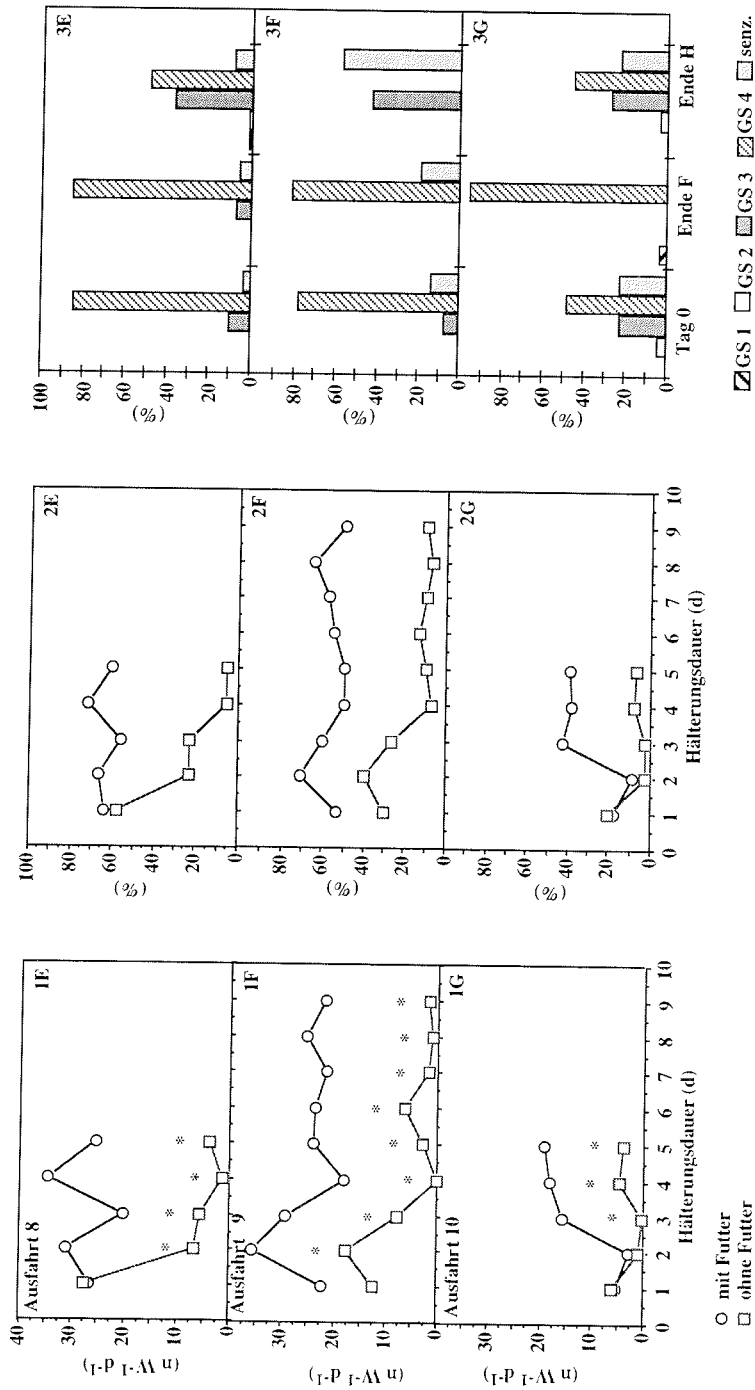


Abb. 4.14: Entwicklung der Eiproduktionsraten (1 A bis G), der Anteile der eierlegenden Weibchen (2 A bis G) und der Gonadenreifstadien (3 A bis G); dargestellt sind die Ausfahrten mit den Daten, unterschieden nach hungernden und fressenden Weibchen, (Abb. 4.14 - 2; * = die Eiproduktionsraten der gefütterten und der nicht gefütterten Weibchen unterschieden sich signifikant; ANOVA p < 0,05; Abb. 4.14-3; Tag 0 = GS vor dem Versuch, Ende F = GS der gefütterten Weibchen, fixiert am letzten Versuchstag, Ende H = GS der nicht gefütterten Weibchen, fixiert am letzten Versuchstag.)

4.1.5.2 Einfluß langzeitiger Hungerperioden auf die Reproduktion

Die Auswirkungen längerer Hungerperioden auf die Eiproduktionsrate und die Morphologie der Gonaden habe ich im folgenden Experiment untersucht. Jeweils 80 Weibchen wurden über drei Wochen im Labor gefüttert bzw. unter Hungerbedingungen gehalten. In ca. wöchentlichen Abständen wurden Tiere zur Untersuchung des Gonadenreifezustands, zur Präparation der Gonaden und für histologische Untersuchungen fixiert (vergl. Kap. 3.5.2). Inwieweit die Ernährungssituation vor Versuchsbeginn die Veränderungen in der Morphologie der Gonaden beeinflusst, soll die zweifache Durchführung des Versuchs, zu Beginn des Frühjahrs vor der Phytoplanktonblüte (Probennahme 2 am 21.3.1994) und zum Ende des Frühjahrs während der Phytoplanktonblüte (Probennahme 7 am 25.4.1994; vergl. Kap. 2.2.3), klären.

Versuch 1 (Weibchen vor der Phytoplanktonblüte gefangen):

Situation zu Versuchsbeginn

Direkt nach dem Fang wurde keine in-situ Eiproduktion festgestellt, die Weibchen von *Calanus finmarchicus* waren überwiegend im GS 3 (21.3.). Die histologische Untersuchung zeigte intakte Oocyten, mehrere Reihen OS 2 und manchmal eine Reihe ausgebildeter OS 3. Die Zellen in den Ovarien waren dicht gepackt; die typische Gliederung in Teilungs-, Synapsis- und Wachstumszone (vergl. Kap. 4.1.1) wurde bei allen sechs histologisch untersuchten Weibchen nachgewiesen.

Gefütterte Weibchen

Die gefütterten Weibchen begannen innerhalb von vier Tagen mit der Eiproduktion (Abb. 4.15). Nach 14 Tagen im Labor war die maximale Produktionsrate mit 35 Eiern $W^{-1} d^{-1}$ erreicht. Insgesamt schwankte die Eiproduktionsrate stark. Sie lag deutlich unter den parallel im Freiland festgestellten Werten von bis zu 47 Eiern $W^{-1} d^{-1}$ (vergl. Kap. 4.1.3.3).

Nach ca. einer Woche hatten die meisten Weibchen reife Gonaden entwickelt (Abb. 4.16-A). Bis zum Ende des Versuchs waren alle Gonaden im GS 4. Entsprechend nahm die Breite der Divertikel und der Ovidukte zu (Abb. 4.17-A).

Die Ovarienlänge ebenso wie die Breite der Wachstumszonen und der Teilungszonen blieben unter Futterbedingungen konstant (Abb. 4.17-A).

Die histologische Untersuchung zeigt, daß die innere Organisation der Weibchen im wesentlichen den Freilandtieren entsprach. So waren in allen gefütterten Weibchen OS 1

bis OS 4 zu finden. Lediglich zum Ende der Untersuchung nach 23 Tagen Laborhälterung hatten sich in einem von 4 fixierten Tieren kleine Lücken in der Wachstumszone der Ovarien gebildet. In nur wenigen Tieren waren abnorme (d.h. degenerierte Oocyten, OS 3 mit unvollständiger Vakuolisierung oder OS 4 mit abnormen Chromosomen) zu finden.

Nicht gefütterte Weibchen

Bei den nicht gefütterten Weibchen wurde an den meisten Tagen keine Eiproduktion festgestellt (Abb. 4.15). An nur 4 Tagen wurden überhaupt Eier gefunden, die Eiproduktionsrate lag maximal bei nur 2 Eiern pro Weibchen und Tag.

Im Verlauf der Hälterung entwickelten sich in den hungernden Weibchen die Gonaden wenig weiter (Abb. 4.16-B). Ca. 50% der Weibchen erreichten das GS 3. Am Ende des Versuchs wurden zwei Weibchen im GS 4 gefunden.

Die Vermessung der Gonaden zeigte, daß sich die Breite der Divertikel und der Ovidukte nicht wesentlich veränderte. Bei den Ovarien allerdings verringerte sich die Länge signifikant (ANOVA, $p = 0,0294$) Auch bei der Breite der Wachstumszone war eine Tendenz zur Größenabnahme zu erkennen, sie veränderte sich jedoch nicht signifikant. Die Breite der mitotisch aktiven Zone veränderte sich nicht. Diese Befunde spiegeln sich auch in der Histologie wieder.

Die histologischen Untersuchungen zeigten sehr deutliche Veränderungen in den Gonaden: Zuerst kam es in den Oocyten in den Gonodukten zu Auflösungserscheinungen, einige Oocyten degenerierten zu Vesikeln (vergl. auch Kapitel 4.1.1), ein Effekt, der sich mit zunehmender Dauer des Experimentes verstärkte (Fototafel). Auch in den Ovarien zeigten sich Veränderungen: Zunächst (1. Fixierung nach 4 Tagen, 2. Fixierung nach 8 Tagen) wiesen die Wachstumszonen der Ovarien nur kleine Lücken auf. Später war der Zellverband der OS 1 nur noch sehr locker, zwischen den einzelnen OS 1 lagen insbesondere an den Übergängen vom Ovar zu den Gonodukten große Zwischenräume. Jedoch waren auch in den Weibchen, die länger (16 bzw. 23 Tage) gehungert hatten, immer intakte OS 2 und OS 1 in den Gonaden zu finden. Zum Zeitpunkt der letzten Fixierung war die Wachstumszone der meisten Ovarien fast vollständig aufgelöst, die beiden anschließenden Zonen (Synapsis- und Teilungszone) waren jedoch noch weitgehend erhalten. Bei einigen Weibchen waren abnorme OS 3 und OS 4 (unvollständige Vakuolisierung und/oder abnorme Kerne) festzustellen.

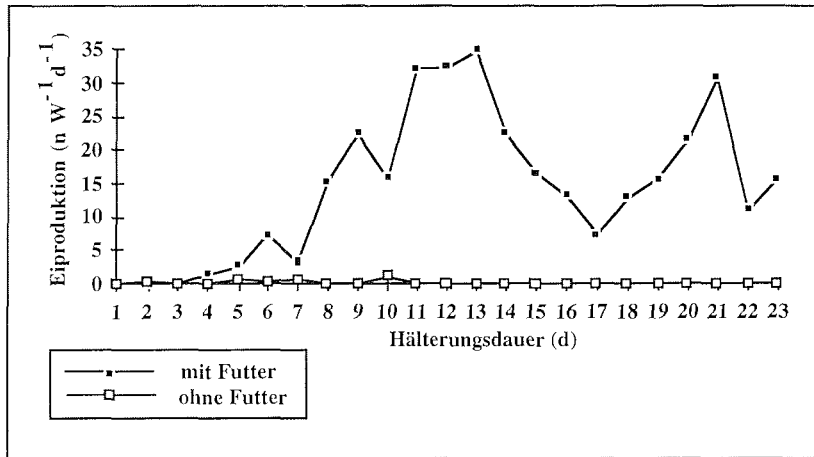


Abb. 4.15 Einfluß von Futter- und Hungersituation auf die Eiproduktionsrate von *C. finmarchicus* während eines Langzeitversuchs zwischen dem 22.3.1994 und dem 14.4.1994.

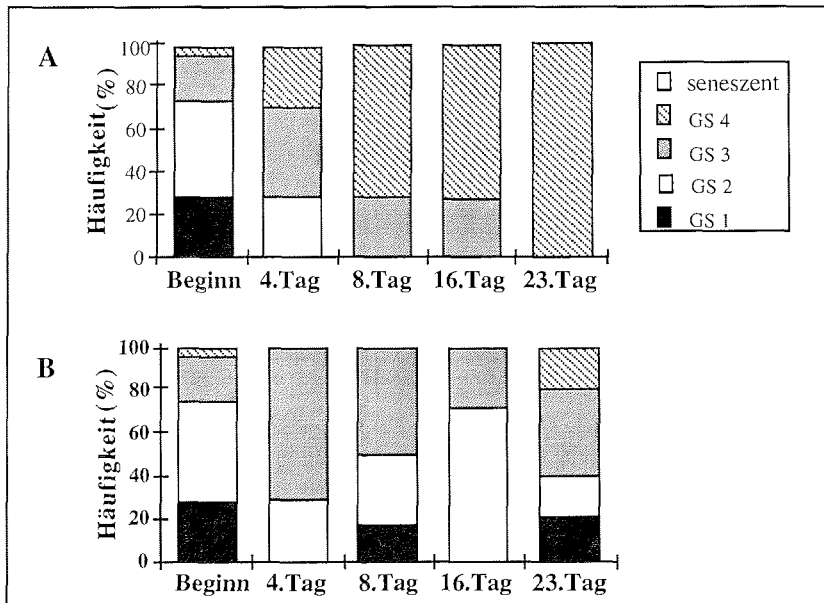


Abb. 4.16: Einfluß von Futter- und Hungersituation auf die Gonadenreifstadien von *C. finmarchicus* während eines Langzeitversuchs zwischen dem 22.3.1994 und dem 14.4.1994. Die Zusammensetzung der Gonadenreifstadien (GS) zu den verschiedenen Fixierungszeitpunkten bei gefütterten (A) und bei hungernden (B) Weibchen ist dargestellt, Beginn 50 untersuchte Weibchen; 4. bis 23. Tag 10 untersuchte Weibchen pro Fixierung und Versuchsansatz.

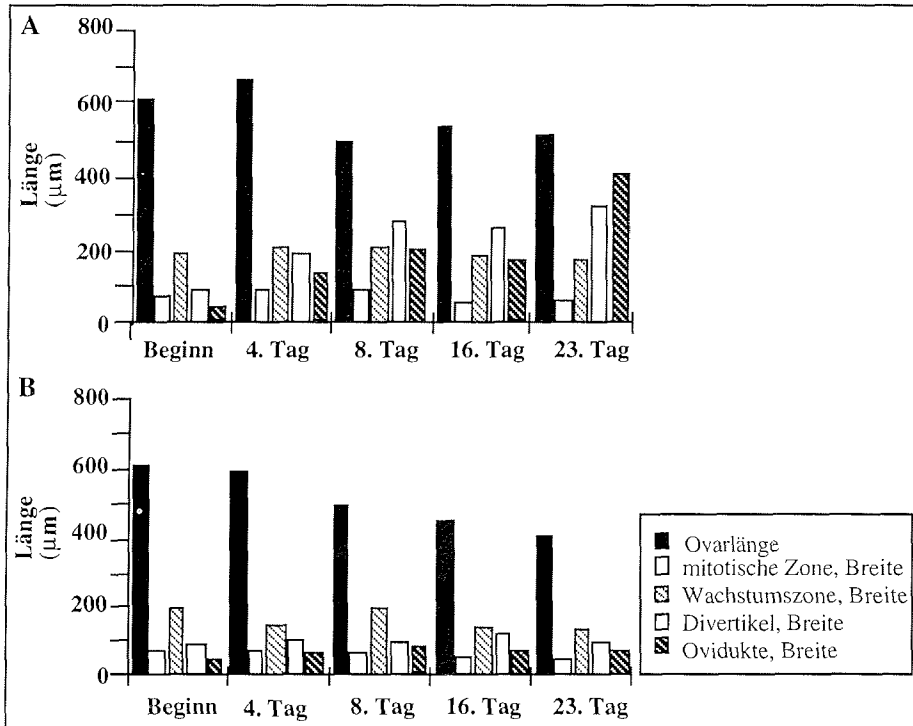


Abb. 4.17: Einfluß von Futter- und Hungersituation auf die Gonadengröße von *C. finmarchicus* während eines Langzeitversuchs zwischen dem 22.3.1994 und dem 14.4.1994. Dargestellt sind die Durchschnittswerte bei gefütterten (A) und nicht-gefütterten (B) Weibchen (Standardabweichung vergl. Tab. A.5 im Anhang), n vermessene Gonaden = 6-8.

Ergebnisse

Versuch 2 (Weibchen während der Phytoplanktonblüte gefangen)

Situation zu Versuchsbeginn

Zu Beginn des Versuchs am 25.4. betrug die in-situ-Eiproduktion 28 Eier $W^{-1} d^{-1}$, die Gonaden aller Weibchen waren im GS 4. Die histologische Untersuchung zeigte intakte Gonaden mit nur vereinzelt auftretenden Auflösungserscheinungen, wie sie seneszenten Weibchen zugeordnet werden (vergl. Kap. 4.1.2)

Gefütterte Weibchen

Die Eiproduktion sank während der ersten zwei Hälterungstage zunächst stark ab, blieb dann aber auf einem konstanten Niveau von ca. 10 Eiern $W^{-1} d^{-1}$, zum Ende des Versuches hin stieg sie wieder leicht (Abb. 4.18).

Die Gonaden dieser Weibchen veränderten sich in den ersten zwei Wochen der Hälterung nur wenig, der Großteil verblieb im GS 4 (Abb. 4.19-A). Am letzten Fixierungstermin waren die Gonaden etwa der Hälfte der Weibchen als seneszent einzustufen.

Die Präparation und anschließende Vermessung der Gonaden konnte an nur einem Termin durchgeführt werden, da die Mortalität hoch war und genügend Weibchen für die histologischen Untersuchungen zurückgehalten werden sollten. Der Versuch mit den gefütterten Weibchen mußte aufgrund der hohen Mortalität schon am 20. Tag der Hälterung abgebrochen werden. Bis zur dritten Woche waren die Divertikel und Ovidukte nur wenig schmaler geworden. Auch die Länge des Ovars ebenso wie die Breite der Wachstumszone nahmen nur wenig ab. Die Teilungszone war im Gegensatz dazu um ca. die Hälfte schmaler als zu Beginn des Versuchs (Abb. 4.20-A).

Die histologischen Untersuchungen spiegeln die Ergebnisse der Bestimmung des GS und der Vermessung der Gonaden wider. Die Weibchen, die an den ersten drei Terminen fixiert wurden, enthielten die für Gonaden im GS 4 charakteristischen Oocyten in den Stadien 1 bis 4. Erst bei der letzten Fixierung enthielten drei der sechs untersuchten Weibchen zahlreiche Oocyten, die sich im Stadium der Degeneration befanden; in der Wachstumszone des Ovars waren deutliche Zwischenräume zwischen den Zellen. In den übrigen drei Weibchen hingegen war der Großteil der Eizellen (OS 1 bis OS 3 bzw. OS 4) intakt, nur vereinzelte Oocyten waren degeneriert.

Nicht gefütterte Weibchen

Die Eiproduktionsrate sank innerhalb einer Woche auf 2 Eier $W^{-1} d^{-1}$. In den folgenden zwei Wochen bis zum Ende des Versuches legten die Weibchen nahezu keine Eier mehr (Abb. 4.18).

Schon nach einer Woche Hunger waren nur noch wenige Weibchen im GS 4, die Gonaden der meisten Weibchen waren im GS 2 und GS 3, der Anteil der Gonaden mit

Anzeichen für Seneszenz stieg auf über 20% (Abb. 4.19-B). Nach 23 Tagen waren ca. 75 % der Gonaden im GS 1, ca. 20% seneszent und nur noch ca. 5% im GS 3. Innerhalb der ersten Woche unter Hungerbedingungen wurden die Divertikel und Ovidukte um ca. die Hälfte schmäler als zu Beginn des Versuchs (Abb. 4.20-B). In den folgenden drei Wochen nahm die Breite langsam weiter ab bis sie mit ca. 100 μm nur noch ein Viertel (Divertikel) bzw. ein Drittel (Ovidukte) der ursprünglichen Maße betrug. Die Länge der Ovarien nahm signifikant ab (ANOVA $p = 0,0304$), die Breite der Wachstumszone des Ovars verringerte sich ebenfalls innerhalb der ersten Woche um ca. die Hälfte, verändert sich dann aber nicht mehr. Die Breite der Teilungszone nahm nach einem Maximum am sechsten Tag kontinuierlich im Laufe des Versuchs ab.

Alle histologisch untersuchten Weibchen wiesen abnorme Oocyten auf, die Wachstumszone der Ovarien war löcherig. Auch in der Synapsis- und der Teilungszone lagen Zwischenräume zwischen den Eizellen. Während nach sechs Tagen Laborhälterung noch intakte OS 1 und OS 2, selten auch OS 3 oder OS 4, vorlagen, waren die Gonaden der Weibchen, die am Ende des Experimentes fixiert wurden, fast vollständig aufgelöst. Dennoch befanden sich auch hier vereinzelt OS 4 in den Gonodukten.

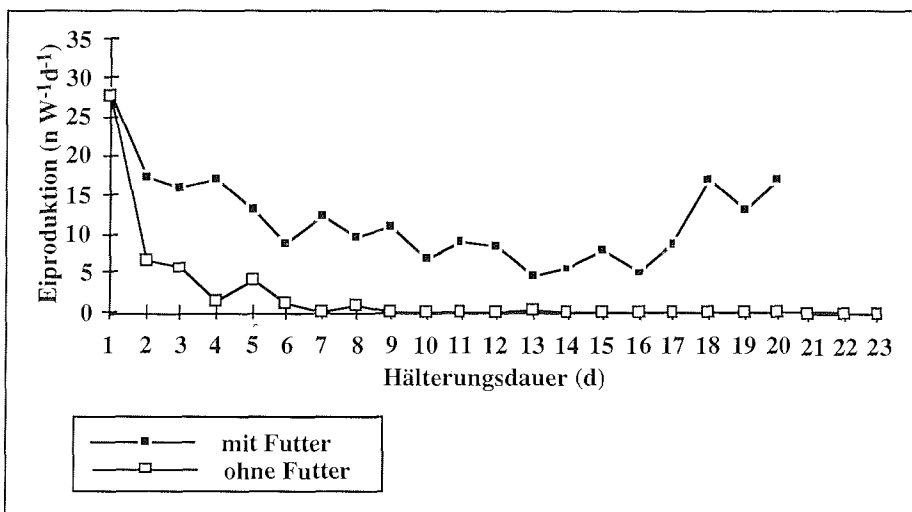


Abb. 4.18: Einfluß von Futter- und Hungersituation auf die Eiproduktionsrate von *C. finmarchicus* während eines Langzeitversuchs zwischen dem 25.4.1994 und 16.5.1994. Die Daten der gefütterten und der nicht gefütterten Weibchen sind im Vergleich dargestellt (y-Achse), x-Achse: Hälterungsdauer.

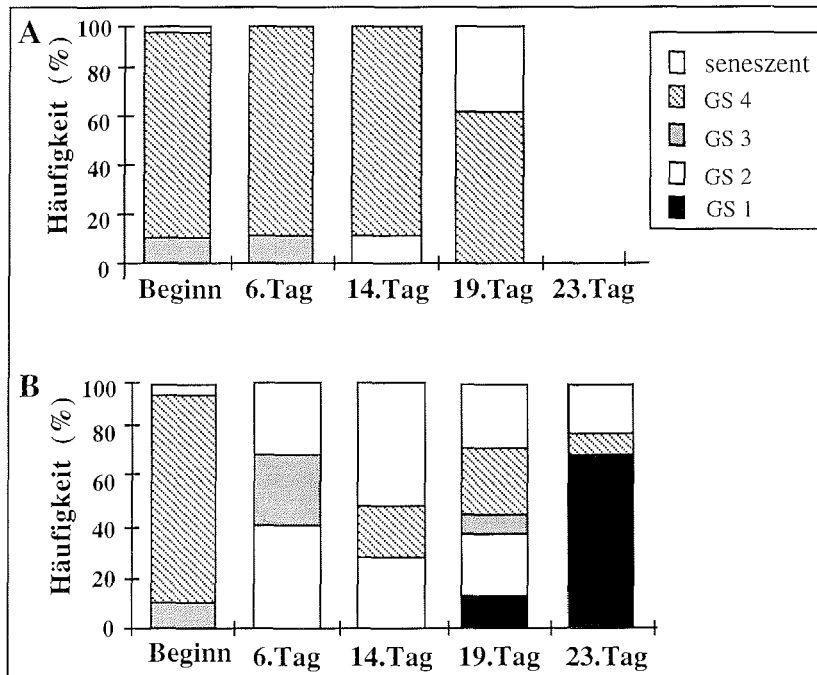


Abb. 4.19: Einfluß von Futter- und Hungersituation auf die Gonadenreifstadien von *C. finmarchicus* während eines Langzeitversuchs zwischen dem 25.4.1994 und dem 16.5.1994. Dargestellt wird die Zusammensetzung der Gonadenreifstadien (GS) zu den verschiedenen Fixierungszeitpunkten bei gefütterten (A) und bei nicht-gefütterten (B) Weibchen, n untersuchte Weibchen = 10.

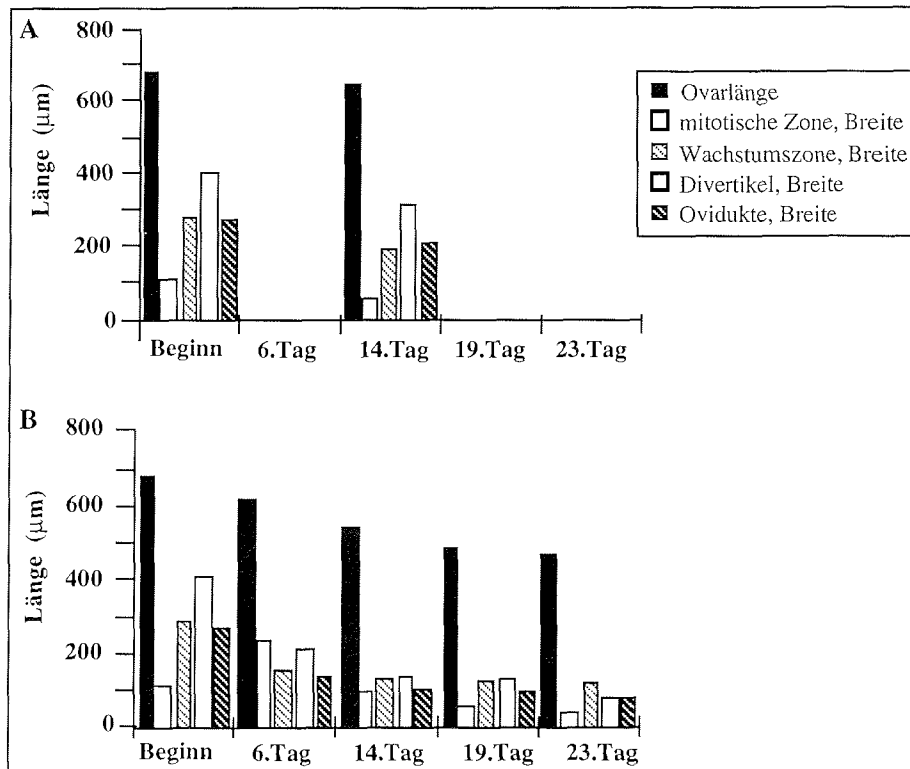


Abb. 4.20: Einfluß von Futter- und Hungersituation auf die Gonadengröße von *C. finmarchicus* während eines Langzeitversuchs zwischen dem 25.4.1994 und dem 16.5.1994. Dargestellt sind die Durchschnittswerte bei gefütterten (A) und nicht-gefütterten (B) Weibchen (Standardabweichungen vergl. Tab. A.6 im Anhang), n vermessene Gonaden 6 bis 8.

Vergleich der beiden Versuchsansätze

Bei beiden Versuchsansätzen war die Eiproduktionsrate der gefütterten Weibchen deutlich höher als die der hungernden Weibchen. Im Durchschnitt lag aber die Eiproduktion der Weibchen, die vor dem Einsetzen der Phytoplanktonblüte gefangen wurden, über der Produktion der Weibchen, die während der Phytoplanktonblüte gefangen wurden.

Die Veränderung der Gonaden unter den verschiedenen Nahrungsbedingungen hing von der Ausgangssituation ab: Hungernde Weibchen, die zum Zeitpunkt des Fangs im GS 2 waren, entwickelten sich nur bis zum GS 3 weiter. Die Breite der Divertikel und Ovidukte veränderte sich nur wenig, allerdings nahm die Länge der Ovarien ab. An den gefärbten Totalpräparaten zeigten sich keine Anzeichen von Seneszenz. Im Gegensatz dazu reduzierten sich die Gonaden der meisten hungernden Weibchen, die beim Fang im

Ergebnisse

GS 4 waren, innerhalb kurzer Zeit und waren als seneszent einzuordnen. Die Länge bzw. Breite der Ovarien, Divertikel und Ovidukte nahm ab. Gefütterte Weibchen entwickelten sich zum GS 4 (gefangen vor der Phytoplanktonblüte, 21.3.) bzw. blieben im GS 4 (gefangen während der Phytoplanktonblüte, 25.4.).

Die histologische Untersuchung ergab, daß sich die Morphologie und damit auch der physiologische Zustand der Oocyten in allen Fällen veränderte. Unter Hungerbedingungen traten in beiden Versuchsansätzen abnorme Oocyten in großer Anzahl auf, in der Wachstumszone der Ovarien bildeten sich Zwischenräume zwischen den Eizellen. In gefütterten Weibchen entwickelten sich immer OS 3 und OS 4. Am Ende beider Versuchsansätze waren abnorme Oocyten zu finden, allerdings in erheblich geringerem Ausmaß als bei hungernden Weibchen.

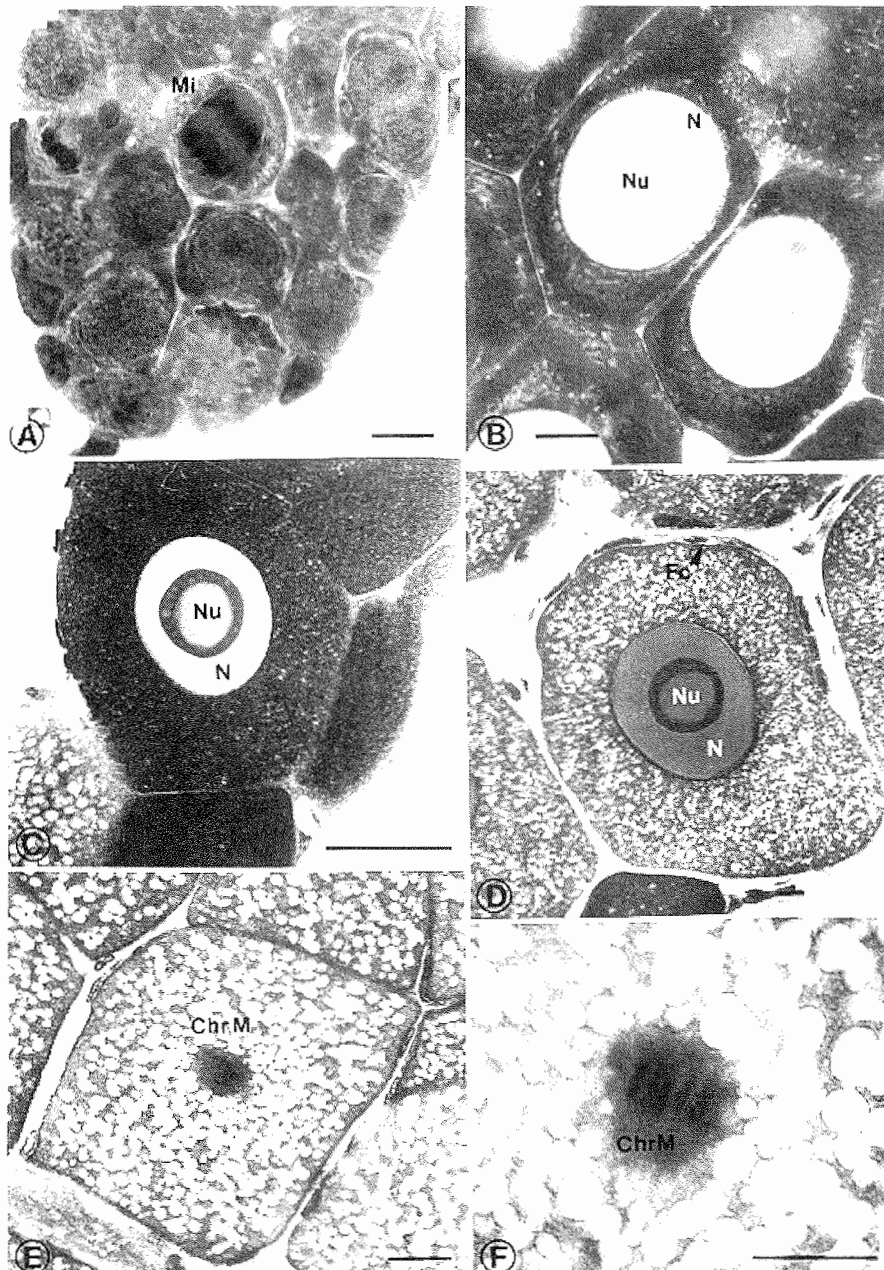
4.2 *Calanus glacialis*

In diesem Kapitel werde ich die Ergebnisse zu den Untersuchungen an *Calanus glacialis* darstellen. Eine Dokumentation des Reifungsprozesses der Gonaden von *C. glacialis* konnte ich nicht durchführen, weil die Weibchen bei Beginn der Probennahme (August 1994) schon ablegebereit waren. Die Fragen nach der Morphologie der Oocyten und der Gonaden, nach dem Reifungsprozeß der Oocyten zwischen zwei Eiablagen und der Vorhersagbarkeit der Eiproduktion anhand fixierter Proben sollten anhand des folgenden Versuchs beantwortet werden (vergl. Kap. 3.5.3.1). Die *C. glacialis*-Weibchen wurden in Kulturschalen gehältert und mit *Thalassiosira antarctica* gefüttert. Die Eiproduktion wurde täglich kontrolliert. Die Weibchen, bei denen weitgehend konstante Legeintervalle beobachtet wurden, fixierte ich in Abständen von 0, 24, 48 und 72 h nach der Eiablage. Zwischen dem Fang der Tiere und dem Beginn des Versuchs lagen ca. 3 Wochen, in denen die Tiere nicht gefüttert werden konnten.

4.2.1. Morphologie

4.2.1.1 Morphologie der Oocyten

Nach der lichtmikroskopischen Untersuchung entsprachen sich die Oocyten von *C. glacialis* und *C. finmarchicus* hinsichtlich ihrer generellen Morphologie. Auch bei *C. glacialis* ließen sich die Oocyten anhand der im Kapitel 4.1.1 beschriebenen Charakteristika in vier Stadien einteilen (Tab. 4.3, Fototafel III B-F). Die Entwicklung der Oocyten ging wie bei *C. finmarchicus* mit einer deutlichen Größenzunahme einher (Abb. 4.21). Zur Darstellung der Größenzunahme der Oocyten wurde die maximale Anschnittsfläche verwendet, da die Durchmesser der Oocyten sehr stark variierten (vergl. Kap. 3.4.2). Die mittleren Durchmesser der verschiedenen Oocytenstadien sind Tab. 4.5 zu entnehmen.



Fototafel III: Oocytenreifstadien (OS) von *C. glacialis*. A: Mitose, Teilungszone des Ovars; B: OS 1; C: OS 2; D: OS 3; E: OS 4; F: OS 4, Chromosomen auf der Äquatorialebene der Metaphase I. Mi = Mitose, N = Nucleus, ChrM = Metaphase-Chromosomen, Fc = Follikelzellschicht. Maßstäbe: A, B: 10 μm ; C, D: 50 μm ; E = 25 μm ; F = 20 μm .

Tab. 4.3 Charakteristika der Entwicklungsstadien der Oocyten (OS) von *C. glacialis* nach lichtmikroskopischen Untersuchungen. Angegeben wird das Erscheinungsbild im Lichtmikroskop (Färbung der Schnitte mit Richardson Blue), D = Durchmesser mit Standardabweichung; vermessene Oocyten je Stadium = 100, insgesamt 24 bearbeitete Weibchen; KM = Kernmembran; Übergangsstadien werden nicht berücksichtigt.

OS	D (µm)	Querschnitt	Kern	KM	Ooplasma
1	44 ± 11	sechseckig	rund und zentral, Nucleolus vorhanden	intakt	dunkel gefärbt ohne helle Vesikel
2	139 ± 19	oval	rund und zentral, Nucleolus vorhanden	intakt	dunkel gefärbt ohne helle Vesikel
3	162 ± 27	rund	lappig, zentral bis peripher, häufig mit dicker Follikelzell- schicht, Nucleolus vorhanden, aber spätes OS 3 mit beginnender Auflösung	beginnende Auflösung	helle Vesikel anfangs um Kern, später im Ooplasma verteilt
4	207 ± 42	unregelmäßig	aufgelöst bis auf Chromosomen, diese sind in Metaphase I- Konfiguration	aufgelöst	helle Vesikel im gesamten Ooplasma verteilt

In Gonaden, die aus mit Boraxkarmin gefärbten Weibchen heraus präpariert wurden, ließen sich OS 3 und OS 4 ohne histologische Untersuchung von den jüngeren Oocytenstadien unterscheiden. OS 3 und OS 4 erschienen heller und das Ooplasma stärker strukturiert als OS 1 und OS 2. OS 4 waren eindeutig anhand des fehlenden Nucleus zu identifizieren.

Allerdings waren in allen lichtmikroskopisch untersuchten Weibchen abnorme Oocyten vorhanden. Die Tiere waren in einem insgesamt schlechten Zustand: Zum Teil waren sie von Pilzen befallen, die Muskulatur erschien gegenüber Tieren aus dem Freiland zurückgebildet, die Zellen des Darms waren ebenfalls reduziert. Cytologische Details, wie Einstülpungen der Follikelzellschicht in das Ooplasma oder die Unterscheidung zwischen dotter- oder lipidgefüllten Vesikel, konnten nicht eindeutig nachgewiesen werden. Dennoch beschreibt die Einteilung der Stadien die Oocyten in den Gonaden von *C. glacialis* durchaus zuverlässig.

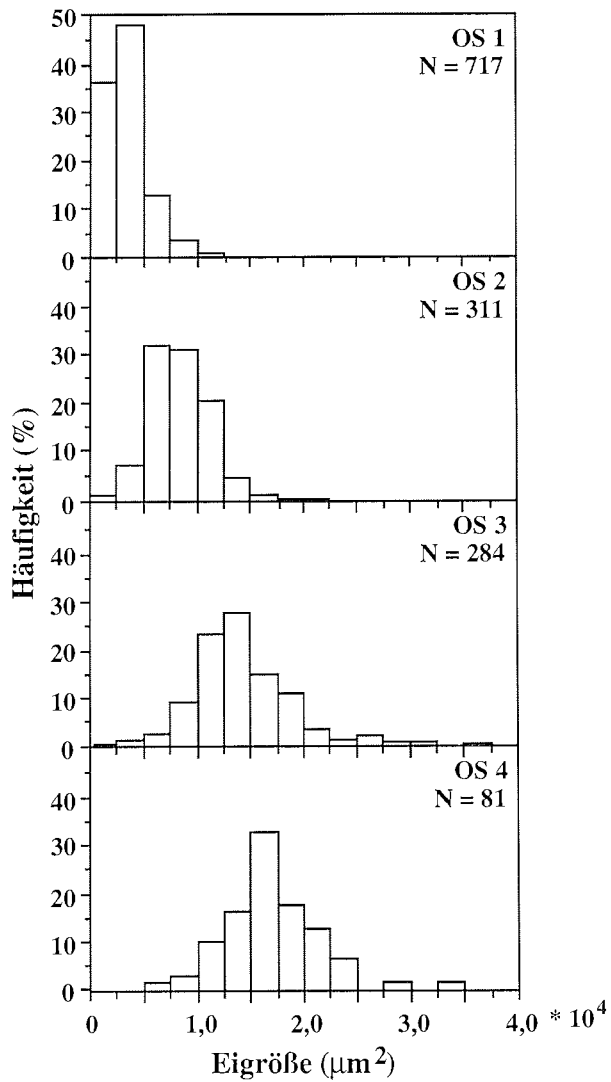


Abb. 4.21: Größenhäufigkeits-Verteilungen der Oocyten von *C. glacialis* in unterschiedlichen Entwicklungsstadien (OS). Aufgetragen wurde die maximale Querschnittsfläche der Oocyten in histologischen Schnitten als Maß für die Eigröße. Die Skalierung der y-Achse wurde den Werten entsprechend unterschiedlich gewählt.

4.2.1.2 Morphologie der Gonaden

Der Aufbau der Gonaden der *Calanus glacialis*-Weibchen entsprach dem bei *C. finmarchicus* beschriebenen Muster (vergl. Kap. 3.3): Das dorsal liegende, längliche Ovar war durchschnittlich 561 μm lang ($\pm 151 \mu\text{m}$) lang und gliederte sich in drei morphologisch abgrenzbare Abschnitte. Diese waren auch in den präparierten Gonaden gut zu unterscheiden, was die Vermessung einzelner Zonen ermöglichte. In der Spitze des Ovars befand sich eine Zone mitotischer Teilung (Fototafel III A), die durchschnittlich 111 μm ($\pm 36 \mu\text{m}$) breit war. Daran schloß sich nach vorne eine Zone an, deren Eizellen durch einen sehr großen zentralen Nucleus mit einem oder mehreren Nucleoli gekennzeichnet waren. Diese Zellen besaßen einen nur sehr dünnen Bereich mit Ooplasma. In der wiederum nach vorne folgenden Zone waren OS 1 zu finden, die von hinten nach vorne an Größe zunahmten. Diese Wachstumszone war im Durchschnitt 141 μm ($\pm 62 \mu\text{m}$) breit und nahm den größten Teil des Ovars ein. Vom Ovar zweigten zwei Divertikel nach vorne hin ab, während zwei Ovidukte lateral nach hinten bis zur Geschlechtsöffnung führten.

In den Gonodukten befanden sich Entwicklungsstadien von OS 1 bis OS 4, die sich folgendermaßen auf die Gonaden verteilten: OS 1 waren in der Wachstumszone des Ovars und im ersten Drittel der Gonodukte zu finden. In den Divertikeln und Ovidukten schlossen sich nach vorne und nach ventral mehrere Schichten OS 2 an, die von dorsal nach ventral an Größe zunahmten. Ventral der OS 2 lag eine Schicht OS 3, unter der sich bei einigen Weibchen noch eine Schicht OS 4 befand.

In den Divertikeln und Ovidukten waren Oocyten der gleichen Stadien zu finden. Außerdem waren sowohl die mittleren Größen als auch die Größenhäufigkeits-Verteilungen (Abb. 4.22) der Oocyten in den Divertikeln und Ovidukten ähnlich. Da keine Normalverteilungen vorliegen, wird das geometrische Mittel zur Beschreibung eines mittleren Wertes angegeben: in den Divertikeln betrug die mittlere Größe 596 μm^2 und in den Ovidukten 568 μm^2 . Auch mit Hilfe statistischer Verfahren ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Verteilung der Oocytengrößen (Kolmogorov-Smirnov Test, $p = 0,0797$) und der mittleren Größen der Oocyten in den Divertikeln und den Ovidukten nachweisen (U-Test nach Mann-Whitney, $p = 0,1995$), wenn die Meßdaten aller untersuchten Weibchen in den Test miteinbezogen wurden. Bei der statistischen Überprüfung der Meßdaten der einzelnen Weibchen hingegen fanden sich signifikante Unterschiede bei 6 (Kolmogorov-Smirnov-Test) und 5 (U-Test nach Mann-Whitney) der 21 Weibchen (vergl. Tab. A 7 im Anhang).

Ergebnisse

Stadienverteilung, Größenhäufigkeits-Verteilungen und mittlere Größe der Oocyten in Divertikeln und Ovidukten zeigen, daß auch bei dieser *Calanus*-Art der Entwicklungsstand der Oocyten in Divertikeln und Ovidukten gleichermaßen von dorsal nach ventral hin zunimmt.

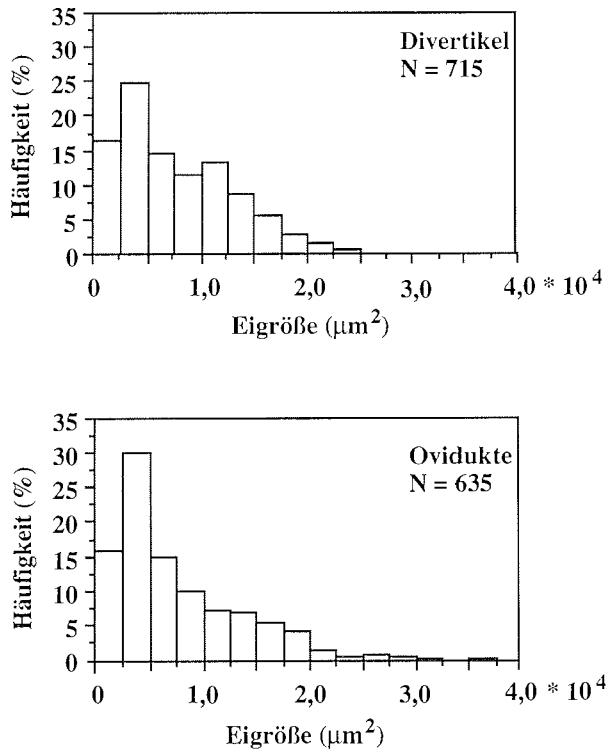


Abb. 4.22: Größenhäufigkeits -Verteilungen der Oocyten von *C. glacialis* in Divertikeln und Ovidukten; als Maß für die Größe wird der Querschnitt der Oocyten in μm² angegeben. Es wurden die Daten von insgesamt 21 eierlegenden Weibchen berücksichtigt.

4.2.2 Reifungsprozeß der Oocyten zwischen zwei Eiablagen

Im Versuch legten die meisten Weibchen alle zwei bis vier Tage Eier ab. Daher wurden die Abstände, in denen nach der Eiablage fixiert wurde, auf 24 h Intervalle festgelegt (0, 24, 48 und 72 h nach der Eiablage). In diesem Kapitel werden nur die Ergebnisse der histologischen Untersuchung dargestellt, da die Vermessungen der Gonaden keine Veränderungen der Größe der Divertikel und Ovidukte in dem Zeitraum zwischen zwei Eiablagen ergaben.

Während einer Eiablage legten die *Calanus glacialis*-Weibchen alle OS 4 ab. In der Regel wurde die ventrale Schicht bis 48 h nach der Eiablage von jungen OS 3 oder großen OS 2 gebildet. Nach 78 h waren ventral fortgeschrittene OS 3 zu finden. OS 4 waren immer in den Weibchen enthalten, die während eines Ablagevorganges fixiert wurden (48 oder 72 h nach der ersten Eiablage). Übergangsstadien zwischen OS 3 und OS 4 wurden bei dieser Untersuchung nicht gefunden.

Allerdings war die Variabilität zwischen den einzelnen Weibchen sehr hoch: So waren auch 72 h nach der Eiablage bei zwei von sechs Weibchen ventral junge OS 3 zu finden. Umgekehrt wurde eine ventrale Schicht fortgeschrittener OS 3 nach schon 48 h in einem von 5 und nach 72 h in 3 von 6 Weibchen nachgewiesen. OS 4 waren, außer in den eierlegenden Weibchen, in nur jeweils einem Weibchen 48 und 72 h nach der Eiablage vertreten. Die OS 4 bildeten aber in allen Fällen die am weitesten ventral liegende Schicht Oocyten.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Reifung der Oocyten wie bei *C. finmarchicus* synchron innerhalb der ventralen Schicht von OS 3 bis zu OS 4 erfolgte. Der genaue zeitliche Ablauf kann hier nicht rekonstruiert werden, weil die Variabilität zwischen den einzelnen Weibchen sehr hoch war und vor allem die Reifung zum OS 4 innerhalb des Beobachtungsraumes von 72 h in nur wenigen Weibchen erfolgte. Die Größenhäufigkeits-Verteilung der reifenden Oocyten (OS 3 und OS 4) zeigte jedoch eine Tendenz zur Größenzunahme und damit Weiterentwicklung der Eizellen (Abb. 4.23). Nur bei Weibchen, die nach 72 h fixiert worden waren, war diese Tendenz nicht ausgeprägt.

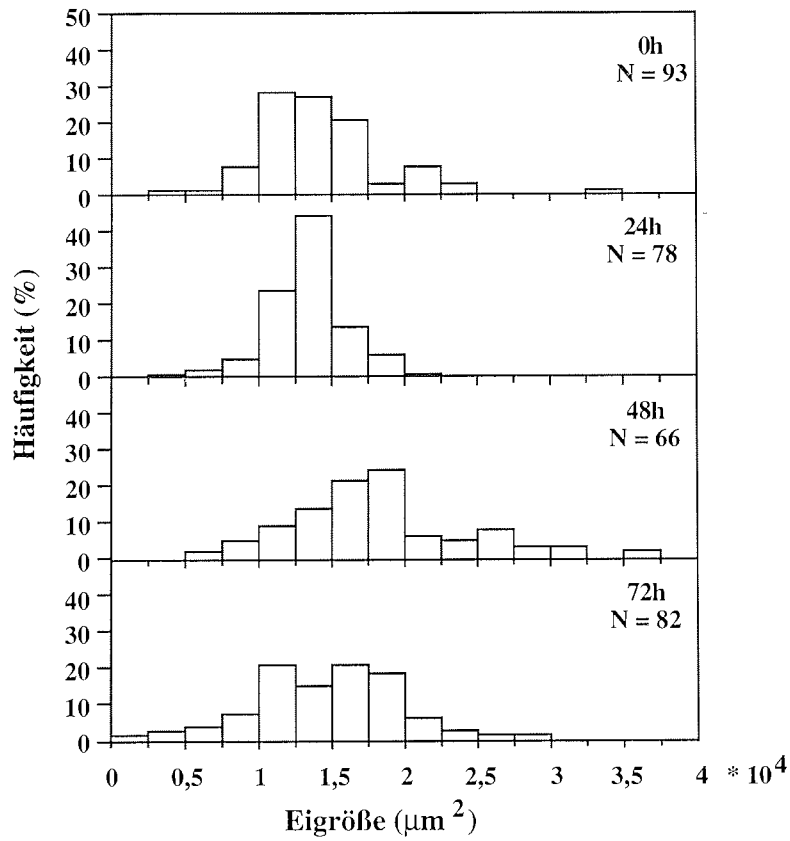


Abb. 4.23: Größenhäufigkeits-Verteilung der reifenden Oocyten von *C. glacialis* im zeitlichen Verlauf innerhalb eines Legeintervalls (0, 24, 48 und 72 h). Dargestellt sind nur OS 3 und OS 4, aufgetragen wurde die maximale Querschnittsfläche der Oocyten im histologischen Schnitt.

4.2.3 Abschätzung der Gelegegröße

Während des Experimentes variierte die Eiproduktion von *Calanus glacialis* zwischen 2 und 11 Eiern $W^{-1} d^{-1}$ (Abb. 4.24). Die Gelegegröße schwankte zwischen 9 (minimaler Wert, vergl. Kap. 3.5.2) und 89 Eiern bei einem Durchschnitt von 29 Eiern pro Gelege. Im täglichen Durchschnitt bewegte sich die Gelegegröße zwischen 21 und 31 Eiern pro Gelege (vergl. Tab. A.8 im Anhang). Die Unterschiede waren nicht signifikant (ANOVA, $p = 0,0737$).

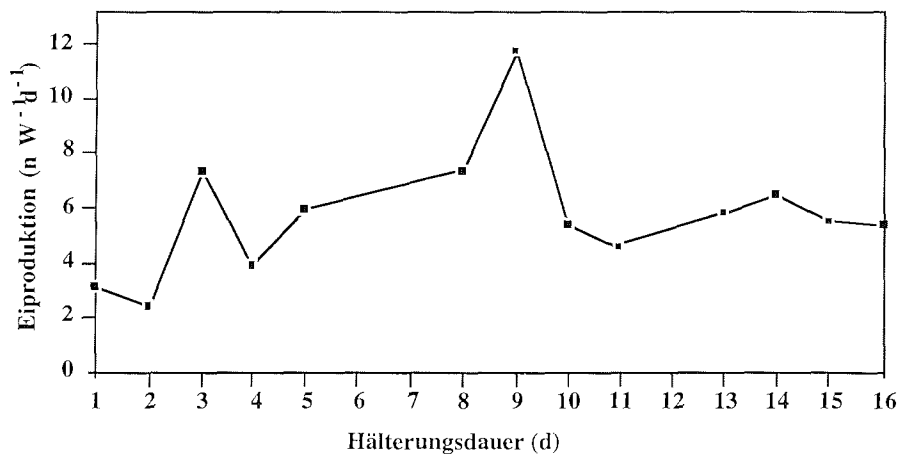


Abb. 4.24: Zeitliche Entwicklung von Eiproduktionsrate von *C. glacialis* im Labor zwischen 23.8. und 7.9.1993, n Weibchen = 180. Dargestellt ist die durchschnittliche Eiproduktionsrate, wegen der Übersichtlichkeit wurden keine Fehlerbalken aufgetragen, vergl. dazu Tab. A.8 im Anhang.

Nach Abschluß der Hälterung wurden die regelmäßig legenden Weibchen fixiert und die OS 3 und OS 4 in den histologischen Schnitten bzw. die ventral reifenden Oocyten in präparierten Gonaden gezählt. Die erwartete Gelegegröße (EGG, vergl. Kap. 4.1.4.2), die sich aus diesen Daten ergab, lag bei 39 Eiern. Sie ist damit signifikant höher als die bei der Hälterung ermittelte durchschnittliche Gelegegröße von 29 Eiern (ANOVA, $p = 0,001$). Der Vergleich der individuellen mit der erwarteten Gelegegröße bestätigt, daß auch bei Betrachtung der einzelnen Weibchen, die erwartete Gelegegröße (EGG) meist höher liegt (Abb. 4.25). Bei mehr als 50 % der Weibchen liegt der Wert jedoch innerhalb der Standardabweichung. Anhand einer Regressionsgeraden ließ sich dennoch ein

Ergebnisse

signifikanter Zusammenhang zwischen der erwarteten (EGG) und der mittleren individuellen (MIGG) Gelegegröße herstellen ($R^2 = 0,223$; $p = 0,0265$) (vergl. Tab. A.9 und Abb. A.2 im Anhang).

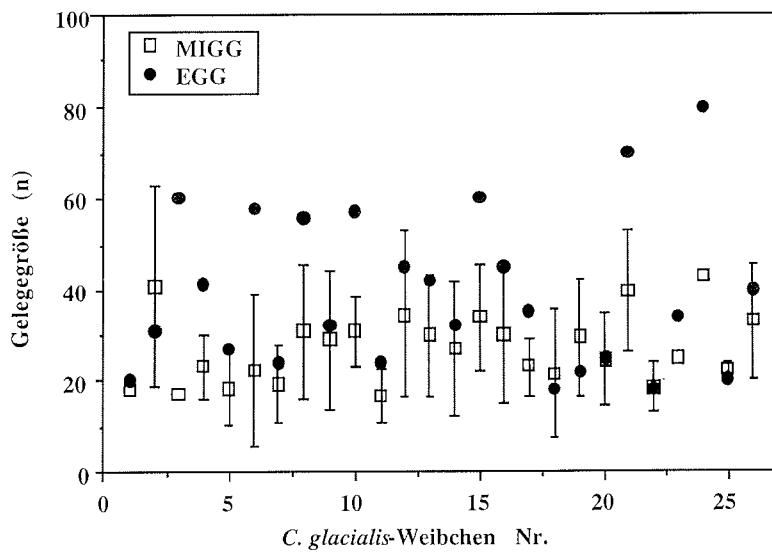


Abb. 4.25: Erwartete (EGG) und tatsächliche individuelle Gelegegröße (MIGG) von *C. glacialis* bei 16 tägiger Laborhaltung. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung (MIGG) und EGG für 26 Individuen.

4.3 *Calanus hyperboreus*

Calanus hyperboreus-Weibchen wurden im August 1993 in der Grönlandsee gefangen und anschließend für mehrere Monate im Kühllabor gehalten (vergl Kap. 3.5.1). Neben der täglichen Kontrolle der Eiproduktion wurde in mindestens monatlichen Abständen die Morphologie der Gonaden in den lebenden Weibchen erfaßt, um die Veränderungen während der Entwicklung zu dokumentieren. Während der Phase der maximalen Reproduktion wurden die Gonaden über 14 Tage täglich kontrolliert. Diese Daten gaben Aufschluß über die Veränderung des Gonadenzustandes in der Zeit zwischen den Eiablageereignissen. Die histologischen Untersuchungen der Oocyten waren schwierig (vergl. Kap. 4.3.1.2). Oocytenreifstadien konnten nicht klassifiziert werden. Daher verzichte ich auf die Darstellung der Morphologie der Oocyten in einem eigenen Kapitel, sondern beschreibe die Entwicklung der Gonaden auf histologischer Ebene, worin die Ergebnisse zur lichtmikroskopischen Untersuchung der Oocyten einfließen.

4.3.1 Morphologie und Entwicklungsstadien der Gonaden

4.3.1.1 Aufbau und Reifestadien der Gonaden

Der Aufbau der Gonaden von *Calanus hyperboreus* entsprach mit der Unterteilung in Ovar, Divertikel und Ovidukten demjenigen der beiden anderen *Calanus*-Arten (vergl Kap. 4.1.2 und Kap. 4.2.2). Während die Ovarien nur zu Beginn der Beobachtung an Größe zunahmen, veränderte sich im Laufe der Entwicklung die Morphologie der Divertikel und Ovidukte aufgrund der darin befindlichen Oocyten gravierend. Anhand morphologischer Charakteristika entwickelte ich daraus das folgende Schema zur Klassifizierung verschiedener Gonadenreifstadien (GS):

Ergebnisse

GS 1:	keine Oocyten in Divertikeln und Ovidukten sichtbar
GS 2:	eine Reihe kleiner durchsichtiger Oocyten in Divertikeln und Ovidukten sichtbar
GS 3:	mehrere Reihen kleiner durchsichtiger Oocyten in Divertikeln und Ovidukten sichtbar
GS 4:	hellbraune oder -orange, große Oocyten ventral in Divertikeln und Ovidukten erkennbar
GS 5:	dunkelbraune oder -orange große Oocyten liegen ventral in Divertikeln und Ovidukten (Im Auflicht erscheinen die Oocyten im Tier orange, während sie im Durchlicht braun wirken.)
seneszent	vereinzelte Oocyten in den Gonaden, häufig verstopfen amorphe Oocyten die Gonodukte, Ovarien z.T. ohne oder mit nur sehr kleiner Wachstumszone

Die Anzahl der Oocyten spielte bei der Beurteilung der Stadien 4 und 5 keine Rolle. Im Verlauf der genauen Beobachtung der Gonaden zeigte sich, daß im GS 5 zwei Erscheinungsbilder auftauchen: 5a - Oocyten mit sichtbarem Nucleus und 5b - Oocyten ohne sichtbaren Nucleus.

Dieselben Stadien ließen sich auch bei formfixierten und gefärbten Weibchen identifizieren, mit Ausnahme der Differenzierung in GS 4 und GS 5. Bei der Fixierung und der anschließenden Färbung wurden die kleinen durchsichtigen Oocyten der lebenden Tiere dunkelrot gefärbt. Anhand ihrer Anzahl in den Divertikeln und Ovidukten ließen sich die Gonadenreifestadien GS 1 bis GS 3 unterscheiden. GS 4 und GS 5 waren durch größere, stark strukturierte und häufig weniger deutlich angefärbte Eizellen gekennzeichnet. In einigen Weibchen ließ sich die bräunliche Färbung der lebenden Eizellen zwar noch erkennen, die Farbunterschiede zur Charakterisierung von GS 4 und GS 5 verschwanden aber im fixierten Zustand. GS 5a und GS 5b waren durch die Auflösung des Nucleus eindeutig gegeneinander abzugrenzen.

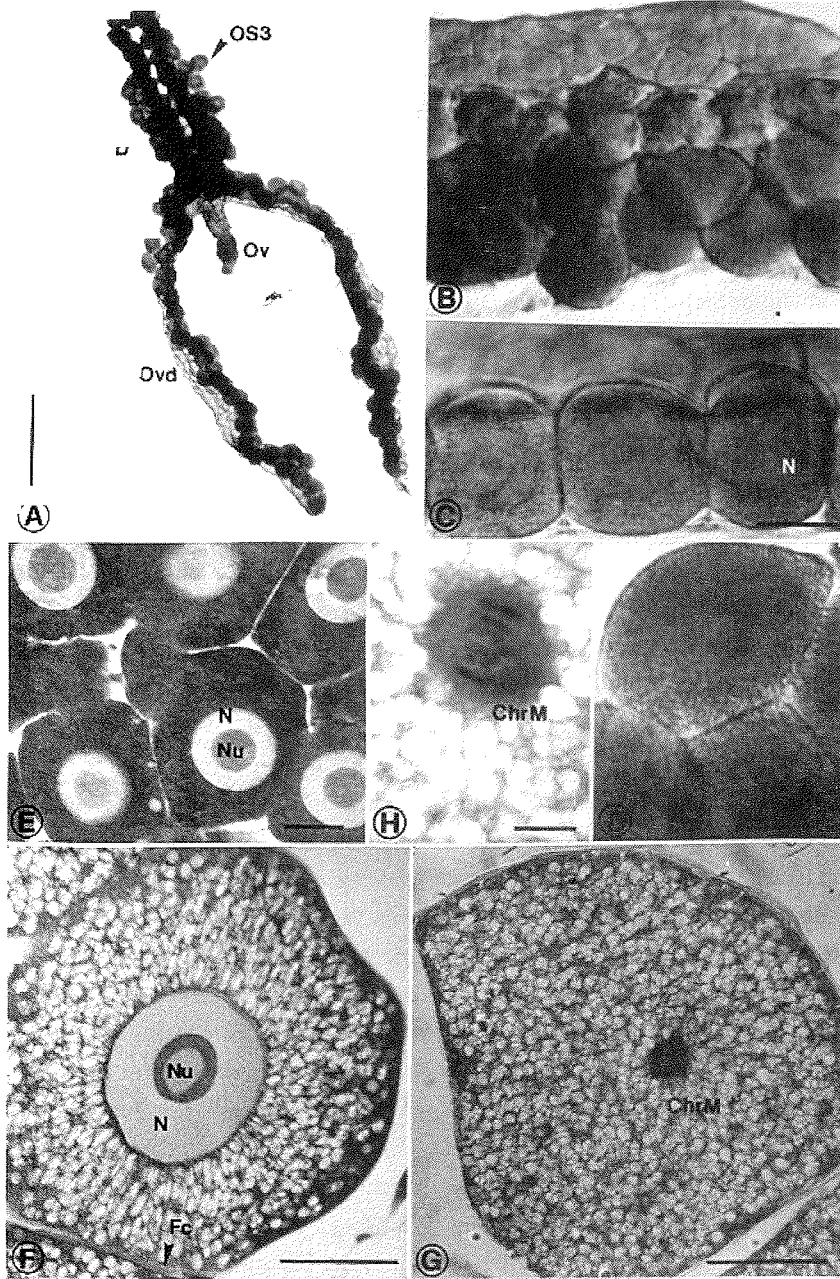
4.3.1.2 Histologische Untersuchungen zur Gonadenentwicklung

Die histologische Bearbeitung der Tiere war methodisch problematisch. Der Kunststoff war nicht vollständig in das Gewebe der Gonaden eingedrungen, was Löcher in den Schnitten bewirkte, oder er war nicht ausgehärtet. Im Bereich der Gonaden kam es dabei bei der Anfertigung histologischer Schnitte zu sehr starken Stauchungen oder in weiten Teilen sogar zur Zerstörung der Zellen. Eine detaillierte Darstellung der Cytologie kann daher an dieser Stelle nicht erfolgen. Dennoch erlauben die Ergebnisse eine vorsichtige Interpretation:

In den Ovarien ($605 \pm 92 \mu\text{m}$ lang) sind drei Zonen zu unterscheiden, von denen die erste, hinten liegende, aufgrund der mitotischen Teilungsstadien als Teilungszone zu bezeichnen ist ($157 \pm 133 \mu\text{m}$ breit). Daran schließt sich nach vorn eine weitere Zone an, in der die Eizellen in die Prophase I der Reifeteilung eintreten (Synapsiszone). In der darauffolgenden Zone nahmen die Zellen von hinten nach vorne an Größe zu (Wachstumszone, $177 \pm 176 \mu\text{m}$ breit).

In den Gonadenreifestadien GS 1, GS 2 und GS 3 fand ich in der Wachstumszone, den Divertikeln und den Ovidukten stark gefärbte Eizellen mit vollständig von einer Kernmembran umschlossenen Nuclei (Fototafel IV). In GS 4 und GS 5 traten ventral größere Oocyten mit relativ großen Vesikeln auf, die ähnlich wie die OS 3 von *C. finmarchicus* und *C. glacialis* aufgebaut sind. In einigen Weibchen waren die Oocyten mit einer dicken Follikelzellschicht umgeben. Sie enthielten einen Nucleus mit einer intakten Kernmembran und fädigen Chromosomen, im Ooplasma waren nur mäßig viele Vesikel enthalten (Fototafel IV). Bei anderen Weibchen war die Follikelzellschicht um die Oocyten deutlich dünner, die Kernmembran war weitgehend aufgelöst, die Chromosomen erschienen kondensiert und das Ooplasma war mit Vesikeln angefüllt. Eine eindeutige Abgrenzung von GS 4 gegen GS 5a anhand der Morphologie der Oocyten war mit der Histologie nicht möglich. Es wurde jedoch die Tendenz deutlich, daß sowohl die Anzahl der Vesikel im Ooplasma als auch die Auflösung der Kernmembran von GS 4 zu GS 5 zunehmen. Außerdem erschienen die Chromosomen im GS 5a stärker kondensiert. Zusätzlich habe ich bei jeweils fünf Weibchen im GS 4 und im GS 5a die Oocyten (insgesamt 176 Oocyten) aus präparierten Gonaden vermessen. Vom GS 4 ($112 \pm 19 \mu\text{m}$ Durchmesser) bis zum GS 5a ($147 \pm 21 \mu\text{m}$ Durchmesser) wuchsen die Oocyten signifikant an (ANOVA, $p < 0.0001$).

GS 5b war deutlich durch Oocyten gekennzeichnet, deren Chromosomen sich in der Metaphase I der Reifeteilung befanden (Fototafel IV). Diese entsprechen den OS 4 von *C. finmarchicus* und *C. glacialis*. Die Untersuchung von Weibchen, die während der Eiablage fixiert wurden, zeigte, daß diese Oocyten abgelegt wurden.



Fototafel IV: *C. hyperboreus*. A: Totalpräparat Gonade im GS 5a; B: Divertikelspitze (präpariert) im GS 5b, dorsal junge Oocyten, ventral reifere Oocyten; C: Oocyten (präpariert) mit Nucleus (GS 5a), D: reife Oocyten (präpariert), Nucleus nicht sichtbar (GS 5b); E: junge Oocyten; F: Oocyte mit vielen Vesikeln, entspricht OS 3; G: Oocyte kurz vor der Eiablage; Chromosomen auf der Äquatorialebene der Metaphase I. D = Divertikel, Ov = Ovar, Ovd = Ovidukt, OS 3 = reife Oocyten mit Nucleus (GS 5a), N = Nucleus, ChrM = Metaphase-Chromosomen, Fc = Follikelzellschicht. Maßstäbe: A = 100 mm; B, C, D = 100 µm; E, H = 10 µm; F, G = 50 µm

In den Gonaden lagen die kleinen Oocyten dorsal. In dorso-ventraler Richtung nahmen sie an Größe zu, so daß ventral immer die Schicht mit den am weitesten entwickelten Oocyten lag. In GS 4 und GS 5 wurde diese Schicht von Oocyten mit Vesikeln gebildet. Auch im GS 5b lagen die reifen Oocyten mit kondensierten Chromosomen in der Metaphase I der Reifeteilung ventral. In den Divertikeln und Ovidukten waren immer Oocyten der gleichen Entwicklungsstufen zu finden, die sich über die gesamte Länge der Gonodukte verteilten. Eine Vermessung der Oocyten war aufgrund der starken Stauchungen der Schnitte nicht möglich.

4.3.2 Gonadenentwicklung im Labor

Zu Beginn der Beobachtungen im August 1993 waren die Gonaden der Weibchen noch unreif (GS 1 oder GS 2), im Verlauf der folgenden Wochen aber entwickelte sich der größte Teil bis zum GS 3 (Abb. 4.26). Nur etwa die Hälfte der Weibchen vollendete den Reifungsprozeß und legte Eier ab, während die Gonaden der anderen Tiere im GS 3 verbleiben.

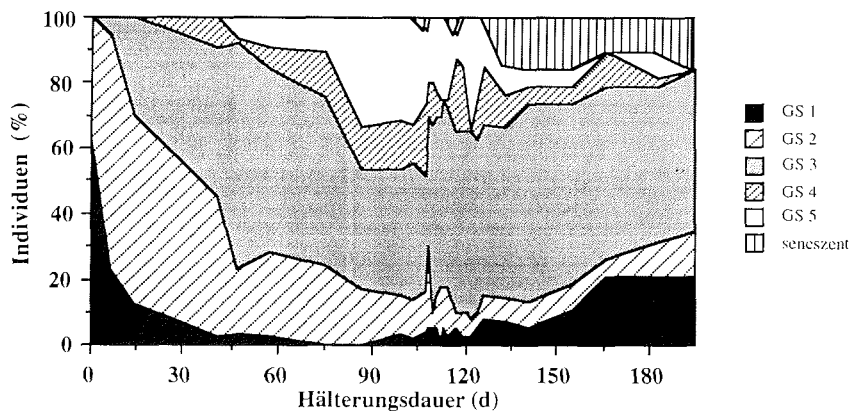


Abb. 4.26: Gonadenreifestadienverteilung von *C. hyperboreus* im Labor (Beginn 18.8.1993, Ende 28.2.1994). Dargestellt sind die Gonadenreifestadien (GS) in Prozent.

Ergebnisse

Im September traten bei den ersten Weibchen hellbraune Oocyten (GS 4) auf, die sich wenige Tage später dunkelbraun verfärbten (GS 5). Alle Weibchen, deren Gonaden sich bis zum GS 4 entwickelt hatten, vollendeten die Reifung (GS 5) und legten definitiv Eier ab. GS 4 und GS 5 sind damit die Stadien, in denen die Gonaden reif sind. Im November und Dezember (90.-100. Tag im Labor) erreichte der Anteil der reifen Gonaden (GS 4 und GS 5) maximale Werte von 45 %. Ab Ende Dezember verringerte sich der Anteil reifer Gonaden, bis am Ende der Untersuchung (28.2.) keine reifen Gonaden mehr vorhanden waren. Senescente Gonaden waren ab Anfang Dezember zu finden. Ihr Anteil erhöhte sich bis Ende Februar auf 14 %. Im gleichen Zeitraum stieg die Zahl der Gonaden im GS 1 wieder an. Bei diesen Weibchen handelte es sich jedoch nur zu einem geringen Teil um unreife Tiere (ca. 5%), die sich im gesamten Beobachtungszeitraum nicht entwickelt hatten. Bei dem größeren Teil der Weibchen waren die Gonaden nach der Reproduktionsperiode degeneriert und im lebenden Zustand nicht von unreifen, jungen Weibchen im GS 1 zu unterscheiden. Dabei erfolgte die Reduktion der Gonaden zum GS 1 bei den meisten Weibchen über das als 'seneszent' beschriebene Stadium. Einige Weibchen jedoch enthielten direkt nach Ablage der letzten Eier keine (GS 1) oder nur kleine Oocyten (GS 2) in Divertikeln und Ovidukten .

Die Entwicklungszeiten der Gonaden der einzelnen Weibchen waren sehr verschieden. So lag die Zeitspanne des Reifungsprozesses vom GS 3 zum GS 5 zwischen 2 und 33 Tagen. Das GS 4 dauerte zwischen 1 und 5 Tagen. Vom Beginn des GS 5 bis zur ersten Eiablage vergingen 4 bis maximal 26 Tage.

Kurz vor der Eiablage schollen die Eizellen zu länglichen Tuben an, so daß einzelne Zellen nur schlecht gegeneinander abzugrenzen waren. Im Laufe eines Ablagevorganges, der in 15 bis 20 Minuten abgeschlossen war, wurden alle dunkelbraunen Oocyten abgegeben. Danach waren die Weibchen meist im GS 4, häufig allerdings auch im GS 3. Innerhalb weniger Tage färbte sich wiederum die ventrale Schicht Oocyten dunkel- bzw. hellbraun (GS 4 bzw. GS 5). Die abschließende Reifung der Oocyten erfolgte damit synchron in der jeweils ventralen gelegenen Schicht.

Legten die Weibchen mehrfach innerhalb des Versuches ab, variierte die Dauer des GS 5 zwischen einzelnen Eiablageereignissen von 4 bis 37 Tagen. Dabei dauerte das GS 5a zwischen 2 und 35 Tagen, während die Phase des GS 5b, in dem in den Oocyten kein Nucleus mehr sichtbar ist, relativ kurz und wenig variabel war. Sie lag bei durchschnittlich 2 Tagen (zwischen einem Tag und 4 Tagen).

4.3.3 Eiproduktion

Während des gleichen Versuchs, bei dem die Entwicklung der Gonaden dokumentiert wurde (vergl. Kap. 3.3), wurde die Eiproduktion der Weibchen täglich erfasst. Diese Ergebnisse werden nachfolgend dargestellt.

Innerhalb einiger Tage, nachdem reife Gonadenstadien (GS 4 und GS 5) nachgewiesen wurden, stieg die Eiproduktionsrate an (Abb. 4.27).

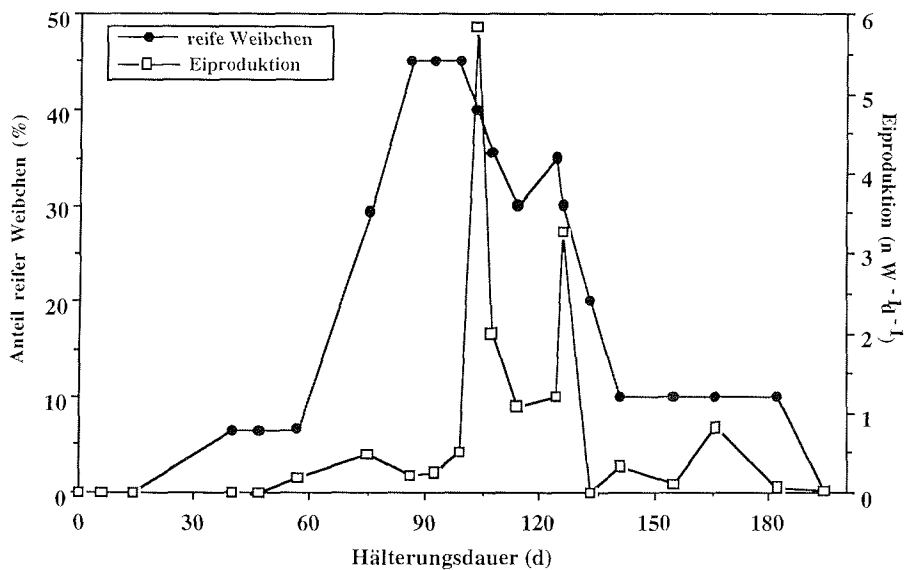


Abb. 4.27: Auftreten reifer Weibchen (in Prozent - y Achse 1) und Eiproduktion (Eier $W^{-1} d^{-1}$, y-Achse 2) bei *C. hyperboreus* im Labor, zwischen 18.8.1993 und 28.2.1994. Zur besseren Übersicht wurden die Eiproduktionsraten nur an den Tagen, an denen auch die Gonadenreifestadien bestimmt wurden, aufgetragen, die erste nachgewiesene Eiablage ist eingeschlossen, ebenso der Tag mit der maximalen Eiproduktion.

Die ersten Eier wurden Mitte Oktober (nach ca. 60 Labortagen) gefunden, die Phase maximaler Reproduktion lag jedoch zwischen Mitte November und Ende Dezember. Zum Ende der Untersuchung hin nahm die Eiproduktion deutlich ab. Die Eiproduktionsrate schwankte zwischen 0 und ca. 6 Eiern $W^{-1} d^{-1}$. 18 der 36 beobachteten Weibchen legten Eier ab. Die Abstände zwischen den Eiablagen variierten zwischen 4 und 38 Tagen. Die meisten Weibchen (8) legten allerdings nur einmal, die anderen zwischen 2 und 6 mal

Ergebnisse

innerhalb des Beobachtungszeitraums ab. Die Gelegegröße variierte zwischen 9 (kleinste angenommene Größe für ein Gelege vergl. Kap. 3.5.1.2) und 204. Die meisten Gelege bestanden aus 9 - 17 Eiern, die geometrischen und arithmetischen Mittel waren 30 und 42 Eier pro Gelege (Abb. 4.28).

Die nachfolgende Beobachtung der Eier zeigte, daß bis zum Ende der Untersuchung im Februar aus den meisten Eiern Nauplien schlüpften. Ein Teil der Eier aber war entweder direkt nach dem Legen oder später zerplatzt. Die Reste der Eier bildeten dann einen schmutzigen Film an der Wasseroberfläche. Außerdem waren in allen Kulturschalen, in denen reproduzierende Weibchen gehalten wurden, Faeces zu finden. Vielfach hatten die Weibchen einen bräunlich-orange gefärbten Darm, wahrscheinlich durch gefressene Eier.

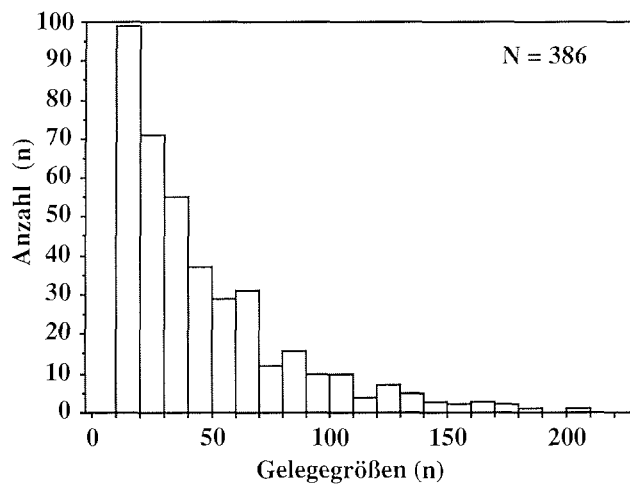


Abb. 4.28: Gelegegrößenklassen von *C. hyperboreus* (Laborhaltung von 23. August 1993 bis zum 28. Februar 1994). Dargestellt ist die absolute Anzahl der Gelege in den verschiedenen Größenklassen. Gelege < 10 Eier ($n = 6$) wurden nicht in die Abbildung mit einbezogen

4.3.4 Abschätzung der Eiproduktion

Anhand der Gonadenreifestadien GS 4 und GS 5 ließ sich bestimmen, welche Weibchen sich in der Reproduktionsphase befanden (vergl. Kap. 4.1.4). Eine relativ genaue Angabe zum Zeitpunkt der Eiablage war durch das Auftreten des GS 5b kurz vor dem Ablegen (vergl. Kap. 4.3.3) möglich. Um zusätzlich die Eiproduktion quantitativ abschätzen zu können waren mehr Weibchen als die 18 reproduzierenden aus dem vorherigen Versuch (vergl. Kapitel 4.3.3 und 4.3.4.) nötig. Daher hälterte ich weitere 100 Weibchen in Kulturschalen, kontrollierte täglich die Eizahlen und berechnete daraus die mittlere Gelegegröße. Diese Ergebnisse werden im Vergleich mit Beobachtungen zur Morphologie und Präparation der Gonaden dargestellt.

Das geometrische Mittel der Gelegegröße lag während der Hälterung bei 34 Eiern pro Gelege, die Größe der Gelege variierte zwischen 9 und 204 Eiern. Auch hier liegt keine Normalverteilung der Gelegegrößen vor.

Schon an den lebenden Weibchen von *C. hyperboreus* ließ sich an der Färbung der Oocyten erkennen, ob eine oder mehrere Reihen Oocyten dem abschließenden Reifungsprozeß unterlagen. Die durchschnittliche Gelegegröße bei Tieren, die nur eine Reihe reifer Oocyten (Abb. 4.29-B) aufwiesen, war mit $26 (\pm 15)$ signifikant kleiner (ANOVA $p < 0,0001$) als die der Weibchen mit mehreren Reihen (Abb. 4.29-A) (69 ± 44). Da hier die Werte normalverteilt sind, gebe ich das arithmetische Mittel an.

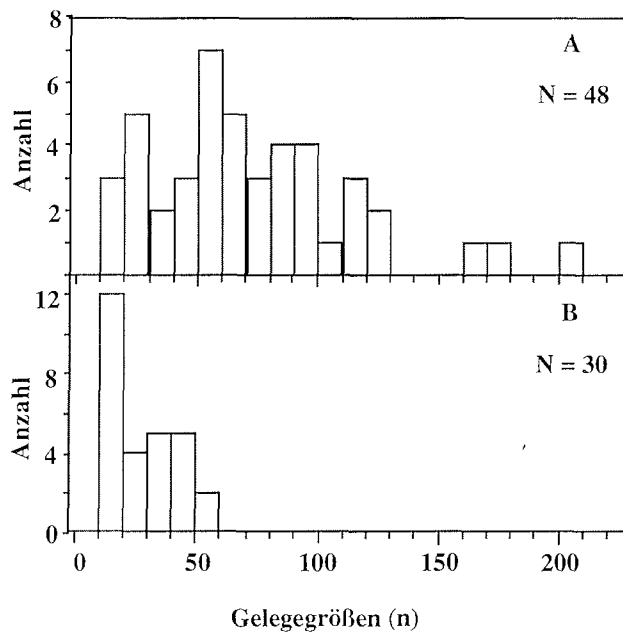


Abb. 4.29: Größenklassen-Häufigkeitsverteilung der Gelegegrößen bei *C. hyperboreus* von Weibchen mit mehreren Reihen reifender Oocyten (A) und von Weibchen mit einer Reihe reifender Oocyten. Gelege < 10 Eier (A n = 3; B n = 2) wurden nicht in die Abbildung mit einbezogen

Während einer Eiablage wurden allen dunkelbraunen Oocyten abgegeben. Erst danach verfärbte sich die nächste Schicht Oocyten und vollendete synchron die Entwicklung (vergl. Kap. 4.3.1). Daraus schließe ich, daß die Anzahl der Oocyten im abschließenden Reifungsprozeß - diese sind anhand der Färbung und der Morphologie zu identifizieren - in präparierten, reifen Gonaden (GS 4 und GS 5) der zu erwartende Gelegegröße (EGG) entspricht.

Insgesamt wurden 14 Weibchen im GS 4 und GS 5 präpariert und die reifenden Oocyten gezählt. Die so ermittelte EGG variierte zwischen 40 und 122 und lag damit im Bereich der im Experiment ermittelten Gelegegröße (9-204 Eier). Allerdings war die durchschnittliche erwartete Gelegegröße mit 74 Eiern (geometrisches Mittel) (arithmetisches Mittel 79 ± 30) deutlich höher als das im Experiment ermittelte Mittel von 34 Eiern pro Gelege. Auch der Vergleich der individuellen Daten zeigt, daß die erwartete Gelegegröße (EGG) über der mittleren individuellen Gelegegröße (MIGG) liegt, meistens sogar noch oberhalb der Standardabweichung (Abb. 4.30). Eine Korrelation zwischen

der EGG und der MIGG war nicht festzustellen ($R^2 = 0,108$, $p = 0,257$, Tab. A 10 im Anhang).

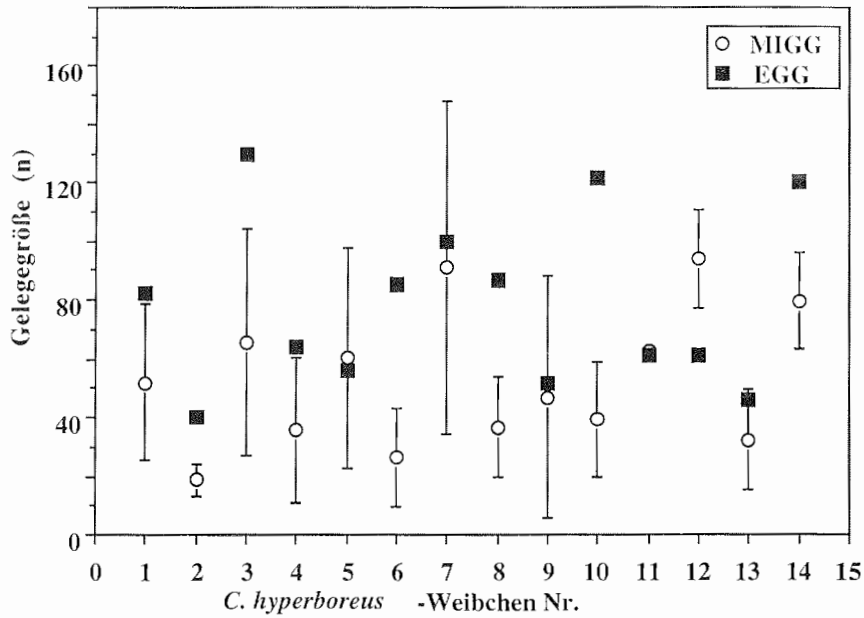


Abb. 4.30: Größe der Gelege von *C. hyperboreus* während 6-monatiger Laborhaltung (durchschnittliche Gelegegröße der einzelnen Weibchen, die Linien entsprechen der Standardabweichung) im Vergleich mit der erwarteten Gelegegröße (Anzahl von OS 3 oder OS 4 in den Gonaden, ermittelt anhand histologischer Schnitte oder präparierter Gonaden).

5 Diskussion

In den folgenden Kapiteln werde ich die verschiedenen Aspekte meiner Untersuchungen zur Reproduktionsbiologie von *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* und *C. hyperboreus* vergleichend darstellen. Am Anfang steht eine Methodendiskussion. Die lichtmikroskopische Bearbeitung der Oocyten war die Grundlage für weitergehende Untersuchungen und wird daher im Anschluß behandelt. Nachfolgend werde ich auf die Morphologie und die Entwicklung der Gonaden eingehen, woran sich die Diskussion der Vorhersagbarkeit der Eiproduktion anschließt. Als letzten Punkt werde ich den Einfluß der Nahrungsbedingungen auf die Reproduktion erörtern.

5.1 Methodendiskussion

5.1.1 Histologische Arbeitsgänge

Die histologische Untersuchung der drei *Calanus*-Arten bildet einen wesentlichen Teil meiner Arbeit. Sie liefert Informationen über die Morphologie der Oocyten und der Gonaden, die die Grundlage sind für die Bearbeitung weiterführender Fragestellungen wie des Zusammenhanges zwischen den Nahrungsbedingungen und der Reproduktion. Für eine standardisierte Untersuchung vieler Individuen, wie sie in dieser Arbeit durchgeführt wurde, mußte die Methodik der Fixierung und der Einbettung zunächst in Vorversuchen entwickelt werden. Im folgenden Kapitel werden daher zunächst die Arbeitsgänge im Vergleich zu anderen gebräuchlichen Methoden kurz diskutiert. Im Anschluß wird auf Probleme bei der Bearbeitung der drei *Calanus*-Arten hingewiesen.

Fixierung

Mit einer Fixierung soll die Struktur eines lebenden Gewebes bzw. einer Zelle erhalten werden. Um Autolysevorgänge zu verhindern und damit die bestmögliche Strukturhaltung zu gewährleisten, werden die Organismen lebend in die Fixierlösung überführt (BURCK 1982). Bei den in dieser Arbeit untersuchten *Calanus*-Arten zeigte sich, daß zusätzlich die Extremitäten entfernt und die Chitinhülle geöffnet werden mußten, um eine ausreichende Fixierung zu erreichen.

Die meisten gebräuchlichen Fixierungsflüssigkeiten, wie z.B. Formol oder Glutaraldehyd, bewirken eine Fixierung - vereinfacht ausgedrückt - durch die Denaturierung von Eiweißen mit anschließender Vernetzung der Moleküle (BURCK

1982). Fetttropfen werden dabei von Eiweiß umschlossen und meist nicht wirklich fixiert. Organische Lösungsmittel, die nach der Fixierung für die Entwässerung der Gewebe eingesetzt werden, lösen diese Fette, wodurch "Löcher" im Cytoplasma verbleiben (BURCK 1982).

Das in dieser Arbeit verwendete Fixiergemisch nach KARNORVSKY (1965) verbindet die guten Penetrationseigenschaften des Formaldehyds mit der stabilisierenden Wirkung des Glutaraldehyds (ROMEIS 1989). Dieses Fixanz wurde schon vielfach für die elektronenmikroskopische Untersuchung von Copepoden eingesetzt (z.B. RAYMONT et al. 1974, ARNAUD et al. 1978, BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH 1984, BLADES-ECKELBARGER 1986) und lieferte in dieser Arbeit auch für die lichtmikroskopischen Untersuchungen an Keimzellen gute Ergebnisse.

In den Voruntersuchungen wurden weitere Fixantien getestet (vergl. Kap. 3.4), die von anderen Autoren für die Fixierung von Copepoden verwendet wurden (HILTON 1931, PARK 1966). Bei keiner dieser Lösungen war jedoch die Fixierung der Zellstrukturen in den Oocyten ausreichend. Außerdem enthielten einige der Lösungen hochgiftige Substanzen (Dubrosq-Brasil: Pikrinsäure; Krallinger: Chromsäure), die nur schwer zu handhaben und zu entsorgen sind.

Einbettung

Die Einbettung des Gewebes erfolgte in Technovit 7100, einem Kunststoff auf der Basis von Glykoldmethacrylat. Paraffin war, wie die Vorversuche zeigten, nicht für eine standardisierte Einbettung der Copepoden geeignet: Beim Schneidvorgang wurde häufig das gesamte Tier aus dem Paraffinblock gebrochen. Auch bei intakten Schnitten erschienen die Oocyten deformiert und stärker geschrumpft als bei den in Kunststoff eingebetteten Objekten.

Die Einbettung in Epoxidharzen (Epon oder Araldit) lieferte von der Qualität her ähnliche Ergebnisse wie Technovit 7100, allerdings sind die bei dieser Einbettung benötigten Chemikalien weitaus giftiger (WEAKLEY 1981). Außerdem sind bei einer Einbettung mit Epoxidharzen nur Schnitte < 1 µm Dicke möglich. Technovit 7100 hingegen erlaubte Schnittdicken von 5 µm. Epoxidharze sind zudem visköser als Methacrylate, benötigen eine deutlich längere Infiltrationszeit (GLAUERT 1975) und härten erheblich langsamer. Während die Einbettung des Gewebes in Technovit 7100 innerhalb von 24 bis 48 h erfolgte, dauert dieser Vorgang in Epon oder Araldit ca. eine Woche.

Probleme bei der Histologie

Insbesondere bei *Calanus finmarchicus* führte die verwendete Methode zu guten Ergebnissen. Die histologischen Schnitte der beiden anderen Arten *C. glacialis* und

Diskussion

C. hyperboreus waren hingegen zum Teil von minderer Qualität: Hier war oft der Kunststoff in weiten Bereichen der Gonade nicht ausgehärtet. Auffallend war, daß die reifen Oocyten (OS 3 oder OS 4) zumeist intakt waren, während das Ovar und die jüngeren Oocyten mehr oder weniger stark zerstört waren.

Folgende Gründe könnten dafür verantwortlich sein: Bei den untersuchten Weibchen handelte es sich durchweg um Tiere, die über längere Zeit gehältert worden waren (*C. glacialis*: ca. 4 Wochen unter schlechten Nahrungsbedingungen; *C. hyperboreus*: ca. 8 Monate). Fixierungen für histologische Untersuchungen sollten jedoch immer an möglichst frisch gefangenem Material durchgeführt werden (BURCK 1982, ROMEIS 1989). Ein Hinweis darauf, daß die lange Hälterung der Weibchen von *C. glacialis* und *C. hyperboreus* ein Grund für die schlechte Qualität der Schnitte gewesen sein kann, zeigt der Vergleich mit den Vorversuchen, bei denen die Fixierung der Tiere direkt nach dem Fang vorgenommen wurde. Dort waren die Gewebe deutlich besser erhalten als bei den Hauptversuchen.

Zu geringe Fixier- und Infiltrationszeiten sind als Grund für die schlechtere Qualität der Schnitte wahrscheinlich auszuschließen, da die Zeiten entsprechend der Größe der Tiere verlängert wurden. Außerdem traten sowohl in der Peripherie als auch im Inneren des Gonadengewebes dieser beiden Arten Stauchungen oder sogar Löcher im Kunststoff auf. Diese Tiere waren aber ebenfalls geöffnet worden und das Keimgewebe war so in direktem Kontakt mit den Lösungen, eine schnelle Diffusion war hier also gewährleistet. Eine insgesamt schlechte Fixierung ist ebenfalls auszuschließen, wie das gut erhaltene Muskel- und Darmgewebe belegt.

Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, daß der physiologische Zustand der Weibchen von *C. hyperboreus* und *C. glacialis* einen wesentlichen Einfluß auf die Qualität der Schnitte hatte.

5.1.2 Untersuchung der Gonaden

Die Untersuchung der Gonaden erfolgte lichtmikroskopisch mit den histologischen Methoden (vergl. Kap. 5.1.1) als auch makroskopisch, wobei die Gonaden mit Boraxkarmin (*Calanus finmarchicus*, *C. glacialis*, *C. hyperboreus*) gefärbt wurden. Ergänzt wurden diese Untersuchungen durch Lebendbeobachtung (*C. hyperboreus*).

5.1.2.1 Färbung der Gonaden

Durch die Chitinhülle der Copepoden sind die Gonaden zwar relativ gut zu erkennen, Einzelheiten lassen sich aber, insbesondere bei fixierten Tieren, häufig nur ungenügend differenzieren. Daher gehört eine Anfärbung zu den Standardmethoden bei der Untersuchung der Gonaden (MARSHALL & ORR 1955, TANDE & HOPKINS 1981, KURBJEWIT 1993, HAGEN & SCHIEL in Vorbereitung). Bei einer gelungenen Färbung setzen sich die Gonaden deutlich vom umgebenden Gewebe ab. Als geeignete Färbelösungen haben sich Boraxkarmin (TANDE & HOPKINS 1981) und Fast-Green (BATCHELDER 1986) erwiesen. Fast-Green, ein Farbstoff, mit dem BATCHELDER (1986) bei *Metridia longa* und KURBJEWIT (1993) bei *Calanus propinquus* und *M. gerlachii* gute Färbungen erzielt hatten, färbte bei den untersuchten *Calanus*-Arten nicht selektiv die Gonaden, sondern den gesamten Körper an und wurde daher nicht verwendet. Stattdessen wurde in dieser Arbeit Boraxkarmin als Farbstoff verwendet. Allerdings wurde die Lösung nach ROMEIS (1968) abgewandelt (Methylboraxkarmin), da sie sich nach diesem Verfahren erheblich schneller herstellen läßt und die gleichen Ergebnisse bringt.

Boraxkarmin eignete sich besonders für die Gonadenfärbung bei *Calanus finmarchicus* und *C. glacialis*. Bei *C. hyperboreus* kann die Unterscheidung der Gonaden von anderen Geweben im Einzelfall schwierig werden, da sich nicht nur die Gonaden deutlich rot färben, sondern auch die Muskulatur gefärbt wird. Bei allen Arten nahmen die jungen, im lebenden Tier transparenten Oocyten eine dunkelrote Farbe an, während die reiferen, im lebenden Tier farbigen Oocyten z.T. nur schwach hellrot gefärbt wurden, wie auch von MARSHALL & ORR (1955) beobachtet. Dies kann dazu führen, daß die reifen Oocyten übersehen und daher das reife Gonadenstadium (GS 4) nicht identifiziert wird. Bei unsicheren Fällen empfiehlt es sich daher, die gefärbten Gonaden aus dem Tier herauszupräparieren.

5.1.2.2 Lebendbeobachtung

Die genaue Beobachtung der Gonaden bei lebenden Weibchen war nur bei *Calanus hyperboreus*, der größten der drei *Calanus*-Arten, möglich. Anhand der im lebenden Tier sehr deutlichen Verfärbung der Oocyten während ihres Reifungsprozesses war die Entwicklung der Gonaden sowohl im Laufe der Monate als auch zwischen zwei Eiablagen gut zu verfolgen. Für fixierte Proben ist die direkte Übernahme des Schemas zur Gonadenreife aus der Lebendbeobachtung problematisch, da die Farbunterschiede innerhalb des abschließenden Reifungsprozesses (hellbraun

entspricht GS 4, dunkelbraun GS 5) nicht mehr deutlich zu erkennen sind. Daher wurde Gonaden mit reifen Oocyten (hellrosa gefärbt) nur ein Gonadenstadium zugeordnet (GS 4).

5.1.3 Experimentelle Bestimmung der Eiproduktionsraten und der Gelegegrößen

Ein Ziel dieser Arbeit war, die Zusammenhänge zwischen den morphologischen Charakteristika der weiblichen Gonaden in ihren unterschiedlichen Entwicklungsstadien und der Eiproduktion zu untersuchen. Daher war die Bestimmung der Eiproduktionsraten bzw. der Gelegegrößen während der Hälterung ein wichtiger Teilaspekt und soll an dieser Stelle diskutiert werden. Aufgrund der unterschiedlichen Reproduktionsbiologie der untersuchten Arten wurden verschiedene Methoden verwendet.

Calanus finmarchicus

Bei *Calanus finmarchicus* wurden sowohl die in-situ Eiproduktionsraten als auch die Eiproduktionsraten in Experimenten ermittelt (vergl. Kap. 3.5.1.1). Da die Reproduktion von *C. finmarchicus* eng an die Phytoplanktonblüte gekoppelt ist (z.B. HEINRICH 1962, DIEL & TANDE 1992), wurde ein Teil der Weibchen gefüttert, der andere nicht, um die Reproduktion bei fehlender Nahrungsversorgung zu untersuchen. Die größten Probleme bei der Hälterung sind Ei-Kannibalismus und Nahrungsversorgung. Ei-Kannibalismus wurde durch die Hälterung der Weibchen in speziellen Bechergläsern verhindert. Diese Methode wurde bei der Bestimmung der Eiproduktionsraten schon vielfach angewendet (RUNGE 1984, HIRCHE & BOHRER 1987, SMITH 1990). Die beobachteten Produktionsraten entsprechen den Werten früherer Publikationen und sind als zuverlässig einzuschätzen (vergl. z.B. HIRCHE 1990, RUNGE 1985b).

Die Fütterung der Weibchen erfolgte mit der Kieselalge *Thalassiosira antarctica* in einer Konzentration von ca. 30 µg Chlorophyll *a* l⁻¹. Die Konzentration der Algen lag damit im Vergleich zur Phytoplanktonblüte in nordnorwegischen Fjorden sehr hoch, wo Werte bis zu 10 µg Chl. *a* l⁻¹ gemessen wurden (DIEL & TANDE 1992, NORMAN unveröffentlichte Daten). Bei einem C/Chl. *a*-Verhältnis von 41 (± 8) entspricht eine Konzentration von 30 µg Chl. *a* l⁻¹ einem Kohlenstoffgehalt von ca. 1230 µg C l⁻¹ (MEYER 1991). Es kann daher davon ausgegangen werden, daß im Experiment Nahrung im Überfluß vorhanden war, selbst wenn ein Teil der zugefügten Algenzellen sedimentierte. Bei der Hälterung mehrerer Weibchen in einem Becherglas (vergl. Kap.

3.5.2.2) kann es jedoch aufgrund der hohen Zahl der Tiere, und damit des größeren Wegfraßes an Algen, zu Nahrungsknappheit gekommen sein. Dies könnte ein Grund für die trotz Fütterung nur relativ niedrige Eiproduktion sein (vergl. Kap 4.1.5.2).

Die Weibchen in den Hungerversuchen wurden in 0,45 µm gefiltertem Seewasser gehalten. Das Wasser enthielt somit keine Algen und größere Partikel, vermutlich aber Bakterien oder heterotrophe Mikroorganismen, die den Filter passieren konnten. Diese können aber als potentielle Nahrung ausgeschlossen werden, da *C. finmarchicus* keine Partikel unter 5 µm aufnehmen kann (FROST 1972).

Calanus glacialis

Bei dem Experiment mit *C. glacialis* stand die Frage nach den Reifungsprozessen der Oocyten zwischen zwei Eiablagen im Vordergrund. Daher wurden Weibchen benötigt, die regelmäßig Eier legten. Da die Eiproduktionsrate von *C. glacialis* ebenfalls vom Nahrungsangebot abhängt (HIRCHE & BOHRER 1987, TOURANGENAU & RUNGE 1991, KOSOBOKOVA 1993), wurden die Weibchen gefüttert. Weil jedoch nicht ausreichend Futteralgen zur Verfügung standen, mußten die Tiere in kleinvolumigen Gefäßen gehältert werden (vergl. Kap. 3.5.1.1). Dabei wurde weder Eikannibalismus verhindert, noch war die Versorgung mit Futter ausreichend. Da die Weibchen vor Versuchsbeginn über mehrere Wochen unter limitierten Nahrungsbedingungen gehältert werden mußten, sind zusätzlich Alters- oder Degenerationsprozesse nicht auszuschließen (HIRCHE & BOHRER 1987). Es ist daher anzunehmen, daß die Eiproduktionsrate in meiner Arbeit sicherlich wegen des Wegfraßes von Eiern unterschätzt wurde.

Ich gehe jedoch davon aus, daß die Reifungsprozesse vollständig abliefen und daher in diesem Versuch erfaßt und beschrieben werden konnten, weil trotz der unzureichenden Nahrungsversorgung viele Weibchen regelmäßig über 14 Tage alle 2-3 Tage Eier ablegten.

Calanus hyperboreus

Die Entwicklung der Gonaden und die Reifung der Oocyten im Eiablagezyklus wurde bei den Weibchen von *C. hyperboreus* im Labor untersucht. Die Hälterungsmethode ermöglichte eine schonende Beobachtung der Weibchen während der Entwicklung der Gonaden und der Reproduktionsphase (vergl. Kap. 3.5.1.1). Problematisch war der erhebliche Wegfraß der Eier, auf den die gefüllten Därme der Tiere und die Kotballen (vergl. Kap. 4.3.3) hindeuteten. Dies führte zu einer deutlichen Unterschätzung der Eiproduktion. Da ein Teil der Eier, im Gegensatz zu den Eiern von *C. finmarchicus*, zur Oberfläche steigt, hätte die Hälterung in Bechergläsern Kannibalismus auch nicht verhindern können.

Diskussion

Bestimmung der Gelegegröße bei allen drei *Calanus*-Arten

Die Gelegegröße kann sowohl unter- als auch überschätzt werden: Bei allen drei in dieser Arbeit untersuchten *Calanus*-Arten wurde ein minimaler Wert von 9 Eiern pro Gelege angenommen (vergl. Kap. 3.5.1.2). Die histologischen Ergebnisse zeigen jedoch, daß im abschließenden Reifungsvorgang minimal 25 Eier pro Weibchen reifen. Der Wert von 9 Eiern pro Gelege ist also noch zu niedrig angesetzt. Gelegegrößen von weniger als ca. 20 Eiern sind wahrscheinlich artifiziell (Reduktion der Eizahlen durch Kannibalismus oder Unterbrechung der Eiablage durch Störungen) oder auf die Mortalität der Eier zurückzuführen (vergl. besonders *C. hyperboreus*; Kap. 4.3.3). Die tatsächlichen Gelegegrößen wurden somit unterschätzt. Eine Überschätzung der Gelegegrößen ist dagegen möglich, wenn zwei Gelege in einem Kontrollintervall produziert werden. Da der Zeitabschnitt zwischen den Eiablagen ≤ 24 h war, (*C. finmarchicus* bei 5°C: 24 h (MEYER 1991, HIRCHE 1990), *C. glacialis* bei 0°C: 2-3 Tage (MEYER 1991), *C. hyperboreus* bei 0°C = 9 Tage (HIRCHE & NIEHOFF im Druck) wurde bei einer täglichen Kontrolle in der Regel maximal ein Gelege erfaßt.

5.2 Oocyten: Oogenese, Oocytenreifestadien und Vitellogenese

Ein Ziel dieser Arbeit war es, die Oocyten von drei *Calanus*-Arten unter dem Lichtmikroskop anhand ihrer Morphologie in Entwicklungsstadien einzuteilen. Mit Hilfe dieser Oocytenreifestadien (OS) wurden dann der Aufbau und die Entwicklung der Gonaden sowie der Reifungszyklus der Oocyten zwischen zwei Eiablagen beschrieben.

Die OS beschreiben die Morphologie der Oocyten während verschiedener Abschnitte der Reifung der Urkeimzelle zum reifen Ei - der Oogenese. Zum besseren Verständnis gebe ich zunächst einen Überblick über die Oogenese im allgemeinen und über die Oogenese der *Calanus*-Arten im besonderen. Im Anschluß werden die Ergebnisse der morphologischen Untersuchung der Oocyten mit den Darstellungen in der Literatur verglichen. Abschließend werden Vitellogenese-Prozesse im Zusammenhang mit den OS betrachtet.

5.2.1 Oogenese und Oocytenreifestadien

Während die Oogenese vieler Taxa innerhalb der Crustacea relativ gut erforscht ist (z. B. BEAMS & KESSEL 1963, KESSEL 1968, HINSCH & CONE 1969, EURENIUS 1973, FYHN & COSTLOW 1977, ZERBIB 1980, QUAKENBUSH & KEELY 1986, BROWDY ET AL. 1990), wurden die Copepoden bislang wenig untersucht. Lichtmikroskopische Arbeiten zur Morphologie der Oocyten und Gonaden bei den calanoiden Copepoden existieren bisher für *Eucalanus elongatus* (HEBERER 1930), *Calanus finmarchicus* (HILTON 1931, LOWE 1935), *Epilabidocera aestiva* (PARK 1966), *Temora stylifera* (RAZOULS 1974, RAZOULS et al. 1986), und *Sinocalanus tenellus* (KIMOTO et al. 1986). Die ultrastrukturellen Veränderungen der Oocyten während der Oogenese und der Dottersynthese sind nur für *Labidocera aestiva* (BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH 1984) und *Centropages typicus* (ARNAUD et al. 1982) bekannt. RAYMONT et al. (1974) beschränkten die elektronenmikroskopische Untersuchung der Oocyten von *C. finmarchicus* auf die Oogonien und junge Oocyten; eine Darstellung der Vitellogenese und der Reifungsprozesse der Eizellen fehlt.

Allgemeine Beschreibung der Oogenese

Während der Oogenese durchlaufen die Oocyten generell drei Abschnitte (SIEWING 1980): Zuerst entstehen durch mitotische Teilungen der Urkeimzellen Oogonien, die

Diskussion

sich wiederum mitotisch (normalerweise 2 - 6 mal GIESE & PEARSE 1974) teilen. In diesem Zeitraum findet kein Zellwachstum statt; die Eizellen werden durch die Teilungen kleiner. Im zweiten Abschnitt der Oogenese treten die Eizellen nach der letzten mitotischen Teilung in die Prophase der ersten Reifeteilung ein und werden damit als Oocyten 1. Ordnung (in dieser Arbeit nur als Oocyten) bezeichnet. Die Prophase, die mehrere Wochen oder Monate dauern kann, ist in die Stadien Leptotän, Zygotän, Pachytän, Diplotän und Diakinese unterteilt. Während die ersten drei Stadien schnell durchlaufen werden, verbleiben die Kerne während der weiteren Entwicklung der Oocyten (Wachstum und Vitellogenese) im Diplotän (GIESE & PEARSE 1974). Im dritten Abschnitt der Oogenese wird die erste Reifeteilung (Diakinese, Meta-, Ana-, und Telophase) vollendet; die Oocyte wird dann als Oocyte 2. Ordnung oder schon als Ei bezeichnet. Der diploide Chromosomensatz wird hier zum haploiden Satz reduziert und die Zelle ist für die Befruchtung vorbereitet.

Die Oogenese der *Calanus*-Arten

Bei den untersuchten *Calanus*-Arten lassen sich die drei oben beschriebenen Abschnitte der Oogenese klar unterscheiden. Die Entwicklung der Eizellen beginnt im Ovar: Lichtmikroskopische Untersuchungen an *C. finmarchicus* von HILTON (1931) zeigten, daß die mitotischen Teilungen der Urkeimzellen und der Oogonien in der Spitze des Ovars (Teilungszone) stattfinden (1. Abschnitt der Oogenese). Die frühen Stadien der Prophase 1 (Leptotän-, Zygotän und Pachytän-Stadium) befinden sich in dem von HILTON (1931) als Synapsiszone bezeichneten schmalen Abschnitt hinter der Teilungszone. Die Oocyten differenzieren sich dann zum Diplotän-Stadium und wandern im Ovar nach vorne, wo sie die Wachstumszone bilden (HILTON 1931). In diesen Oocyten sind die ersten Dottervesikel nachzuweisen. Während der weiteren Entwicklung, die in den Divertikeln und Ovidukten erfolgt, werden Dotter und Lipide in die Oocyten eingelagert (2. Abschnitt der Oogenese), bis die Eizellen in die Metaphase 1 der Reifeteilung eintreten (3. Abschnitt der Oogenese) (HILTON 1931).

Morphologie der Oocyten

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die von HILTON (1931) beschriebenen drei morphologisch unterschiedlichen Zonen des Ovars für alle drei Arten bestätigt (vergl. Kap. 4.1.1, 4.2.1.2 und 4.3.1.2). Aus der sehr ähnlichen Morphologie der Oocyten in den Ovarien schließe ich, daß es sich bei allen drei *Calanus*-Arten im Prinzip um die gleichen cytologischen Prozesse handelt, die die Bildung der drei Zonen hervorrufen.

Da ein Schwerpunkt dieser Arbeit auf der Untersuchung der Gonadenreifung lag, wurden in dem Schema der Oocytenreifestadien (OS 1 bis OS 4) nur diejenigen Oocyten berücksichtigt, die für die morphologischen Veränderungen der Gonaden ausschlaggebend waren. Dabei handelte es sich um die Oocyten in den Gonodukten, deren Anzahl und Reifestadium die unterschiedlichen Entwicklungsstadien charakterisierte. Die Oocytenstadien in den Ovarien hingegen veränderten sich während der Gonadenreife nicht und wurden daher nicht berücksichtigt. Eine Ausnahme stellt hier das OS 1 dar, das sich sowohl in der Wachstumszone als auch in den Gonodukten findet und daher in der Beschreibung mit erfaßt wird.

Mit dem Eintritt der Oocyten in die Wachstumszone (OS 1) waren die ersten Dottervesikel im Ooplasma zu sehen. Hier beginnt also der 2. Abschnitt der Oogenese. Der Kern der OS 1 erschien bei der DIK-Mikroskopie deutlich erhoben und leicht wellig. Dies ist möglicherweise das Resultat von Abschnürungen der Kernmembran, wie sie für *Labidocera aestiva* (BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH 1984) und *Centropages velificatus* (BLADES-ECKELBARGER & MARCUS 1992) beschrieben wurden. Bei *L. aestiva* werden sogenannte 'blebs' von der Kernmembran abgeschnürt, die später im Ooplasma fusionieren und das erste Dottermaterial enthalten. Solche Prozesse wurden auch bei anderen Crustaceen für den Beginn der Dottersynthese nachgewiesen (KESSEL 1968). HILTON (1931) interpretierte die dunkel angefärbten Strukturen im Ooplasma (dm, vergl. Kap. 4.1.1) als Mitochondrien, die maßgeblich an der Dottersynthese beteiligt seien. Möglicherweise handelte es sich jedoch um Material, das aus dem Kern ausgeschlossen wurde. Welche morphologischen Strukturen tatsächlich an der Dottersynthese in diesem Stadium beteiligt sind, können letztendlich nur elektronenmikroskopische Untersuchungen klären.

Im Verlauf der Entwicklung der Oocyten zu OS 2, die mit einer Größenzunahme und damit verbundenen Abrundung der Zellen einhergeht, nahm die Anzahl der Dottervesikel deutlich zu. Sie waren, wie auch von HILTON (1931) in älteren Oocyten beschrieben, im OS 2 im gesamten Ooplasma verteilt.

Im OS 3 veränderte sich die Morphologie der Oocyten drastisch: Die Kernmembran löste sich auf und die Chromosomen kondensierten von langen knotigen zu verdickten Fäden (Diakinese-Stadium, 3. Abschnitt der Oogenese) und die Follikelzellschicht wurde dicker (vergl. Kap. 4.1.1). Die Ausbildung einer Follikelzellschicht wurde bereits bei *Labidocera aestiva* (BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH 1984) und auch bei anderen Crustaceen (z.B. Amphipoda, Isopoda und Decapoda CHARNIAUX-COTTON & PAYEN 1985 und Referenzen darin. Peneida. TAN-FERMIN &

PUDADERA 1989) nachgewiesen. HILTON (1931) dagegen beschreibt keine Follikelzellen bei den Oocyten von *C. finmarchicus*. Der Grund hierfür könnte in der von HILTON (1931) verwendeten Einbettung in Paraffin liegen. Bei der Anfertigung der Schnitte kann es erfahrungsgemäß zu erheblich größeren Zerreißen als im Kunststoff kommen. Möglicherweise wurden die Fragmente der Follikelzellschicht von HILTON (1931) dann als Gonadenwände interpretiert. Da außerdem die Follikelzellschicht die Oocyten häufig nicht vollständig umgibt (vergl. Kap. 4.1.1) und nur im Oocytenstadium 3 deutlich zu sehen ist, wurde sie eventuell in bisherigen Untersuchungen nicht als solche erkannt.

Bei den jungen OS 3 traten die ersten hellen Vesikel auf. Im Verlauf der weiteren Entwicklung der Oocyten nimmt deren Zahl zunächst stark zu, dann aber wieder leicht ab. In späten OS 3 oder OS 4 sind diese Vesikel noch zahlreich, viele andere sind jedoch mit Dottermaterial gefüllt, wie die dunklere Anfärbung zeigt. Die hellen Vesikel habe ich aufgrund ihrer Farbe und ihres Erscheinungsbildes im DIK-Verfahren als mit Lipiden gefüllte Vesikel interpretiert (vergl. Kap. 3.4.2). Lipide dienen wie auch das Dottermaterial der Versorgung der Embryonen bzw. der ersten Naupliusstadien und bilden einen wesentlichen Bestandteil der Eier (z.B. MEUSY 1980). Bei einer Fixierung mit Glutaraldehyd werden Lipide jedoch schlecht fixiert und daher häufig ausgewaschen (vergl. Kap. 5.1.1). Sie hinterlassen dann leere Stellen, die im histologischen Schnitt hell erscheinen. Dotter dagegen besteht überwiegend aus Lipoproteinen (HARRISON 1990, und Referenzen darin) und wird daher gut fixiert und angefärbt.

Theoretisch könnten daher die Vesikel in den OS 3 nicht artifiziell, sondern schon im lebenden Zustand leer sein. Da helle Vesikel jedoch auch in den ablagebereiten OS 4 zu finden sind und es unwahrscheinlich ist, daß Vesikel ungefüllt bleiben, ist davon auszugehen, daß zumindest ein wesentlicher Teil der Vesikel im Ooplasma schon im OS 3 mit Lipiden gefüllt war. Andere Vesikel dagegen könnten wie bei der Oogenese von *Labidocera aestiva* (BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH 1984) zunächst leer sein und sich erst im Verlauf der Entwicklung mit Dottermaterial füllen. Dafür spricht, daß im Ooplasma der jungen OS 3 überwiegend helle Vesikel zu finden waren, bei älteren OS 3 oder OS 4 jedoch relativ zu den hellen mehr dunkle Vesikel nachgewiesen wurden.

In den OS 4 waren die Kernmembran und der Nucleolus vollständig aufgelöst, die Chromosomen lagen auf der äquatorialen Platte der Metaphase 1 der Reifeteilung. Die Oocyten entsprechen damit den Oocyten 2. Ordnung (s.o.). In dieser Arbeit wurde gezeigt, daß bei der Eiablage Oocyten dieses Stadiums abgegeben werden. Ich bezeichne sie dann, analog der Bezeichnung der Oocyten nach der Ovulation bei

Fischen (HILGE 1975), als Eier. Auch nach der Eiablage verbleiben die Chromosomen in der oben genannten Konfiguration (HARDING et al. 1951, HARDING 1963, diese Arbeit). Dies wurde sowohl bei den Weibchen von *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* und *C. hyperboreus*- (vorliegende Arbeit) als auch bei *C. helgolandicus* (MULLIN 1967) nachgewiesen. DAMAS (1905, *fide* MARSHALL & ORR 1955) und HILTON (1931) dagegen beschreiben, daß die Bildung von Polkörperchen (Anaphase 1) noch vor der Eiablage in den Gonaden erfolgt. Die Reifeteilung ist nach ihrer Beschreibung also weiter fortgeschritten, als ich es beobachtet habe. Aufgrund meiner Ergebnisse und der Literaturdaten gehe ich jedoch davon aus, daß es sich bei den Beobachtungen von HILTON (1931) und DAMAS (1905, *fide* MARSHALL & ORR 1955) um Ausnahmen handelte. Bei histologischen Untersuchungen, die die morphologische Beschreibung von Strukturen zum Ziel haben, werden in der Regel nur sehr wenige Tiere bearbeitet, da man von einer geringen Variabilität des Phänotypus ausgeht. So ist es möglich, daß "Sonderfälle" nicht als solche erkannt und verallgemeinert wurden.

5.2.2 Vitellogeneseprozesse

Allen Oocytenreifestadien ist gemeinsam, daß Dottersynthese (Vitellogenese) stattfindet. Die Morphologie der Oocyten deutet jedoch daraufhin, daß unterschiedliche Prozesse an der Dotterbildung beteiligt sind. Daher wird im folgenden Abschnitt der Zusammenhang zwischen den Oocytenreifestadien (OS) und den Vitellogeneseprozessen erläutert.

Unter dem Begriff 'Vitellogenese' werden die Vorgänge der Produktion der Vorläufersubstanz des Dotters (Vitellogenin) und des Dotter-Lipoproteins (Lipovitellin) sowie der Akkumulation organischer und anorganischer Bestandteile des Dotters zusammengefaßt (ADIYODI & SUBRAMONIAM 1983). Bei den malakostraken Krebsen werden zwei Prozesse der Vitellogenese unterschieden (Reviews von DEHN et al. 1983, CHARNIAUX-COTTON 1985, QUAKENBUSH 1986), die von ARNAUD et al. (1982) auch bei dem Copepoden *Centropages typicus* nachgewiesen wurden: Die Vitellogenese 1 kann mehrere Monate andauern (LUI et al. 1974), in denen die Oocyten langsam wachsen; die Dotterbildung erfolgt endogen, d.h. im Ooplasma. Die Vitellogenese 2 ist durch die schnelle Anreicherung der Zellen mit Lipovitellin gekennzeichnet, wobei die Größe der Eizellen ebenfalls schnell zunimmt. Neben der endogenen Synthese sind zusätzlich exogene (d.h. außerhalb der Oocyte ablaufende) Bildungsprozesse am Dotteraufbau beteiligt. Die Oocyten nehmen in dieser Phase durch Micropinocytose große Mengen an Vitellogenin aus der Hämolymphe auf (PAPATHANASSIOU & KING 1984, PAULUS & LAUFER 1987).

Verschiedene Indizien sprechen dafür, daß die Vitellogeneseprozesse in den Oocyten von *Calanus finmarchicus* dem oben genannten Schema entsprechen. OS 1 und OS 2 durchlaufen wahrscheinlich die Vitellogenese 1: Die Dottersynthese in diesen Oocytenstadien scheint über einen langen Zeitraum zu erfolgen, denn OS 1 und OS 2 waren sowohl im CV-Stadium als auch in den adulten Weibchen unabhängig vom Gonadenreifstadium (GS) zu finden. Außerdem lieferte die lichtmikroskopische Untersuchung keine Hinweise auf exogene Prozesse, die an der Vitellogenese beteiligt sind. Dies stimmt mit den Ergebnissen von BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH (1984) für *Labidocera aestiva* und ARNAUD et al. (1982) für *Centropages typicus* überein, die in den jungen Entwicklungsstadien der Oocyten eine ausschließlich endogene Vitellogenese nachgewiesen haben.

Die OS 3 und eventuell auch die OS 4 befinden sich dagegen in der Phase, in der die Vitellogenese 2 stattfindet: In den OS 3 erfolgte bei *Calanus finmarchicus* offensichtlich die Akkumulation großer Mengen Dotter und Lipiden innerhalb von nur 24 h, und die Eizellen wuchsen schnell. Zudem enthielt die verbreiterte Follikelzellschicht Vesikel, die denen im Ooplasma sehr ähnlich waren. In einigen Fällen waren auch Einstülpungen in die Oocyte zu beobachten. Diese Ergebnisse sind Hinweise auf exogene Dottersynthese-Prozesse (z.B. KESSEL 1966, PAPATHANASSIOU & KING 1984), wie ARNAUD et al. (1982) sie auch bei *C. typicus* feststellten. Auch bei *L. aestiva* vermuten BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH (1984) die Aufnahme von Material aus der Hämolymphe, wenn sich die Follikelzellen in einem späten Entwicklungsstadium der Oocyten verbreitern.

Vergleich der drei *Calanus*-Arten

Die histologische Untersuchung der drei *Calanus*-Arten zeigte eine grundsätzlich gleiche Morphologie der Oocyten. Während für *C. glacialis* eine Einteilung in Oocytenreifstadien analog zu *C. finmarchicus* möglich war, mußte diese bei *C. hyperboreus* aufgrund der mangelnden Qualität der Schnitte unterbleiben. Bei *C. hyperboreus* war es insbesondere schwierig, den genauen Zeitpunkt des Auftretens von Lipidvesikeln zu bestimmen. Da die Oocyten mit ersten Lipidvesikeln im Verhältnis kleiner als die Oocyten der anderen beiden Arten waren, scheint es, als wären schon zu einem früheren Zeitpunkt Lipidvesikel im Ooplasma vorhanden. Dennoch läßt auch bei dieser Art die Morphologie der Oocyten darauf schließen, daß zwei unterschiedliche Reifungsprozesse ablaufen: Die kleinen, dunkel gefärbten Oocyten könnten den OS 1 und OS 2 der beiden anderen Arten analog die Vitellogenese 1 durchlaufen, die Oocyten mit einer sichtbaren Follikelzellschicht (im GS 4 und GS 5) hingegen analog den OS 3 die Vitellogenese 2. Die reifen Oocyten,

deren Kern aufgelöst und deren Chromosomen sich in der Metaphase I befinden, können wie bei den beiden anderen Arten als OS 4 gelten.

Zusammenfassend lassen sich folgende Übereinstimmungen der Oogenese der drei Arten feststellen:

- Das Ovar bildet 3 Zonen.
- Die jungen Oocyten werden von der Wachstumszone des Ovars aus in die Gonodukte abgegeben.
- Während der weiteren Reifung treten in den Oocyten Vesikel auf, die wahrscheinlich mit Dotter und Lipiden gefüllt sind. In einem Stadium der Entwicklung ist eine breite Follikelzellschicht um die Oocyten zu finden.
- Vor der Eiablage treten die Chromosomen in die Metaphase I ein.

5.3 Gonaden: Aufbau, Entwicklung und Reifestadien

Da der Aufbau der Gonaden wichtige Informationen über die Wanderungsrichtung der Oocyten während der Reifung liefert, werden zu Beginn dieses Kapitels der Gonadenaufbau erläutert und danach die Entwicklung der Gonaden anhand der Gonadenreifestadien diskutiert. Zusätzlich wird der Eiablagezyklus erörtert. Im Anschluß wird die Gonadenentwicklung im Zusammenhang mit den Vitellogeneseprozessen betrachtet. Anschließend werden die bisher aus der Literatur bekannten Schemata zur Klassifizierung der Gonaden diskutiert.

5.3.1 Aufbau der Gonaden und Verteilung der Oocyten

Der generelle Aufbau der Gonaden ist bei den drei untersuchten *Calanus*-Arten gleich (vergl. Kap. 4.1.2.1, 4.2.1.2, 4.3.1.2): In der Mitte des Thorax liegt dorsal das Ovar, von dessen vorderem Bereich aus 2 blind endende Kanäle nach vorn in den Kopfbereich (Divertikel) und 2 weitere Kanäle lateral nach hinten (Ovidukte) führen. Die Ovidukte münden in die Geschlechtsöffnung im ersten Abdominalsegment, in dem sich auch die Spermatheke befindet.

Bei meinen Untersuchungen fiel auf, daß die Ovarien von *Calanus finmarchicus* im Mittel am längsten waren, obwohl diese Art am kleinsten war. Die, besonders im Verhältnis zur Körpergröße, geringen Längen der Ovarien bei *C. glacialis* und *C. hyperboreus* sind möglicherweise darauf zurückzuführen, daß die Individuen im Gegensatz zu *C. finmarchicus* nicht sofort nach dem Fang fixiert wurden, sondern einige Zeit im Labor gehalten wurden. Suboptimale Ernährung während dieser Zeit kann die Länge des Ovars durchaus verkürzen, wie die Hungerversuche mit *C. finmarchicus* zeigen (vergl. Kap. 4.1.5.2)

In der Literatur finden sich zwei unterschiedliche Auffassungen über den Aufbau der Divertikel: SØMME (1934) beschreibt die Divertikel von *Calanus hyperboreus* als "Blinde Säcke" der Ovidukte. HILTON (1931) und LOWE (1935) dagegen meinen, daß die Divertikel von *C. finmarchicus* in einen oberen und einen unteren Kanal unterteilt sind. Nach LOWE (1935) vollzieht sich in den Kanälen eine sukzessive Entwicklung der Oocyten: Die jungen Eizellen treten aus dem Ovar in den dorsalen Divertikelkanal und wandern in den Kopfbereich. Dort verläuft der Kanal in einer Schleife abwärts und die heranreifenden Oocyten wandern dann im ventralen Abschnitt des Kanals, der sich als Ovidukt fortsetzt, nach hinten bis zur Geschlechtsöffnung. Würde ein solcher

Aufbau vorliegen, müßten sich die reifen Eizellen ausschließlich in den Ovidukten befinden, wie CORKETT & MCLAREN (1978, vergl. dort Abb. 16) es für *Pseudocalanus* dargestellt haben.

Meine Arbeit zeigt hingegen, daß bei allen drei *Calanus*-Arten der Reifegrad der Oocyten in der Gonade immer von dorsal nach ventral zunimmt. In keinem Bereich der Gonodukte wurden Ansammlungen von besonders reifen oder unreifen Oocyten gefunden, sondern in den Divertikeln und Ovidukten lagen Oocyten im OS 1 bis OS 4 nebeneinander vor. Außerdem wurde in den Divertikeln keine Membran nachgewiesen, die einen oberen von einem unteren Kanal trennt. Damit ist die früher beschriebene Unterteilung der Divertikel bei allen drei untersuchten Arten unwahrscheinlich. Die von LOWE (1935) dargestellte Struktur der Gonaden scheint dennoch von vielen Autoren als Basis für ihre Beschreibung der Gonadenentwicklung gedient zu haben (z.B. MARSHALL & ORR 1955, CONOVER 1967, TANDE & GRØNVIK 1983, HIRCHE & BOHRER 1987). Auf diese Problematik werde ich im Kapitel 5.3.4 noch eingehen.

5.3.2 Entwicklung der Gonaden und Gonadenreifestadien

Bei *Calanus finmarchicus* und *C. hyperboreus* reiften die Gonaden im adulten Weibchen nach dem gleichen Schema:

Die Morphologie der Divertikel und der Ovidukte veränderte sich im Laufe der Entwicklung aufgrund der wachsenden Anzahl und des zunehmenden Reifungsgrades der Oocyten sehr deutlich. Die Ovarien dagegen veränderten sich nicht, Länge und Aufbau blieben gleich. Die typische Zonierung des Ovars in 3 Abschnitte fand sich in Weibchen aller Reifezustände. Unabhängig vom Entwicklungszustand waren in der Teilungszone mitotische Teilungsstadien zu finden. Demnach werden auch nach dem Erreichen des adulten Stadiums weiter Oocyten gebildet, wie es auch von anderen Crustaceen-Taxa bekannt ist (ADIYODI 1985).

Den Anfangspunkt der Entwicklung der Gonaden im adulten Weibchen stellt in der Regel das GS 1 dar, wenn auch bei einem geringen Teil der CV und damit auch der frisch gehäuteten Weibchen Oocyten bis in die Spitzen der Divertikel und Ovidukte gefunden (MARSHALL & ORR 1955, TANDE & HOPKINS 1981, GRIGG & BARDWELL 1982) wurden. Das bedeutet, daß sich ein Teil der frisch gehäuteten Weibchen schon im GS 2 befindet. Im Normalfall erfolgt jedoch die Abgabe der Oocyten in die Gonodukte erst kurz vor der Häutung zum Adultus und wird durch endogene Faktoren gesteuert (GRIGG & BARDWELL 1982): So waren die Weibchen von *C. finmarchicus* nach der Häutung im GS 1; die Gonodukte waren hier wie auch

Diskussion

bei den CV leer bis auf die direkt an das Ovar angrenzenden Abschnitte (vergl. Kap. 4.1.2.1). Bei *C. hyperboreus* waren die Gonaden der Weibchen im Labor ebenfalls zu Beginn der Entwicklung im GS 1.

Im Verlauf der Entwicklung vom GS 1 zum GS 4 erhöhte sich die Anzahl der Oocyten gleichermaßen in den Divertikeln und den Ovidukten. Die Anordnung der Oocyten in der Gonade mit von oben nach unten steigendem Reifungsgrad deutet darauf hin, daß die Reifung der Oocyten in den Gonodukten in dorsoventraler Richtung erfolgt. Vermutlich wandern die Oocyten also zunächst gleichzeitig aus dem Ovar nach vorne in die Divertikel und nach hinten in die Ovidukte. Im Laufe ihrer Reifung verlagern sie sich dann immer weiter nach ventral, während weitere Oocyten vom Ovar abgegeben werden und sich dorsal in den Gonodukten über die schon vorhandenen Oocyten schieben.

Der Eiablagezyklus wurde bei allen drei Arten untersucht. Die histologischen Untersuchungen an *Calanus finmarchicus* und *C. glacialis* zeigten, daß die OS 3 und OS 4, die dem abschließenden Reifungsprozeß unterliegen immer ventral über die gesamte Länge der Gonaden verteilt vorlagen. Nach einer Eiablage nahm immer die dorsal der abgegebenen Oocyten liegende Schicht junger OS 3 die Reifung zum OS 4 auf und wurde dann im nächsten Schub abgegeben. Die endgültige Reifung der Oocyten erfolgte demnach immer synchron innerhalb einer Schicht, wie auch die Lebendbeobachtung an *C. hyperboreus* zeigte. Daher waren in einem reifen Weibchen auch nicht alle Entwicklungsstadien der Oocyten vertreten (vergl. Kap. 4.1.2.3.). Dieses Ergebnis impliziert, daß auch der Transport von Nährstoffen über die Hämolymphe in die Oocyten in der Vitellogenese 2 (vergl. Kap. 5.2.1) synchron in der ventralen Schicht von Oocyten abläuft. Diese Prozesse können nach den vorliegenden Ergebnissen über die gesamte Länge der Gonodukte erfolgen und sind demnach nicht auf einen Bereich beschränkt. Die synchrone Reifung einzelner Oocytenschichten erklärt die Tatsache, daß die drei *Calanus*-Arten die Eier immer in Gelegen und nicht einzeln ablegt. Damit bestätigt sich die Vermutung von RUNGE (1984), daß nur synchrone Reifungsprozesse in der Gonade das Ablachen von Gelegen erklären können.

Die synchrone Reifung von Oocyten zum Ei ist bei den Copepoden verbreitet: KIMOTO et al. (1986) zeigten für die Brackwasser-Art *Sinocalanus tenellus*, daß ebenfalls immer eine Schicht Oocyten reift und dann abgegeben wird. Den gleichen Reifungsvorgang fanden RAZOULS (1974) und RAZOULS et al. (1986) bei *Temora stylifera*.

Im Gegensatz zu den untersuchten *Calanus*-Arten enthalten reife *Labidocera aestiva*-Weibchen gleichzeitig alle Entwicklungsstadien der Oocyten (BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH 1984). Dies läßt auf eine kontinuierliche Ablage

der Eier schließen, wie KIMOTO et al. (1986) vermuten. Eine kontinuierliche Eiproduktion wurde auch bei *Acartia tonsa* (PARRISH & WILSON 1978) und bei *A. clausi* (UYE 1981) festgestellt. Für diese beiden Arten liegen jedoch bisher keine Untersuchungen der Reifungsprozesse vor.

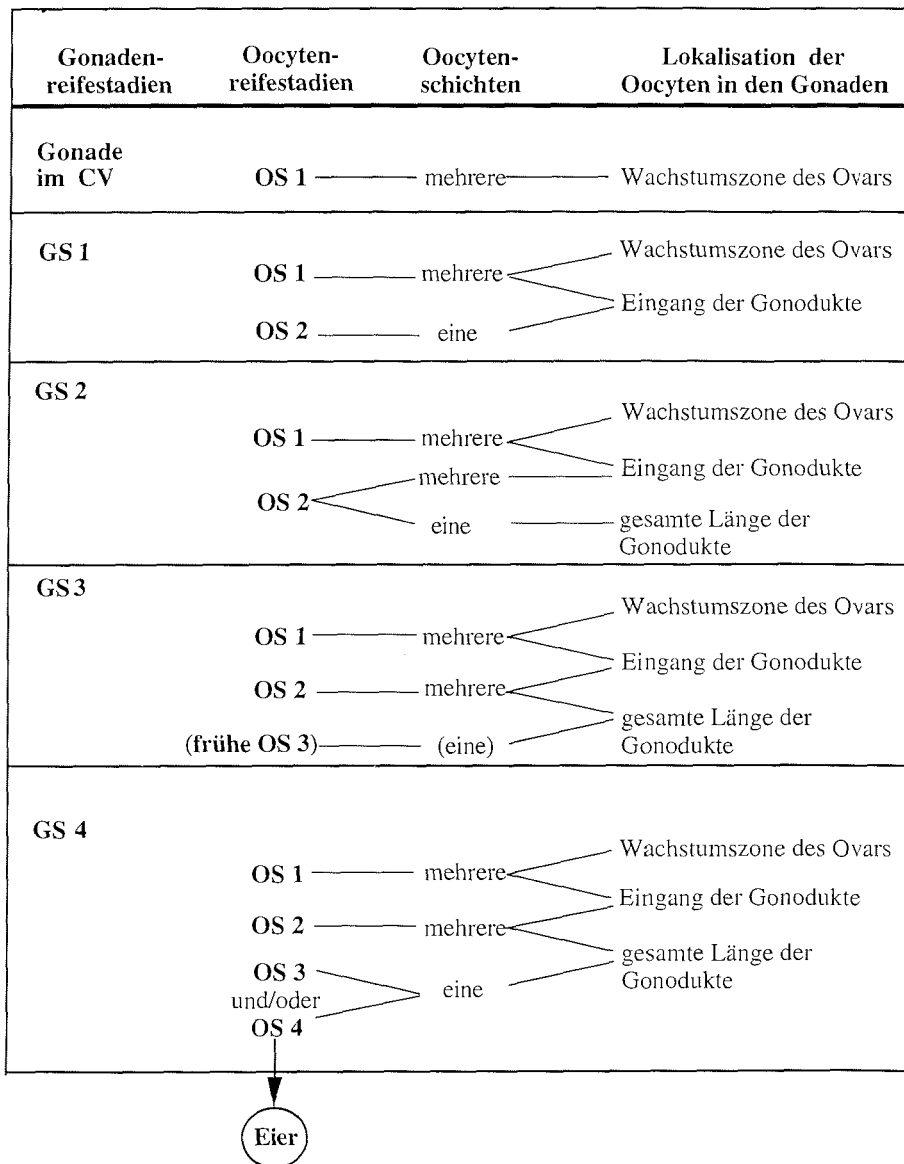


Abb. 5.1: Gonadenreifestadien (GS) und die entsprechenden Oocytenreifestadien (OS) bei *C. finmarchicus*. Die OS sind jeweils analog der anatomischen Lage im Tier von dorsal nach ventral angeordnet

Die von mir entwickelten Schemata zur Gonadenreife beziehen sich auf die zwei Arten *Calanus finmarchicus* und *C. hyperboreus*. Die *C. finmarchicus*-Weibchen wurden dabei im fixierten Zustand bearbeitet, während bei den *C. hyperboreus*-Weibchen die Einteilung in 5 unterschiedliche GS am lebenden Tier erfolgte. Da nach der Fixierung bei beiden Arten nur 4 Stadien mit gleichen Charakteristika unterschieden werden (vergl. Kap. 5.1.2.2), kann dasselbe Schema benutzt werden.

Die *C. glacialis*-Weibchen, deren Gonadenentwicklung in dieser Arbeit nicht dokumentiert werden konnte, waren aufgrund reifer Oocyten in den Gonodukten durchgängig als reif (GS 4) eingeordnet worden. Die Morphologie der Gonaden und der Oocyten und die Reifungsprozesse zwischen zwei Eiablagen sind den beiden anderen Arten sehr ähnlich. Außerdem lassen die Beschreibungen der Gonadenentwicklung von *C. glacialis* (HIRCHE & BOHRER 1987, TOURANGENAU & RUNGE 1991) darauf schließen, daß die Entwicklung der Gonaden ähnlich der von *C. finmarchicus* und *C. hyperboreus* verläuft. Ich gehe daher davon aus, daß mein Schema auch bei dieser Art anzuwenden ist.

Die Ergebnisse z.B. von RUNGE (1985a) und RAZOULS et al. (1991) für *C. pacificus*, TANDE & GRØNVIK (1983) für *Metridia longa*, MULLIN (1967) für *C. helgolandicus*, RAZOULS (1974) für *Temora stylifera*, KIMOTO et al. (1986) für *Sinocalanus tenellus* lassen vermuten, daß alle Arten, die Gelege produzieren, einen ähnlichen Reifungsmodus aufweisen. Damit wäre das hier entwickelte Schema zur Bestimmung von Gonadenreifestadien generell bei allen Gelege produzierenden calanoiden Copepoden anwendbar und würde erstmals vergleichende Untersuchungen zur Reproduktionsbiologie auf objektiver Basis ermöglichen.

5.3.3 Gonadenreifestadien : Vitellogenese und Nahrungsversorgung

Die unterschiedlichen Prozesse der Dottersynthese lassen sich den verschiedenen Gonadenreifestadien folgendermaßen zuordnen: Die Entwicklung vom GS 1 zum GS 3 erfolgte bei *Calanus finmarchicus* durch eine zunehmende Anzahl OS 1 und OS 2, die die Vitellogenese 1 (langsame, endogene Dottersynthese) durchlaufen. Das GS 4 hingegen ist durch OS 3 und / oder OS 4 gekennzeichnet. In den OS 3 und OS 4 findet die Vitellogenese 2, eine schnelle und exogene Dottersynthese, statt.

Da analog zu *C. finmarchicus* bei *C. hyperboreus* vermutlich ähnliche Vitellogeneseprozesse ablaufen (vergl Kap. 5.2.2), lassen sich auch hier die Gonadenreifestadien wie folgt zuordnen: Vom GS 1 bis GS 3 nimmt die Zahl der kleinen unreifen Oocyten, in denen wahrscheinlich die Vitellogenese 1 stattfindet,

langsam zu. GS 4 und GS 5 (bzw. nur GS 4 im fixierten Tier) dagegen sind durch große dunkle Oocyten charakterisiert, in denen wahrscheinlich die Vitellogenese 2 abläuft.

Die drei untersuchten Arten haben z.T. unterschiedliche Reproduktionsstrategien. Bei allen drei Arten entwickeln sich die Gonaden vom CV bis zum unreifen adulten Weibchen ohne Nahrungsaufnahme. Während bei *C. finmarchicus* die endgültige Reifung der Gonaden und die Eiproduktion von der Phytoplanktonblüte abzuhängen scheint (TANDE & HOPKINS 1981, TANDE 1982, GRIGG & BARDWELL 1982, MARSHALL & ORR 1955, RUNGE 1985b, HIRCHE im Druck, und Referenzen darin), beginnt *C. hyperboreus* im Freiland wie im Labor während der Wintermonate, in denen kein Phytoplankton zur Verfügung steht (CONOVER & SIFERD), mit der Reproduktion (CONOVER 1962, 1967, HIRCHE & NIEHOFF im Druck) und verbraucht in dieser Zeit ca. 80% der Körpersubstanz (HIRCHE 1995). Eine Nahrungsaufnahme wirkt sich aber positiv auf die Reproduktion von *C. hyperboreus* aus: So war in Laborexperimenten die Eiproduktionsrate bei Fütterung zwar gleich hoch wie bei fehlender Nahrung, die Eier der gefütterten Weibchen waren aber besser lebensfähig als die der hungernden Weibchen (CONOVER 1967). Außerdem war die Gesamtproduktion bei den gefütterten Weibchen mit ca. 2000 Eiern deutlich höher als die der hungernden Weibchen (ca. 450 Eier) (CONOVER 1988). Bei *C. glacialis* wurden zwei unterschiedliche Modi der Reproduktion beobachtet (SMITH 1990, HIRCHE & KATTNER 1993): Nach der Überwinterung erfolgen die endgültige Reifung der Gonaden und eine geringe Eiproduktion unabhängig von der Nahrung (HIRCHE & KATTNER 1993). Bei hungernden Weibchen verringert sich nach einiger Zeit die Eiproduktionsrate, Lipid- und Wachsestergehalt sinken. Hohe Eiproduktionsraten wurden nur von gefütterten Weibchen erreicht. Bei ihnen bleiben diese Parameter stabil, da die aufgenommenen Nährstoffe in die Eiproduktion umgesetzt werden (HIRCHE & KATTNER 1993). In der nahrungsarmen Periode nutzen die *Calanus*-Arten interne Lipidreserven zum Aufbau der Gonaden und *C. glacialis* und *C. hyperboreus* auch zur Eiablage (TANDE & HOPKINS 1981, CONOVER 1988, TANDE & HENDERSON 1988, SMITH 1990, HIRCHE & KATTNER 1993). Diese Lipide, die während der Frühjahrs und Sommermonate eingelagert werden (LEE 1974), sind bei den Copepoden der höheren Breiten typischerweise Wachsester (SARGENT 1976, SARGENT & FALK-PETERSEN 1981, TANDE & HENDERSON 1988).

Die oben dargestellten Zusammenhänge lassen Rückschlüsse auf den Energiebedarf der unterschiedlichen Vitellogeneseprozesse zu (Abb. 5.2): Bei *C. finmarchicus* erfolgte die Entwicklung vom GS 1 zum GS 3 in einer Zeit, in der noch wenig Phytoplankton in der Wassersäule vorhanden war (vergl. Kap. 2.3 und Kap. 4.1.3.1). Außerdem entwickelte

Diskussion

sich bei längerer Hälterung etwa die Hälfte nicht gefütterter Weibchen bis zum GS 3. Dies sind Indizien dafür, daß die Bildung der OS 1 und OS 2 und damit die Vitellogenese 1 ohne Nahrungszufuhr erfolgen kann. Ob die Anzahl der OS 1 und OS 2, die *C. finmarchicus* entwickelt, mit der gespeicherten Menge an Wachsestern der juvenilen Stadien zusammenhängt, wie DIEL & TANDE (1992) vermuten, kann in dieser Arbeit nicht beantwortet werden. Weibchen mit OS 3 oder OS 4 (GS 4) waren dann im Freiland zu finden, wenn die Phytoplanktonkonzentrationen hoch waren (vergl. Kap. 4.1.3 und Kap. 2.3). Vermutlich erfordert die schnelle Akkumulation von Lipiden und Dottermaterial in den Oocyten während der Vitellogenese 2 eine große Menge von Proteinen und Lipiden, die von *C. finmarchicus* nicht aus internen Speichern bereit gestellt werden kann. Die Umsetzung assimilierter Substanzen in Eimaterial erfolgt, wie Experimente mit radioaktivmarkierten Algen von MARSHALL & ORR (1952b) nachwiesen, innerhalb weniger Stunden. Die Stoffwechselreaktionen der Vitellogenese 2 scheinen damit direkt abhängig von den Nährstoffen zu sein.

Die Entwicklung der Gonaden und die Eiproduktion bei *C. hyperboreus* und fakultativ bei *C. glacialis* sind nahrungsunabhängig. Im Gegensatz zu *C. finmarchicus* können hier die Vitellogenese 1 und Vitellogenese 2 durch interne Speicher versorgt werden. *C. glacialis* produziert unter der Verwendung von Speicherlipiden nur langsam mit einer geringen Eiproduktionsrate. Bei Futter werden dagegen viele Eier abgelegt, hier wirkt sich die Nahrungsversorgung also direkt auf die Vitellogeneseprozesse aus (HIRCHE & KATTNER 1993). Bei *C. hyperboreus* dagegen hat die Fütterung keinen Einfluß auf die Eiproduktionsrate wohl aber auf die Gesamteiproduktion (CONOVER 1967). Diese Art reproduziert erheblich langsamer als die beiden anderen Arten: Pro Tag werden bei *C. hyperboreus* unabhängig von der Nahrungsversorgung immer nur 0,5% des Körperkohlenstoffs in Ei-Kohlenstoff umgesetzt, bei *C. finmarchicus* und *C. glacialis* bei Nahrungsaufnahme dagegen 5,5 % (HIRCHE & NIEHOFF, im Druck). Es ist möglich, daß die Dottersynthese nur über Speicherlipide versorgt wird, da die Nahrung keinen Einfluß auf die Eiproduktionsrate hat. Nahrung könnte sich daher auf die Vitellogenese nur über den Umweg des Lipidspeichers auswirken und damit eine höhere Gesamteiproduktion ermöglichen. Diese Hypothese muß jedoch eingehend untersucht werden.

Art	V1	V2	
<i>C. finmarchicus</i>	intern	extern	→ hohe Eiproduktion
<i>C. glacialis</i>	intern	intern	→ geringe Eiproduktion
		extern	→ hohe Eiproduktion
<i>C. hyperboreus</i>	intern	intern	↗ geringe Eiproduktion, geringe Gesamteiproduktion
		extern	↘ geringe Eiproduktion, hohe Gesamteiproduktion bessere Überlebensrate der Eier

Abb. 5.2: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Reproduktionsstrategien der drei *Calanus*-Arten. V1 = Vitellogenese 1, V 2 = Vitellogenese 2; intern: Energieversorgung aus internem Lipidspeicher, extern: Energieversorgung durch Nahrungsaufnahme.

5.3.4 Vergleich der Gonadenschemata

Die Beschreibung der Gonadenreife dient dazu, Informationen über den Lebenszyklus der Copepoden zu gewinnen (z.B. NORRBIN 1991; TANDE & GRØNVIK 1983). So können über den Reifegrad die aktive Reproduktionsperiode und die Reproduktionsstrategie der Tiere ermittelt (TANDE et al. 1985). Außerdem wurde versucht, die Beziehung zwischen dem Zustand der Gonaden und der Eiproduktion zu quantifizieren (RUNGE 1985a, 1987).

Da sich die Gonaden der Copepoden während der Entwicklung morphologisch deutlich verändern, wurde die Einteilung in Reifestadien vielfach angewandt: Schon SØMME (1934) beschrieb bei *C. hyperboreus* den Zusammenhang zwischen der Morphologie der Oocyten und der Eiablage. Das erste Schema, das Kriterien zur Einordnung der Gonaden lieferte, geht auf MARSHALL et al. (1934) zurück. Seitdem wurde eine Vielzahl solcher Schemata entwickelt. Zunächst standen die Arten der nördlichen Gebiete im Vordergrund (Tab. 5.1), bis Anfang der 70er Jahre auch *Temora stylifera* aus dem Mittelmeerraum bearbeitet wurden (RAZOULS 1974, RAZOULS et al. 1986). In neuerer Zeit wurden Untersuchungen zur Gonadenreife auch an antarktischen Arten durchgeführt (KURBJEWIT 1993; HAGEN & SCHNACK-SCHIEL in Druck).

Tab. 5.1: Klassifizierung der Gonadenreife; Übersicht über verschiedene Schemata. Aufgeführt sind jeweils die Gonadenreifestadien (GS) mit den Bewertungskriterien. Der von MARSHALL & ORR (1955) und TANDE & GRØNVIK (1983) verwendete Begriff Eier (eggs) wurde hier durch Oocyten ersetzt. s = seneszent

	MARSHALL & ORR 1952; 1953		TANDE & GRØNVIK 1983		RUNGE 1987		SMITH 1990		Diese Arbeit
	<i>Calanus finmarchicus</i>		<i>Metridia longa</i>		<i>C. finmarchicus</i>		<i>Calanus spp.</i> , <i>Metridia longa</i>		<i>C. finmarchicus</i> , <i>C. hyperboreus</i>
GS	Reifekriterien	GS	Reifekriterien	GS	Reifekriterien	GS	Reifekriterien	GS	Reifekriterien
		1	Ovar klein; die Divertikel nur kurz hinter dem Ovar mit einer Reihe Oocyten gefüllt	1	Keine Oocyten in den Divertikeln sichtbar	1	Nur das Ovar sichtbar	1	Keine Oocyten in Divertikeln und Ovidukten sichtbar
unreif	Ovar klein; Entwicklung der Divertikel beginnt im Kopfbereich; in den Ovidukten nur eine Reihe kleiner Eier sichtbar	2	"medium" Divertikel wie 1, Ovidukte bis zum ersten freien Thorakalsegment mit Oocyten gefüllt	3	In Divertikeln prävitellogene Oocyten, deren Ooplasma klar	2	Kleine Oocyten im Ovar, die sich in einzelnen Reihen in die Divertikel fortsetzen; eine Reihe Oocyten in den Ovidukten sichtbar	2	Eine Reihe kleiner, dunkelrot gefärbter (fixiert) oder transparenter (lebend) Oocyten über die gesamte Länge der Divertikel und Ovidukte sichtbar
mittel-reif	Ovar vergrößert; dorsale Kanäle der Divertikel mit kleinen Oocyten angefüllt; in Ovidukten z.T. mehrere Reihen Oocyten	3	"late medium" Divertikel mit Oocyten gefüllt bis zur Hälfte des Prosomas, aber nur ein Kanal sichtbar	4	Vitellogene Oocyten in Divertikeln; Oocyten kleiner als 140 µm, enthalten braunes Plasma	3	Mehrere Reihen größerer Oocyten in den Divertikeln, Divertikel sind zusammen gepreßt; mehr als eine Reihe Oocyten in den Ovidukten, Oocyten und Ovar größer als in 2	3	Mehrere Reihen kleiner, dunkelrot angefärbter (fixiert) oder transparenter (lebend) Oocyten in Divertikeln und Ovidukten sichtbar
semi-reif	Beide Kanäle der Divertikel mit Oocyten gefüllt; im ventralen Kanal große Oocyten	4	Beide Kanäle der Divertikel mit Oocyten gefüllt; in den Ovidukten mehrere Reihen Oocyten	5	Vitellogene Oocyten, größer als 140 µm, in Divertikeln; Ovidukte klar				
reif	Mehrere Reihen reifer Oocyten vorhanden; im ventralen Kanal Oocyten, die zum Abdomen hin größer werden; auch in Ausstülpungen der Ovidukte reife Oocyten sichtbar	5	Große Oocyten bilden Taschen in den Ovidukten	7	Vitellogene Oocyten im gesamten Gonadenbereich, reife Oocyten erscheinen als dunkelbraunes Band vom Cephalon bis zum letzten Thorakalsegment	4	Oocyten dicht gepackt in den Divertikeln; deren Wände setzen sich als dunkle Linie in das vordere Posoma fort; Oocyten bilden Taschen in den Ovidukten	4	Große, hellrosa gefärbte (fixiert) oder dunkler (lebend) Oocyten bilden ventrale Schicht in Divertikeln und Ovidukten, darüber Reihen kleiner, dunkelroter Oocyten
s	Ovar degeneriert, Divertikel und Ovidukte sind schwer zu sehen					5	Abgelaicht	s	Große Oocyten vereinzelt in Divertikeln und Ovidukten; zwischen den kleinen Oocyten sind häufig Lücken

Die Mehrzahl der bereits bekannten Schemata basiert auf rein morphologischen Merkmalen, wie sie von außen am gefärbten Tier zu erkennen sind. Bei der vorliegenden Untersuchung dreier arktischer Copepodenarten wurde der Reifungsvorgang und die damit einhergehenden morphologischen Veränderungen vergleichend "von außen" und an histologischen Schnitten eingehend untersucht. Dadurch wurde erstmals eine auf physiologischen Prozessen basierende Klassifizierung der Gonaden möglich (vergl. Kap. 5.3.3). Dabei wurde deutlich, daß einige Annahmen früherer Autoren über den Aufbau und den Reifungsvorgang der Gonaden falsch sind. Nachfolgend werden die bisherigen Kenntnisse über die morphologischen Merkmale mit meinen Ergebnissen vergleichend diskutiert.

- Größe, Lage und Morphologie des Ovars

Als Kriterien für die Klassifizierung der Gonaden wurden die Größe (MARSHALL & ORR 1955, DIEL 1991), die Lage (RAZOULS et al. 1991) und die Morphologie (KURBJEWIT 1993) des Ovars verwendet. Bei den von mir untersuchten Arten waren der Aufbau und die Größe der Ovarien relativ konstant. Es ist allerdings möglich, daß durch das Wachstum der Divertikel die Ovarien nach hinten geschoben werden und dadurch vergrößert erscheinen. Zudem ist es bei reifen Weibchen schwierig, den Übergang von den Ovarien zu den Gonodukten auszumachen, was ebenfalls fälschlicherweise als Längenwachstum interpretiert werden könnte. Eine Veränderung der Morphologie des Ovars ist aufgrund des Reifungsmodus der Gonaden der *Calanus*-Arten nicht wahrscheinlich. Zudem könnte sie nur mit histologischen Methoden eindeutig nachgewiesen werden. Daher sind alle drei Parameter keine geeigneten Kriterien.

-Divertikelkanäle

Viele Autoren benutzen den Füllungsgrad eines dorsalen bzw. ventralen "Kanals" der Divertikel als Kriterium zur Beschreibung des Reifezustandes der Gonaden (*Calanus finmarchicus* (MARSHALL & ORR 1955), *C. glacialis* (HIRCHE & BOHRER 1987), *Metridia longa* (TANDE & GRØNVIK 1983), *C. pacificus* (RUNGE 1985a)). Diese Beobachtungen wurden an fixierten, gefärbten ganzen Tieren gemacht. Wie in Kapitel 5.3.1 schon diskutiert, konnte ich bei der lichtmikroskopischen Untersuchung von Schnittpräparaten der drei *Calanus*-Arten die Unterteilung der Divertikel in einen dorsalen und einen ventralen Kanal nicht bestätigen. Da alle oben genannten Arten über einen längeren Zeitraum heranreifen, bis in der Reproduktionsphase in regelmäßigen Abständen Gelege abgegeben werden, ist auch der Gonadenaufbau vermutlich gleich. Ohne die histologische Untersuchung können

möglicherweise die jungen, dorsal liegenden Oocyten als oberer Kanal und die reifen, ventral liegenden Oocyten als unterer Kanal interpretiert worden sein.

- Oocytenanzahl

Viele der bisher veröffentlichten Schemata beziehen sich auf die Anzahl der Oocytenreihen in den Divertikeln und/oder Ovidukten (z.B. RAZOULS et al. 1991, DIEL 1991, KURBJEWIT 1993). Dieses Kriterium ist meines Erachtens problematisch: Eine große Zahl von Oocyten in den Gonodukten kennzeichnet zwar meist reife Gonaden, eine geringe Anzahl Oocyten in den Gonodukten ist aber nicht gleichbedeutend mit "unreifen Gonaden". Dies haben besonders die vorliegenden Untersuchungen an *Calanus hyperboreus* und an *C. glacialis* gezeigt: Bei beiden Arten legten auch Weibchen, bei denen makroskopisch nur wenige Oocyten in den Gonodukten zu sehen waren, Eier ab. Diese Weibchen waren also zur Reproduktion fähig, wären aber bei dem Kriterium "Oocyten-Anzahl in den Gonodukten" als unreif eingestuft worden. Nach dem von mir entwickelten Schema wurden die Weibchen als reif (reproduzierfähig) eingestuft, da reife Oocyten in ventralen Bereich der Gonade zu finden waren. Die Methode, die die Qualität und damit den Reifungsgrad der Oocyten berücksichtigt, ermöglicht im Gegensatz zu dem quantitativen Kriterium der Oocytenzahl eine sichere Identifizierung der reifen Weibchen. Die Erfassung der Oocytenzahl in den Gonodukten gibt dagegen eher Aufschluß darüber, wieviele Eier abgelegt werden. Dieser Punkt wird ausführlich im Kapitel 5.4 diskutiert.

RUNGE (1987) benutzt bei *Calanus finmarchicus* für die Einteilung der Gonaden die Zahl und die Morphologie der Oocyten. Damit kommt seine Einteilung dem in dieser Arbeit entwickelten Schema am nächsten. Allerdings wurden von RUNGE keine histologischen Arbeiten durchgeführt. Seine Einteilung beruht auf empirischen Beobachtungen und Literaturdaten. Aufgrund meiner histologischen Untersuchung komme ich zu folgenden Unterschieden: RUNGE (1987) beschreibt die hellen, kleinen Oocyten in den Gonodukten analog einer Untersuchung von BLADES-ECKELBARGER & YOUNGBLUTH (1984) an *Labidocera aestiva* als "prävitellogen". Dies konnte ich in meiner Untersuchung nicht bestätigen. Auch in den kleinen Oocyten von *C. finmarchicus* waren Dottervesikel zu finden, vitellogene Prozesse laufen damit also schon in diesem Stadium ab. Außerdem führt RUNGE (1987) zwei Gonaden-Stadien (4 und 5) an (vergl. Tab. 5.1), in welchen er Gonaden mit "vitellogenen" (braunen) Oocyten in den Divertikeln und "prävitellogenen" (transparenten) Oocyten in den Ovidukten beschreibt. Meine Untersuchungen hingegen haben gezeigt, daß bei *C. finmarchicus* in den Divertikeln und den Ovidukten immer die gleichen Oocytenreifstadien zu finden waren (vergl. Kap. 4.1.2.2). Auch in den lebenden Weibchen von *C. hyperboreus* traten Orange-Färbungen der Oocyten immer sowohl in den Divertikeln als auch in den Ovidukten auf (vergl. Kap. 4.3.3.1). In allen

untersuchten Weibchen, auch in den präparierten, war kein den Stadien 4 und 5 von RUNGE (1987) analoges Erscheinungsbild der Gonaden zu finden. Da die Divertikel eng nebeneinander im Tier liegen, liegen bei lateraler Ansicht in der ventralen Schicht mehr OS 3 und/oder OS 4 nebeneinander als in den Ovidukten. Dies könnte dazu führen, daß bei lateraler Ansicht die Oocyten in den Divertikeln eher dunkel erscheinen, als dies in den Ovidukten der Fall ist.

5.4 Quantitative Vorhersage der Eiproduktion

Zur Bestimmung der Produktivität der Copepoden werden verschiedene Methoden verwendet: Kohortenanalyse nach KIMMERER (1987), Temperaturmethode nach HUNTLEY & LOPEZ (1992) und Exponentielle Methode nach CONOVER & HUNTLEY (1991), Physiologische Methode nach OMORI & IKEDA (1984). Unter der Annahme, daß bei den adulten Weibchen kein somatisches Wachstum mehr stattfindet, sondern eine Produktion ausschließlich in Form von Eiern erfolgt, gewinnt außerdem die Messung der Eiproduktion zunehmend an Bedeutung für die Bestimmung der Produktion der Copepoden (MCLAREN 1969, SEKIGUCHI et al. 1980, HIRCHE et al. 1991). BERGGREN et al. (1988) stellten fest, daß die somatische Wachstumsrate der Juvenilen und die Eiproduktionsrate der Weibchen bei *Acartia tonsa* gleich sind, und daher über die Eiproduktionsrate die P/B-Rate der gesamten Population abgeschätzt werden kann.

Die Vorteile der Eiproduktionsratenbestimmung gegenüber den oben genannten Methoden sind, daß die zu ermittelnde Variable (Eier W^{-1}) schnell und direkt gemessen werden kann. Außerdem reagieren die Copepoden auf Veränderungen der Nahrungsversorgung und der physikalisch-chemischen Parameter schnell mit veränderter Eiproduktionsrate (HIRCHE et al. im Druck), so daß diese als guter Indikator für die Qualität der Umweltbedingungen angesehen werden kann (PARRISH & WILSON 1978). Der Nachteil ist, daß die Eiproduktionsrate bisher nur experimentell und unmittelbar nach dem Fang bestimmt werden kann. Eine Methode, die die Messung der Eiproduktionsrate anhand fixierter Proben ermöglicht, wäre daher von deutlichem Vorteil. Bei einigen Copepoden-Arten wurden Zusammenhänge zwischen Morphologie und Reproduktionsrate diskutiert (IANORA & SCOTTO DI CARLO 1988 *Acartia clausi* und *C. typicus*, IANORA et al. 1989 *Temora stylifera*, IANORA 1990 *Centropages typicus*), die Beziehungen wurden bisher aber nicht quantifiziert.

RUNGE (1987) fand bei *C. finmarchicus* eine signifikante Korrelation zwischen dem Reproduktionsindex (Reproductive Index), der den Prozentsatz reifer Weibchen in einer

Diskussion

Population angibt, und der Eiproduktionsrate. Er nahm an, daß anhand dieser Beziehung die Eiproduktionsrate an fixierten Proben vorhergesagt werden kann. Die Eiproduktionsrate in einer Population ist jedoch abhängig von der Häufigkeit der Eiablagen und der Größe der Gelege. Die Frequenz der Eiablagen wird dabei vom Anteil der eierlegenden Weibchen, also dem Reifegrad der Gonaden, und der Dauer des Eiablagezyklus, die sich in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Nahrungsangebot verändert (HIRCHE 1990, HIRCHE et al. im Druck), bestimmt. Auch die Gelegegröße kann sich über einen längeren Zeitraum signifikant verändern (DIEL & TANDE 1992, diese Arbeit) und hängt außerdem von der Länge der Weibchen ab (RUNGE & PLOURDE 1994). Die Methode von RUNGE (1987) kann daher nur bei Populationen mit bekannter Eiablage-Frequenz und Gelegegröße angewendet werden. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb versucht, die drei wesentlichen Parameter - Anteil eierlegender Weibchen, Frequenz der Eiablagen und Gelegegröße - getrennt zu erfassen:

(1) Der Anteil eierlegender Weibchen und Frequenz

Der Vergleich zwischen dem Gonaden-Index (GI = Prozentsatz der Weibchen im GS 4) und dem Anteil eierlegender Weibchen zeigt, daß der GI die Weibchen beschreibt die sich im Eiablagezyklus befinden.

Bei *Calanus finmarchicus* war der GI proportional dem prozentualen Anteil eierlegender Weibchen 24 h^{-1} , wie die hochsignifikante Korrelation ($r^2 = 0,923$) zeigt, allerdings lag er manchmal etwas höher als der Prozentsatz der eierlegenden Weibchen (vergl. Kap. 4.1.4.1). Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß die Wassertemperatur im Freiland unter $5 \text{ }^\circ\text{C}$ lag. Da die Intervalle zwischen den Eiablagen mit abnehmender Temperatur größer werden (MEYER 1991, HIRCHE 1990), dauerte bei einigen Weibchen der Eiablagezyklus wahrscheinlich länger als 24 h. Zusätzlich liegt bei einigen Weibchen aufgrund der statistischen Variabilität des Mittelwertes der Eiablagezyklus über 24 h. Die Eiablagen dieser Weibchen wurden nicht in den 24 h der Inkubation erfaßt.

Unter den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Freilandbedingungen kann der Anteil eierlegender Weibchen 24 h^{-1} anhand des GI ermittelt werden, und die Frequenz muß nicht zusätzlich bestimmt werden. Diese Ergebnisse lassen sich wahrscheinlich auf Gebiete mit ähnlichen Umweltfaktoren (Verlauf der Phytoplanktonblüte, Wassertemperaturen) übertragen.

Der GI korreliert ebenfalls signifikant mit der Gelegegröße (vergl Kap. 4.1.4.1), obwohl die Einordnung der Gonaden in das GS 4 nicht aufgrund quantitativer Merkmale erfolgte. Ein kausaler Zusammenhang zwischen dem GI und der Gelegegröße besteht

daher nicht, sondern offensichtlich werden mit zunehmender Anzahl reifer Weibchen die Gelege größer. Dieser Punkt wird im Kapitel 5.5 ausführlich diskutiert.

Auch zwischen der Eiproduktionsrate und dem GI bestand eine signifikante Korrelation (vergl. Kap. 4.1.4.1). Dieser Zusammenhang ist aber nicht kausal, da die Eiproduktionsrate von der Anzahl eierlegender Weibchen und der Gelegegröße abhängt. Er resultiert daher vielmehr aus der direkten Beziehung zwischen der Anzahl eierlegender Weibchen und dem GI und auch aus der nicht-kausalen Korrelation des GI und der Gelegegröße.

Bei *C. hyperboreus* wurde durch die direkte Beobachtung im Labor festgestellt, daß sich Weibchen im GS 4 und GS 5 in der Reproduktionsphase befinden. Im fixierten Zustand wurden GS 4 und GS 5 zusammengefaßt. Der GI entsprach also bei *C. hyperboreus* dem Anteil der Weibchen im Eiablagezyklus. Der Zusammenhang zwischen dem GI und dem Anteil der eierlegenden Weibchen war jedoch aufgrund der niedrigen und stark schwankenden Frequenz der Eiablagen statistisch nicht nachzuweisen: Zwischen dem Erreichen des GS 5 bzw. GS 4 und der Eiablage vergingen bis zu 3 Wochen. Auch bei Vorhandensein relativ vieler reifer Weibchen hatte daher am Tag der Kontrolle entweder kein oder nur 1 bis maximal 5 Weibchen gleichzeitig an einem Tag Eier abgelegt.

Bei den drei untersuchten Arten ist die Frequenz der Eiablagen unter gegebenen Umweltbedingungen aus der Literatur bekannt (z.B. *Calanus finmarchicus* (HIRCHE 1990, MEYER 1991, HIRCHE et al. im Druck), *C. glacialis* (HIRCHE & BOHRER 1987, HIRCHE 1989), *C. hyperboreus* (HIRCHE & NIEHOFF im Druck). So zeigte die vorliegende Untersuchung, daß der GI bei *C. finmarchicus* den Anteil der Weibchen beschreibt, die innerhalb von 24 h Stunden Eier ablegen (s.o.).

Eine Möglichkeit, die Frequenz abzuschätzen, wäre eventuell, die Anzahl Weibchen mit OS 4 zu bestimmen, da bei allen drei untersuchten Arten OS 4 erst relativ kurz vor der Eiablage, das heißt im letzten Drittel des Intervalls zwischen zwei Eiablagen, zu finden waren. Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen von HARDING et al. (1951) und HARDING (1963) für *C. finmarchicus* und MULLIN (1967) für *C. helgolandicus*. Reife Oocyten, deren Kerne aufgelöst sind (OS 4), sind so ein sicheres Indiz dafür, daß die Weibchen kurz vor der Eiablage stehen.

Ein hoher Anteil reifer Weibchen mit OS 4 würde demnach bedeuten, daß die Frequenz der Eiablage hoch ist. Ein hoher Anteil reifer Weibchen mit OS 3 dagegen würde eine niedrige Frequenz der Eiablagen bedeuten. Dies trifft jedoch nur zu, wenn OS 3 und OS 4 mit unterschiedlichen Entwicklungszeiten auf Umweltbedingungen wie Nahrung oder Temperatur reagieren, d.h. also, wenn das Verhältnis, in dem Weibchen mit OS 3 und

Diskussion

Weibchen mit OS 4 zueinander vorliegen, variabel ist. Für diese Annahme gibt es bislang keine Beweise, dennoch lassen sich folgende Überlegungen anstellen:

Im OS 3 ist das Wachstum der Oocyten besonders hoch (vergl. Kap. 4.1.1), die Oocyten bilden den größten Teil des Dottermaterials (HILTON (1931)). Im OS 4 dagegen werden vermutlich im Vergleich zum OS 3 erheblich weniger Stoffe eingelagert. Damit könnte die Entwicklungszeit im OS 3 von einer Änderung der Nahrungsversorgung oder der Temperatur stärker beeinflusst werden als die Dauer des OS 4. Diese Hypothese muß jedoch experimentell überprüft werden, um die tatsächlichen Auswirkungen der Umweltbedingungen auf die Oocytenentwicklung zu erfassen.

(2) Gelegegrößen

Während die individuelle Gelegegröße stark schwankt (RUNGE 1985b, HIRCHE 1990), bleibt die durchschnittliche Gelegegröße relativ konstant (HIRCHE 1990). Ziel dieser Untersuchung war es, die durchschnittliche Gelegegröße einer Population anhand fixierter Proben zu bestimmen. Die Methode zur Bestimmung der Gelegegröße basiert auf den Ergebnissen der histologischen Untersuchungen, nach denen die erwartete Gelegegröße (EGG) der Anzahl Oocyten, die sich im abschließenden Reifungsprozeß befinden, entsprechen muß. Bei *Calanus finmarchicus* und *C. glacialis* sind dies die ventral liegenden OS 3 oder OS 4, bei *C. hyperboreus* die dunklen Oocyten (im GS 5a mit und im GS 5b ohne Kern) (vergl. Kap. 4.1.2.3, Kap. 4.2.2 und Kap. 4.3.2).

Da die Tiere beim Fixieren abgetötet werden, läßt sich die tatsächliche Gelegegröße nicht mehr ermitteln. Die tatsächliche und die erwartete Gelegegröße konnten daher nur indirekt miteinander verglichen werden. Zu diesem Zweck wurden die durchschnittlichen Gelegegrößen der einzelnen Weibchen (individuelle Gelegegröße = MIGG) und aller Weibchen (mittlere Gelegegröße = GMGG) während der Hälterung ermittelt. Diese Daten wurden dann mit der erwarteten Gelegegröße der einzelnen Weibchen (individuelle erwartete Gelegegröße = EGG) bzw. der erwarteten Gelegegröße aller Weibchen (mittlere erwartete Gelegegröße = MEGG) verglichen.

Bei *C. finmarchicus* war die MEGG genauso hoch wie die GMGG, es war kein signifikanter Unterschied zwischen diesen Werten nachzuweisen. Dieses Ergebnis ist ein Hinweis darauf, daß die durchschnittliche Gelegegröße einer Population anhand der Zählung der OS 3 oder OS 4 ermittelt werden kann. Die individuellen Schwankungen der Gelegegrößen waren dagegen wie erwartet sehr hoch. Die Korrelation der MIGG mit der EGG ist bei *C. finmarchicus* daher nur schwach.

Sowohl bei *C. hyperboreus* als auch bei *C. glacialis* lagen die Werte der MEGG deutlich über denen der GMGG. Ich führe die niedrigeren GMGG auf Eikannibalismus zurück (vergl. Kap. 5.1.3). Bei *C. hyperboreus* waren zusätzlich oft

zahlreiche Eier kurz nach der Eiablage zerplatzt, was ebenfalls zur Unterschätzung der GMGG führte.

Bei *C. glacialis* war im Gegensatz zu *C. hyperboreus* und *C. finmarchicus* die MIGG der einzelnen Weibchen signifikant mit der EGG korreliert, was eventuell auf die höhere Anzahl untersuchter Weibchen zurückzuführen ist. Möglicherweise waren außerdem die individuellen Schwankungen der Gelegegrößen nicht so hoch wie bei den beiden anderen Arten. Es ist denkbar, daß die lange Dauer der Hälterung individuelle Unterschiede in der Produktivität nivelliert hat.

Da bei *Calanus hyperboreus* die Beobachtung am lebenden Tier möglich war, ließ sich der Zusammenhang zwischen den im Tier reifenden Oocyten und der Größe der nachfolgend abgelegten Gelege direkt herstellen: So war die Gelegegröße nach der Reifung mehrerer Reihen Oocyten signifikant größer als nach der Entwicklung von nur einer Reihe. Bei Weibchen, bei denen aufgrund der geringen Anzahl die dunklen Oocyten gezählt werden konnten, entsprach die Größe der Gelege exakt der Anzahl reifender Oocyten.

Nach den vorliegenden Ergebnissen ermöglicht also die Zählung der Oocyten im abschließenden Reifungsprozeß die Bestimmung der Gelegegröße. Die signifikanten Unterschiede zwischen der GEGG und der MEGG beruhen eher auf Problemen bei der Hälterung als auf einem prinzipiellen Fehler der Methodik. Die Methode liefert generell gute Ergebnisse, sie ist jedoch relativ zeitaufwendig. Bei der Anwendung sind folgende Schwierigkeiten zu berücksichtigen: Die Oocyten, die sich zum Ei entwickeln, und die, die in der Gonade im OS 2 verbleiben, sind direkt nach einer Eiablage schwer zu unterscheiden. Hier kann die EGG über- oder unterschätzt werden. Die EGG kann überschätzt werden, wenn Eier direkt nach der Eiablage zerplatzen. Solche Eier bzw. Oocyten können in den fixierten Weibchen nicht identifiziert werden. Die EGG kann unterschätzt werden, wenn histologische Schnitte verloren gehen. Der Verlust schon weniger Schnitte kann aufgrund der geschichteten Anordnung der Oocyten zu einer deutlich geringeren Anzahl an OS 3 oder OS 4 führen, da nur die Nucleoli oder die Chromosomen gezählt werden (vergl Kap. 3.4.2).

Zusammenfassend betrachtet liefert die hier entwickelte Methode zur Abschätzung der Eiproduktionsrate anhand fixierter Proben die folgenden Parameter: Mit dem Gonaden-Index (GI) läßt sich die Anzahl der Weibchen in der Reproduktionsphase bestimmen. Die erwartete Gelegegröße kann durch die Anzahl reifender Oocyten (OS 3 und OS 4) in der Gonade ermittelt werden. Ist die Eiablage-Frequenz unter den untersuchten

Diskussion

Bedingungen bekannt, reichen diese beiden Parameter zur Abschätzung der Eiproduktionsrate aus. Andernfalls könnte der Anteil der reifen Weibchen, die in Kürze Eier ablegen, als Maß für die Frequenz der Eiablage dienen. Daraus läßt sich die Eiproduktionsrate wie folgt berechnen:

$$\text{EPR (Eier } W^{-1} * \text{Zeit}^{-1}) = \text{GI (\%)} * 100 (\%^{-1}) * \text{EGG (Eier } W^{-1}) * \text{Legefrequenz (Zeit}^{-1})$$

mit

EPR = durchschnittliche Eiproduktionsrate in einer Population

GI = prozentualer Anteil Weibchen im GS 4 (%W)

EGG = erwartete Gelegegröße

Während die Bestimmung des GI einfach und schnell möglich ist, erfordert die Ermittlung der Gelegegröße und der Frequenz aufgrund der aufwendigeren Methoden mehr Zeit. Pro Weibchen muß insgesamt für die präparativen und histologischen Arbeitsgänge mit einem Aufwand von ein bis anderthalb Stunden gerechnet werden, bei einer standardisierten Bearbeitung der Proben (z.B. viele Tiere pro Probengefäß, histologische Serienschnitte nur im ventralen Bereich, bzw. von nur einer Seite aufgrund des symmetrischen Aufbaus der Gonade) ließe sich die Zeit sicherlich noch verkürzen. Bei den drei untersuchten *Calanus*-Arten kann grundsätzlich das gleiche Schema für die Erfassung der Reproduktion angewendet werden.

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methode zur Bestimmung der Eiproduktionsraten durch die Kombination von makroskopischer Analyse und Histologie ist bei Copepoden neu, bei anderen marinen Organismen werden jedoch ähnliche Methoden angewendet:

Aufgrund der geringen Größe der Copepoden wurden bislang die Gonaden fast ausschließlich anhand der makroskopischen Beurteilung in Reifestadien eingeteilt. Diese Gonadenreifestadien ersetzen den Gonado-Somatischen-Index (relativer Anteil des Gewichtes der Gonaden am Gesamtgewicht eines Individuums), der z.B. bei den Dekapoden verwendet wird. Zusätzlich haben sich bei der Untersuchung der Reproduktionsbiologie der Dekapoden histologische Methoden etabliert: Wie in dieser Arbeit an den *Calanus*-Arten, werden die Oocyten in Reifestadien eingeteilt und der Reifezustand der Gonaden beschrieben. Die Größenhäufigkeits-Verteilung der Oocyten liefert Informationen zum Modus der Oocytenentwicklung und der Eiablage (z.B. PENN 1980, PAPATHANASSIOU & KING 1984, MINAGAWA et al. 1993, TANFERMIN & PUDADERA 1989, COURTNEY & DREDGE 1988, GORNY & GEORGE, in Vorbereitung).

Auch bei den Fischen werden der GSI und die Histologie verwendet, um die Reproduktionsbiologie zu erfassen (z.B. HUNTER et al. 1992, LISOVENKO & PRUT'KO 1987, MCGREGOR 1976). Bei mehrfach ablaichenden Fischen wird außerdem, ähnlich wie bei den Copepoden versucht, die tägliche Eiproduktion anhand der gefangenen Weibchen zu bestimmen (AHLHEIT 1991, LISOVENKO & ANDRIANOV 1991): Bei der "daily egg production method" (DEPM) liefert die Zählung der hydratisierten Oocyten, die erst kurz vor dem Abweichvorgang zu finden sind, die zu erwartende Anzahl Eier pro Laichvorgang (HUNTER et al. 1985). Analog dazu ergibt bei den von mir untersuchten *Calanus*-Arten die Anzahl OS 3 oder OS 4 in den Gonaden die zu erwartende Gelegegröße. Die Frequenz der Laichvorgänge bei den Fischen wird anhand der postovulatorischen Follikel - diese verbleiben in den Gonaden und haben je nach Zeitpunkt nach der Eiablage ein charakteristisches Aussehen im histologischen Schnitt - bestimmt (HUNTER & GOLDBERG 1980). Entsprechen sind bei den Copepoden die OS 4, genauer die einzeln sichtbaren Chromosomen ein Indiz für die kurz bevorstehende Ablage der Eier.

5.5 Einfluß der Nahrungsverfügbarkeit auf die Reproduktion von *Calanus finmarchicus*

Die Reproduktion der Copepoden wird von den herrschenden Umweltbedingungen beeinflusst: Die Temperatur beeinflusst die Kinetik der Stoffwechselreaktionen generell und hat daher einen wesentlichen Einfluß auf die Geschwindigkeit der Oocytenreife. Die Nahrung liefert die Stoffe, die zum Aufbau der Gonaden und zur Reifung der Oocyten nötig sind. Dabei sind sowohl die Quantität (z.B. MCLAREN 1969, CHECKLEY 1980, SMITH & LANE 1985) als auch die Qualität (MARSHALL & ORR 1955, RAZOULS et al. 1991, JONASDOTTIR 1994) der verfügbaren Nahrung von Bedeutung. Die Nahrungsqualität beeinflusst außerdem die Überlebensrate der Eier bzw. der Embryonen (POULET et al. 1994, IANORA et al. 1995).

In den folgenden Kapiteln wird versucht, aus den Zusammenhängen zwischen Nahrungsbedingungen und Reproduktion sowie Gonadenmorphologie auf die Reproduktionsstrategie von *Calanus finmarchicus* zu schließen. Dazu werden zunächst die Reproduktion und die Nahrungsbedingungen im Grøtsund diskutiert. Im Anschluß werden die generellen Folgen von Nahrungslimitierung erörtert. Als letzter Punkt wird der Einfluß der Nahrung auf die Gelegegröße diskutiert.

5.5.1 Reproduktion im Freiland

Je nach Meeresgebiet entwickelt *Calanus finmarchicus* eine bis mehrere Generationen pro Jahr: In arktischen (LIE 1965, TANDE et al. 1985, DIEL 1991) oder subarktischen Gebieten (TANDE 1982, DIEL & TANDE 1992) gibt es nur eine Generation, während sich in der Norwegischen See und an der südnorwegischen Küste zwei oder drei Generationen entwickeln (WIBORG 1954, MATTHEWS et al. 1978).

Die Entwicklung der *C. finmarchicus*-Population während des Frühjahrs wurde im Malangen-Fjord (DIEL und TANDE 1992), im Balsfjord (TANDE 1982) und im Tromsø Sund (MARSHALL & ORR 1953, *fide* DIEL & TANDE 1992) untersucht. Da diese Fjorde in der näheren Umgebung des Grøtsund liegen, werden die Ergebnisse dieser Untersuchungen an dieser Stelle kurz zusammengefaßt: Die Überwinterungspopulation besteht zum größten Teil aus CV, nur wenige Tiere überwintern als adulte Weibchen oder CIV. Die CV häuten sich in den Monaten Januar und Februar zu Adulten. Zunächst entwickeln sich relativ viele Männchen. In dieser Phase findet die Kopulation statt. Die Abundanz der Männchen und der CV nimmt in den folgenden Monaten ab, bis im April fast nur noch Weibchen zu finden sind. Die

Reproduktionsperiode beginnt im März und dauert bis in den Mai. Ab April können die ersten juvenilen Stadien der neuen Generation nachgewiesen werden.

Im Frühjahr 1994 (diese Arbeit) entwickelte sich die *Calanus finmarchicus*-Population im Grøtsund im Prinzip ähnlich, jedoch mit ca. 14tägiger Verzögerung gegenüber den von DIEL & TANDE (1992) und TANDE (1982) beschriebenen Verhältnissen: So hatte sich zu Beginn meiner Untersuchung Mitte März erst die Hälfte der CV zu Adulten gehäutet (DIEL & TANDE 1992: 75% Adulte, TANDE 1982 ca. 85 % Adulte). Die Gonadenreife der Weibchen verlief wie im Tromsø Sund und im Malangen-Fjord innerhalb von zwei Wochen. Dabei entwickelten sich die Weibchen der Population weitgehend synchron. Der maximale Anteil reifer Gonaden am 14.4. wurde ca. 14 Tage später als in den Untersuchungen von DIEL & TANDE (1992) und TANDE (1982) erreicht.

DIEL & TANDE (1992) unterschieden 3 Abschnitte der Eiproduktionsphase: Im ersten Abschnitt im März stieg die Eiproduktion über ca. 3 Wochen langsam an, erreichte dann für ca. 2 bis 3 Wochen im April maximale Produktionsraten und sank bis Ende Mai sank wieder ab. Auch in meiner Untersuchung verlief die Reproduktion wie von DIEL & TANDE (1992) dargestellt.

Die Phase der maximalen Eiproduktion fiel mit der Phytoplanktonblüte zusammen. Allerdings konnte aufgrund fehlender Meßwerte die Korrelation zwischen den Chl.*a*-Werten in der Wassersäule und Eiproduktionsrate nicht untersucht werden. Die maximale Eiproduktionsrate lag mit 47 Eiern $W^{-1} d^{-1}$ deutlich höher als die von DIEL & TANDE (1992) ermittelten 34 Eier $W^{-1} d^{-1}$. Allerdings erreichten die Weibchen in der Untersuchung von DIEL & TANDE (1992) eine erheblich höhere Gelegegröße. Dieser Punkt wird im Kap. 5.5.5 diskutiert.

5.5.2 Einfluß des Gonadenreifestadiums auf den Beginn der Eiproduktion

Die Nahrungsverfügbarkeit beeinflusst nicht nur die Eiproduktionsrate der reifen *Calanus finmarchicus*-Weibchen, sondern auch die endgültige Reifung der Gonaden und den Zeitpunkt der Eiproduktion (TANDE & HOPKINS 1981, TANDE 1982, GRIGG & BRADWELL 1982, MARSHALL & ORR 1955, RUNGE 1985, HIRCHE 1991). Von der ersten Nahrungsaufnahme an vergehen wenige Tage, bis die ersten Eier abgelegt werden. Dies geschieht unabhängig davon, ob schon zum Zeitpunkt der letzten Häutung Phytoplankton vorhanden ist (MARSHALL & ORR 1956), oder ob sich das Auftreten des Phytoplanktons verzögert (MARSHALL & ORR 1952b). Nach meinen Ergebnissen beeinflusst allerdings der Reifegrad der Gonaden den Zeitraum zwischen

Diskussion

der ersten Nahrungsaufnahme und ersten Eiablage: Die 4-tägige Fütterung der Weibchen, deren Gonaden noch zu wenig entwickelt waren (15. März: 50% GS 1; 30% GS 3), nach der ersten Probennahme führte nicht zur Eiablage. Nach der zweiten Probennahme (21. März: 50% GS 3, 20% GS 5) dagegen waren bei Fütterung am vierten Tag 20% und am 8. Tag 80 % der Gonaden im GS 7 (Abb. 5.3 verdeutlicht diese Zusammenhänge). Ab dem fünften Tag wurde eine signifikant höhere Eiproduktion als bei den nicht-gefütterten Weibchen festgestellt (vergl. Kap. 4.1.5.1). RAZOULS et al. (1991) stellten auch bei *C. pacificus* fest, daß die Reifung der Gonaden im Laborversuch entscheidend vom Reifegrad der Gonaden zum Zeitpunkt des Fanges abhängt.

Wie in Kap. 5.3.3. diskutiert, kann die Entwicklung der Gonaden bis zum GS 5 wahrscheinlich nahrungsunabhängig verlaufen. Das erklärt, warum die Weibchen nach der zweiten Probennahme reifer als die Weibchen nach der ersten Probennahme waren, obwohl nur wenig Phytoplankton in der Wassersäule vorhanden war. Lange Hungerperioden unreifer Weibchen können sich dennoch negativ auf den Zustand der Gonaden auswirken. So zeigte die histologische Untersuchung, daß nach drei Wochen ohne Fütterung die Oocyten in den Gonodukten und auch in der Wachstumszone des Ovars zu Vesikeln degenerierten. Die Degeneration der Oocyten deutet auf eine anschließende Resorption hin (BARTHOLOMÄUS, pers. Mit.). Zur Reifung der Gonaden müßten Oocyten wieder nachgebildet werden, was den Zeitraum zwischen der ersten Nahrungsaufnahme und dem Beginn der Eiproduktion verlängern würde. Dies bestätigt die Vermutung von DIEL & TANDE (1992), daß sich die Länge der Hungerperiode nach der Häutung zum Adultus auf den Zeitraum zwischen der ersten Nahrungsaufnahme und dem Beginn der Eiablage auswirkt.

Insgesamt betrachtet, bedeutet dies für die Reproduktionsstrategie von *C. finmarchicus*, daß sich die Weibchen, wenn auch langsamer als bei Nahrungsaufnahme, zum GS 5 entwickeln können, daß nach längerer Zeit ohne Nahrung jedoch Oocyten in der Gonade degenerieren und vermutlich resorbiert werden. Damit investiert das Weibchen einen Teil seiner Reserven für den Aufbau der Gonaden, um bei günstigen Bedingungen schnell mit der Reproduktion beginnen zu können. Unter suboptimalen Bedingungen jedoch können die Oocyten wieder resorbiert und dem somatischen Stoffwechsel zur Verfügung gestellt werden.

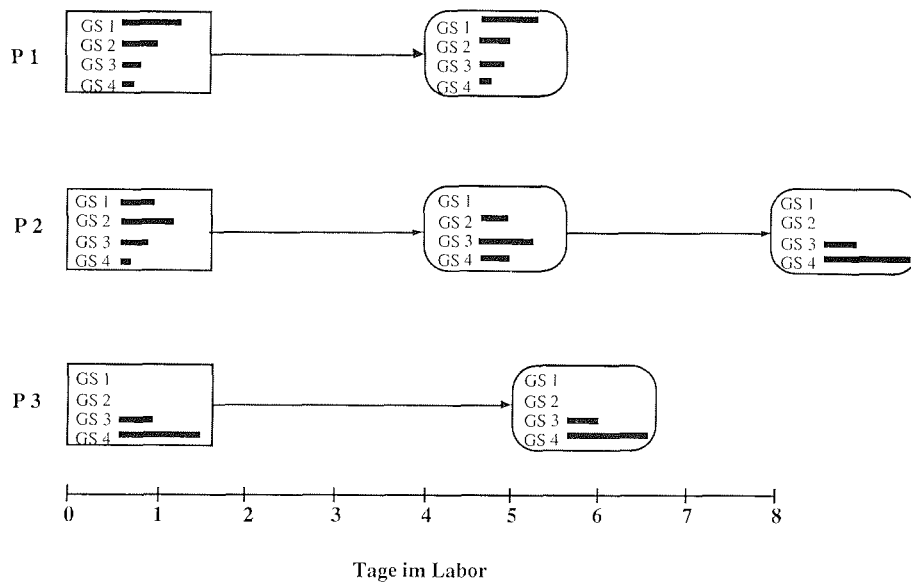


Abb. 5.3: Gonadenreifestadien von *C. finmarchicus* bei drei Probennahmen (P1 - P3, eckige Kästen) und nach anschließender Fütterung im Labor (abgerundete Kästen). Die Summe der schwarzen Balken ergibt 100%. Die Ergebnisse der Lang- und Kurzeithälterung (vergl. Kap. 4.1.5) wurden hier zusammengefaßt.

5.5.3 Reproduktion bei unterschiedlichen Nahrungsbedingungen

Im Gegensatz zur Hypothese der nahrungsabhängigen Reproduktion beobachteten SØMME (1934), DAVIS (1976) und TANDE & HOPKINS (1981) reife Gonaden schon vor der Phytoplanktonblüte. DIEL & TANDE (1992) fanden in ihrer Untersuchung im Malangen-Fjord ebenfalls vor dem Einsetzen der Phytoplanktonblüte schon geringe Eiproduktionsraten. Nach meinen Ergebnissen ergibt sich für die Reproduktionsstrategie von *Calanus finmarchicus* folgendes Bild: Ohne Nahrung entwickeln sich nur wenige Weibchen zum GS 7, Eiproduktion findet in der Regel nicht statt. Unter limitierten Nahrungsbedingungen entwickelt sich zwar der Großteil der Weibchen zum GS 7, die Eiproduktionsrate liegt jedoch unter dem Maximum, da die Frequenz der Eiablagen gering ist. Unter unlimitierten Nahrungsbedingungen sind sowohl der Anteil der reifen Weibchen als auch die Frequenz der Eiablagen hoch, die Eiproduktionsrate erreicht das Maximum.

Bei meiner Untersuchung blieb der größte Teil der nicht-gefütterten Weibchen bei der Langzeithälterung nach der zweiten Probennahme (15. März) unreif und nur wenige Weibchen entwickelten sich zum GS 7 (vergl. Kap. 4.1.5.2). Eine vollkommen nahrungsunabhängige Entwicklung der Gonaden scheint sich also nur bei einem geringen Anteil der Weibchen zu vollziehen. In einem ähnlichen Experiment von PLOURDE & RUNGE (1993) waren ebenfalls nur wenige Weibchen mit reifen Gonaden zu finden. PLOURDE & RUNGE (1993) halten es für möglich, daß ein Teil der Weibchen die Reifung der Gonaden über körpereigene Speicherstoffe versorgt, der Großteil der Weibchen jedoch auf die Phytoplanktonversorgung angewiesen ist. HIRCHE (im Druck) vermutet, daß es sich bei diesen Weibchen wie auch bei *C. glacialis* (HIRCHE & KATTNER 1993) um überwinterte Weibchen handelt.

Die gefütterten Weibchen entwickelten sich nach der zweiten Probennahme im Labor bis zum GS 7 und begannen mit der Eiproduktion. Gonadenreife und Eiproduktionsrate dieser Weibchen am Ende der Fütterung (7 Tage, fixiert am 23.3) entsprachen der Gonadenreife und der in-situ-Eiproduktion der Weibchen im Freiland (3. Probennahme, 28.3.) (Abb. 5.3). Daraus könnte man schließen, daß im Freiland zwischen der zweiten und der dritten Probennahme viel Phytoplankton zur Verfügung gestanden hat. Die Phytoplanktonkonzentrationen waren jedoch Ende März noch gering (vergl. Kap. 2.3). Diese Ergebnisse zeigen, daß bei *C. finmarchicus* auch bei Nahrungslimitierung im Frühjahr die Gonaden reifen und Eier produziert werden können. Daß die Weibchen im Freiland nach der 3. Probennahme tatsächlich Nahrungslimitiert waren, zeigt die Steigerung der Eiproduktionsrate bei Fütterung im Labor. Hier führte die Nahrungsaufnahme zu einer höheren Eiablagefrequenz, wie schon von MEYER (1991) und HIRCHE et al. (im Druck) beobachtet. Das heißt, daß bei hohem Nahrungsangebot die endgültige Reifung der Oocyten, und damit auch die Vitellogenese 2, schneller erfolgt als bei Nahrungslimitierung.

Eine Limitierung der Nahrung bestand bei Versuchen mit *Thalassiosira antarctica* bei Konzentrationen unter $1,6 \text{ mg Chlorophylla l}^{-1}$ (das entspricht einem Kohlenstoffgehalt von 62 g C l^{-1} (MEYER 1991). Hier wird der Kohlenstoffverlust durch die Eiablage nicht durch den mit der Nahrung aufgenommenen Kohlenstoff kompensiert. Im Freiland wird eine Nahrungslimitierung wahrscheinlich schon bei höheren Chlorophylla-Werten eintreten, da *C. finmarchicus* im allgemeinen Partikel größer $5 \mu\text{m}$ aufnimmt (FROST 1972), kleinere Phytoplankter also nicht nutzen kann.

5.5.4 Hungereffekt oder Seneszenz?

In diesem Kapitel wird diskutiert, ob altersbedingte Fehlfunktionen oder Hungereffekte verantwortlich für die Verringerung der Eiproduktionsrate und den Abbau der Oocyten sind: Ab Anfang Mai stieg der Anteil der Weibchen, deren Gonaden die Merkmale von "Seneszenz" aufwiesen. Gleichzeitig verringerten sich die Eiproduktionsraten. DIEL & TANDE (1992) führten ähnliche Beobachtungen auf eine beginnende Seneszenz der Weibchen zurück. In der Literatur werden die Begriffe "seneszent" oder "abgelaicht (spent)" benutzt (z.B. MARSHALL & ORR 1955, SMITH 1990), beide beschreiben jedoch lediglich einen Zustand der Gonaden nach der Reproduktionsperiode, unabhängig von möglicherweise wirksamen Umweltfaktoren. Möglicherweise bewirkte jedoch ein verändertes Nahrungsangebot, daß die Weibchen die Reproduktion einstellen.

Für die *Calanus finmarchicus*-Weibchen heiße Seneszenz, daß vor allem altersbedingte Effekte ab Mai die Reproduktionsrate verringern. Die Hälterung nicht gefütterter Weibchen zeigte jedoch, daß anfangs reife Weibchen bei Nahrungsmangel unabhängig vom Fangtermin "seneszent" werden. Der Anteil der "seneszenten" Gonaden nimmt dabei mit der Hälterungsdauer zu (vergl. Kap 4.1.5). Die Eiproduktionsrate verringerte sich ab dem 2. Tag im Labor, wie auch von HIRCHE (1990) und HIRCHE et al. (im Druck) nachgewiesen wurde. Reproduzierende Weibchen sind demnach nach Eintritt von Nahrungsmangel in der Lage, noch ein bis zwei weitere Gelege zu produzieren. Das bedeutet, daß die Oocyten, die einen bestimmten Reifegrad erreicht haben, in jedem Fall endgültig reifen und abgegeben werden können. Eine weitere Reifung der nachfolgenden Schichten von Oocyten findet jedoch nicht mehr statt oder verläuft nur sehr langsam, wie die geringen Eiproduktionsraten (diese Arbeit, HIRCHE 1990, HIRCHE et al. im Druck) und der geringe Anteil reifer Weibchen unter Nahrungsmangel zeigen. Wie die histologischen Untersuchungen belegen, kehrt sich im Gegenteil der Reifungsprozeß um: Oocyten beginnen zu degenerieren, was auf eine Resorption des Oocytenmaterials hinweist (BARTHOLOMÄUS pers. Mit.). Dieser Prozeß verstärkt sich mit zunehmender Dauer der Hungerperiode und kann sogar zu einer vollständigen Reduktion der Oocyten in den Gonodukten führen: so waren nach der Langzeithlterung bei Hunger die Gonodukte der anfangs reifen Weibchen leer. Auf der anderen Seite entwickelten "seneszente" Weibchen bei Fütterung im Labor reife Gonaden und nahmen die Eiproduktion wieder auf (vergl. Kap. 4.1.5.1); der Degenerationsprozeß ist demnach reversibel. Experimente von HIRCHE (1990) belegen zudem, daß *C. finmarchicus* bei Fütterung beständig eine Eiproduktion zwischen 20 und 30 Eiern $W^{-1} d^{-1}$ über sechs Wochen bei 0 °C aufrecht erhalten kann.

Diskussion

Da es sich bei den beobachteten Phänomenen also offensichtlich um Hungereffekte und nicht um Seneszenz handelt, erscheint der Ausdruck "postreproduktiv" zur Beschreibung der Weibchen nach der Eiproduktionsperiode treffender. In dieser Arbeit ist der Begriff "seneszent" daher im Sinne von "postreproduktiv" verwendet.

Der bei zunehmender Länge der Hungerphase fortschreitende Abbau der Oocyten in den Gonodukten kann möglicherweise auch die unterschiedlichen Reaktionen der Weibchen auf Futterzugabe nach verschiedenen langen Hungerphasen erklären: Mit zunehmender Dauer der Hungerperiode scheint sich die Reaktionszeit auf die Futterzugabe zu verlängern. So nahmen anfangs reife Weibchen nach 2, 4 oder 7 Tagen unter Hungerbedingungen die Reproduktion innerhalb von ca. 2 Tagen wieder auf (HIRCHE 1990), während nach zwölf tägiger Hälterung ohne Futter die Eiproduktion erst nach 4 Tagen wieder anstieg, die Gelegegröße aber deutlich geringer blieb als vor der Hungerperiode (HIRCHE et al. im Druck). Bei länger andauernder Hungerperiode müssen wahrscheinlich erst OS 1 und OS 2 gebildet werden und diese in die Gonodukte wandern, bevor die Produktion beginnen kann, während bei kürzeren Phasen noch intakte OS 2 vorhanden sind, die schnell die Reifung aufnehmen können.

Die Oocyten im Ovar werden bei längerer Hungerphase ebenfalls abgebaut: Sowohl bei den unreifen als auch bei reifen Weibchen verringerte sich die Länge der Ovarien der nicht gefütterten Tiere während der Langzeithälterung signifikant, bei gefütterten Weibchen dagegen blieb sie konstant. Die Zonierung der Ovarien blieb jedoch erhalten, allerdings entstanden in der Wachstumszone große Zwischenräume zwischen den Oocyten. Unter Hungerbedingungen scheinen also auch Prozesse im Ovar, wie die Proliferation junger Oogonien und deren Reifung zum OS 1 langsamer oder gar nicht mehr abzulaufen. In der Teilungs- und auch der Synapsiszone degenerierten die Oocyten erst nach dreiwöchiger Hungerperiode, auch wenn schon vorher die Breite dieser Zonen abnahm.

Die Degeneration der Oocyten vollzieht sich unabhängig vom Gonadenreifezustand der Weibchen demnach in einer bestimmten Abfolge: Der Abbau der Gonaden beginnt mit den älteren Oocyten in den Gonodukten, später degenerieren auch die jungen Oocyten der Wachstumszone und zuletzt die der Synapsis- und der Teilungszone. Dies kann gegenüber einem gleichzeitigen Abbau aller Oocyten als eine Anpassung der Weibchen an Hungerperioden interpretiert werden: Da das Keimgewebe im Ovar erst spät degeneriert, können die Weibchen auch relativ lange Hungerperioden ohne Verlust ihrer Reproduktionsfähigkeit überstehen.

5.5.5 Nahrung und Gelegegröße

Die Gelegegröße ist ein wichtiger Faktor bei der Reproduktion der *Calanus*-Arten. Sie kann sich in einer Population signifikant verändern, wie in der vorliegenden Arbeit und von DIEL & TANDE (1992) nachgewiesen wurde. Über die Gründe, die zur Veränderung der Gelegegröße führen, gibt es unterschiedliche Auffassungen: DIEL & TANDE (1992) vermuten, daß ein interner Regulationsmechanismus ("biological clock") die Größe der Gelege bestimmt, während OHMANN & RUNGE (1994) die Nahrungsbedingungen für den maßgeblichen Faktor halten. Diese Frage wird neben weiteren möglichen Gründen in diesem Kapitel diskutiert.

RUNGE & PLOURDE (1994) stellten eine signifikante Korrelation der Gelegegröße mit der Länge des Prosomas der Weibchen fest, als sie die Daten von sehr unterschiedlich großen Tieren miteinander verglichen. Aufgrund der hohen Variabilität der Gelegegrößen läßt sich jedoch innerhalb einer geringen Bandbreite der Größen keine signifikante Korrelation herstellen (HIRCHE 1990). In dieser Arbeit wie auch in der Untersuchung von DIEL & TANDE (1992) lag die Prosomalänge der Weibchen von *C. finmarchicus* durchgängig bei ca. 2,6 mm, während sich die Gelegegröße signifikant veränderte - ein Zusammenhang zwischen der Größe der Weibchen und der Gelegegröße war daher nicht gegeben.

Die Copepoden-Weibchen können auf sich während der Reproduktionsphase verändernde Umweltbedingungen unterschiedlich reagieren: (1) Die Gelegegröße verändert sich und die Intervalle zwischen den Eiablagen bleiben konstant (z.B. *Pseudocalanus minutus* MCLAREN 1969). (2) Die Gelegegröße bleibt konstant und die Intervalle zwischen den Eiablagen verändern sich (z.B. *Scottolana canadensis* Harpacticoida, HARRIS 1977). (3) Sowohl die Gelegegröße als auch die Intervalle zwischen den Eiablagen verändern sich (z.B. *C. pacificus* RUNGE 1984 und *Euterpina acutifrons* Harpacticoida ZURLINI et al. 1978).

Die Wassertemperatur kann als Faktor für die Veränderung der Gelegegrößen ausgeschlossen werden, da sich bei *C. finmarchicus* die Zeitspanne zwischen zwei Eiablagen mit der Temperatur verändert, während die Gelegegröße relativ konstant bleibt (MEYER 1991, HIRCHE 1990, HIRCHE et al. im Druck).

In meiner Untersuchung fielen die größten Gelege mit der hohen Phytoplanktonkonzentration Mitte April zusammen. Die Gelegegröße vor dieser Phase unterschied sich nicht signifikant von der Gelegegröße nach dieser Phase. Über die Nahrung werden direkt die benötigten Lipide und Proteine für die Dotter- und Speicherstoffsynthese bereitgestellt, wobei wahrscheinlich besonders während der

Diskussion

Vitellogenese 2 (vergl Kap. 5.2.2) ein großer Bedarf an Energie besteht. Eine Erhöhung der Nahrungskonzentration, oder bei Nahrungsüberschuß der Qualität (OHMANN & RUNGE 1993), könnte die Reifung von mehr Oocyten im einem Reifungsintervall bewirken, während durch die Temperatur die Geschwindigkeit der Oocytenreifung eines Geleges festgelegt wird und deshalb bei 5 °C immer innerhalb von ca. 24 h Stunden erfolgt (MEYER 1991, HIRCHE et al. im Druck).

Ein unterschiedliches Nahrungsangebot könnte auch die unterschiedlichen Gelegegrößen zwischen dieser Untersuchung und der von DIEL & TANDE (1992) erklären: Die *C. finmarchicus*-Weibchen erreichten in der Untersuchung von DIEL & TANDE (1992) eine Gelegegröße von durchschnittlich 70 Eiern pro Gelege, während bei meiner Untersuchung die maximale durchschnittliche Gelegegröße bei 52 Eiern pro Gelege lag.

6 Abschlußdiskussion

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Aspekte der Reproduktionsbiologie dreier arktischer *Calanus*-Arten untersucht. Der Schwerpunkt lag dabei auf der Untersuchung der internen Organisation und Reifung der Gonaden und der Morphologie der Oocyten in unterschiedlichen Entwicklungsstadien. Zur Beantwortung dieser Frage wurden histologische Methoden mit der Klassifizierung von Gonadenreifestadien an gefärbten, intakten Tieren kombiniert. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen Rückschlüsse auf den Reifungsmodus der Oocyten und der Gonaden und auf die physiologischen Prozesse der Reifung zu. Im Mittelpunkt dieser Arbeit stand *C. finmarchicus*. An dieser Art wurde auch der Zusammenhang zwischen Nahrung und Gonadenmorphologie untersucht, um die Reproduktionsstrategie besser zu verstehen.

Aus der Kombination meiner Ergebnisse mit Literaturdaten läßt sich ein hypothetisches Modell der Reproduktion von *C. finmarchicus* entwerfen (Abb. 6.1). An diesem Schema sollen die Charakteristika der Reproduktionstrategie von *C. finmarchicus* im Vergleich zu den beiden anderen Arten diskutiert werden. Im Mittelpunkt wird dabei der Zusammenhang zwischen der Gonadenentwicklung und dem Nahrungsangebot stehen. Weiterführend werden die unterschiedlichen Reproduktionsstrategien der drei Arten unter dem Gesichtspunkt der Anpassung an die speziellen polaren Bedingungen interpretiert.

Die CV von *Calanus finmarchicus* nehmen in den Frühjahrs- und Sommermonaten Nahrung auf (Abb. 6.1-A) und überdauern die nahrungsarme Winterzeit in tieferen Wasserschichten bei stark reduziertem Stoffwechsel in einer Diapause (TANDE & SLAGSTAD 1982, HIRCHE 1983, CONOVER 1988). *C. glacialis* und *C. hyperboreus* haben einen mehrjährigen Lebenszyklus, hier bilden auch die CIV und CIII-Stadien einen wesentlichen Teil der Überwinterungspopulation (z.B. DIEL 1991). Die CV von *C. finmarchicus* und *C. glacialis* beginnen während der Wintermonate die Gonaden zu entwickeln (TANDE & HOPKINS 1981, TANDE et al. 1985). Bei *C. finmarchicus* findet die Vitellogenese I sowohl in den CV als auch in den frisch gehäuteten Weibchen ohne Nahrungsaufnahme statt (Abb. 6.1-B,C).

C. finmarchicus entwickelt ohne Nahrung keine reifen Gonaden (vergl. Kap. 5.5.3) und stellt die Eiproduktion innerhalb von zwei Tagen ein (HIRCHE 1990). Den Weibchen genügen aber schon geringe Phytoplanktonkonzentrationen für eine endgültigen Reifung der Oocyten (Abb. 6.1-D) und eine geringe Eiproduktion (MEYER 1993, HIRCHE et al. im Druck). Die Reproduktion ist damit nicht zwingend an die Phytoplanktonblüte gekoppelt, was für die Tiere von Vorteil ist: Bei dem Auftreten der hohen

Abschlußdiskussion

Phytoplanktonkonzentrationen während der Blüte sind die Weibchen schon zur Eiablage bereit und können das Nahrungsangebot sofort zur Reproduktion optimal nutzen. Wenn die Phytoplanktonblüte ausfallen sollte, wird außerdem durch die Ablage wenn auch nur weniger Eier das Überleben der Population wahrscheinlicher. Bislang ist die Energiebilanz für die Eiproduktion unter limitierten Nahrungsbedingungen nicht geklärt. Möglicherweise nutzen die Weibchen hier zusätzlich zur Nahrung die körpereigenen Speicherstoffe, eindeutige Hinweise darauf fehlen jedoch und müßten daher Gegenstand weiterer Studien sein.

Während der Phytoplanktonblüte stammt bei *C. finmarchicus* wahrscheinlich der gesamte Energiebedarf für die Vitellogenese 2 aus der Nahrung (Abb. 6.1-F). Ein hohes Nahrungsangebot führt vor allem zur Erhöhung der Frequenz der Eiablagen (MEYER 1991, HIRCHE et al. im Druck). OHMANN & RUNGE (1994) vermuten, wie es auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nahelegen, daß außerdem die Gelege bei quantitativ und qualitativ guter Nahrungsversorgung größer werden (vergl. Kap. 5.5.5). Dies erweitert die Möglichkeiten von *C. finmarchicus*, das vorhandene Nahrungsangebot optimal auszunutzen. Für *C. finmarchicus* bietet damit eine relativ bald nach der Häutung zum Adultus einsetzende Phytoplanktonblüte die optimalen Bedingungen für die Reproduktion. Auch bei Nahrungslimitierung kann diese *Calanus*-Art begrenzt Eier ablegen, in Hungerperioden findet jedoch keine Reproduktion statt.

C. glacialis kann ebenfalls bei geringen Phytoplanktonkonzentrationen (DIEL 1991) oder im Frühjahr sogar ohne Nahrungsaufnahme mit der Eiproduktion beginnen (HIRCHE & KATTNER 1993). HIRCHE & KATTNER (1993) wiesen nach, daß hier die internen Reservestoffe für die Reproduktion genutzt werden. Bei steigendem Nahrungsangebot erhöht sich auch bei dieser Art die Eiproduktion (MEYER 1991, DIEL 1991).

Die Reproduktion von *C. hyperboreus* ist im Vergleich zu den beiden anderen *Calanus*-Arten am stärksten von der Nahrungsversorgung abgekoppelt. Möglicherweise kann diese Art sogar die Nahrung nicht direkt in Eiproduktion umsetzen, sondern baut zunächst körpereigene Speicherstoffe auf, die dann für die Reifung der Oocyten genutzt werden (vergl. Kap. 5.3.3).

Unter Hungerbedingungen degenerieren die Oocyten in den Gonaden von *C. finmarchicus*, das Material wird vermutlich dem somatischen Stoffwechsel zugeführt (Abb. 6.1-F). Die Degeneration der Oocyten war nach 3-wöchiger Hungerperiode besonders bei den anfangs reifen Weibchen weit fortgeschritten, so daß anzunehmen ist, daß nach noch längeren Hungerperioden auch bei Fütterung keine Reproduktion mehr stattfinden kann. Die Tiere wären demnach in der Lage, Perioden ohne Nahrung nur für einen relativ begrenzten Zeitraum, dessen Dauer bislang nicht bekannt ist, ohne Verlust ihrer Reproduktionsfähigkeit überstehen. Im Vergleich zu *C. finmarchicus* besitzen die

C. glacialis-Weibchen die größere Toleranz gegenüber Hungerphasen (siehe auch DIEL 1991). *C. glacialis* legte nach über sechs Monaten ohne Nahrung bei Fütterung wieder Eier (HIRCHE 1989).

Zusammenfassend betrachtet spiegeln die Reproduktionsstrategien den Grad der Anpassung der drei *Calanus*-Arten an die polaren Bedingungen wider:

An die hohe Variabilität und die kurze Dauer der Phytoplanktonblüte sind *C. glacialis*-Weibchen am besten angepaßt, da einerseits trotz der langen Hungerphasen Reproduktion möglich ist und andererseits das Nahrungsvorkommen direkt zur Reproduktion genutzt werden kann.

C. finmarchicus ist am wenigsten angepaßt, da die Reproduktion dieser Art eng an das Phytoplanktonvorkommen gekoppelt ist. Dennoch sind die Mechanismen, die eine Adaptation an die extrem wechselnden Nahrungsbedingungen darstellen, wie die Einlagerung von Speicherstoffen, die Überwinterung in einer Diapause, die Fähigkeit Hungerperioden zu überstehen und die optimale Nutzung des Nahrungsvorkommens, anscheinend so erfolgreich, daß sie dieser Art auch ein Überleben und eine weite Verbreitung in den höheren Breitengraden ermöglichen.

Im Gegensatz zu den beiden anderen Arten, bei denen das Überleben der Weibchen gegenüber der Reproduktion Vorrang hat, verbrauchen die Weibchen von *C. hyperboreus* die körpereigenen Reserven, um Eier abzulegen. *C. hyperboreus* ist mit dieser Reproduktionsstrategie am besten an die langen Hungerphasen angepaßt, kann aber das Nahrungsangebot nicht für eine Maximierung der Eiproduktion nutzen .

Unterschiede in der Reproduktionsstrategie der drei Arten können evolutionär interpretiert werden: *Calanus finmarchicus* ist eine boreale Art, die im gesamten Nordatlantik bis 79 °N verbreitet ist, während die beiden anderen Arten an die arktischen Gewässer gebunden sind (z.B. GRAINGER 1963, JASCHOV 1970, CONOVER 1988). Im Nordatlantik ist generell die Variabilität des Phytoplanktonvorkommens geringer als im polaren Wasserkörper. Dies könnte der Grund dafür sein, daß *C. finmarchicus* nicht in dem Maße wie *C. hyperboreus* und *C. glacialis* an sehr lange Hungerperioden angepaßt ist, dafür aber das Nahrungsangebot optimal ausnutzen kann.

Abschlußdiskussion

Energiequellen P = Phytoplankton
 R = Reservestoffe
 Energieverbrauch S = somatischer Stoffwechsel
 Rp = Reproduktion

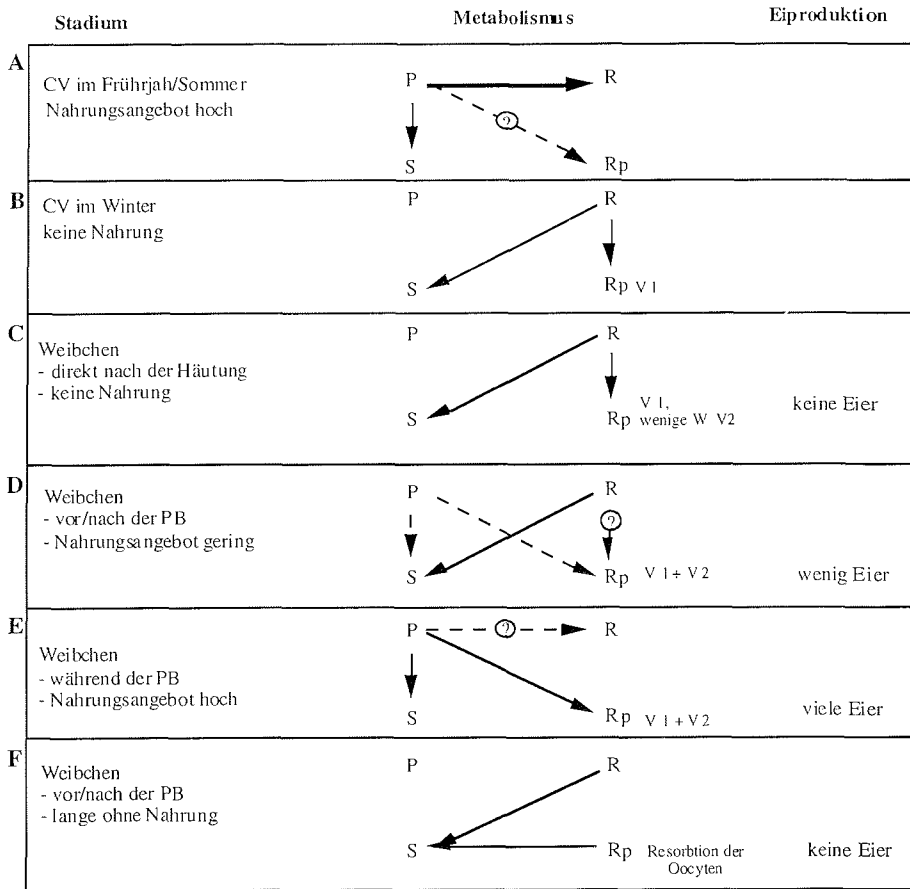


Abb. 6.1: Hypothetisches Modell der Reproduktionsstrategie von *Calanus finmarchicus*. PB = Phytoplanktonblüte, V = Vitellogenese, W = Weibchen.

7. Literatur

- Aagaard, K., (1982). Inflow from the Atlantic Ocean to the Polar Basin. In: Rey, L. (ed), The Arctic Ocean. 69-82.
- Aagaard, K., Coachman, L.K., (1968). The east Greenland current north of Denmark Strait. Part II. Arctic 21: 267-290.
- Adiyodi, R.G., (1985). Reproduction and its control. In: Bliss, D.E., Mantel, L.H. (eds), The biology of crustacea. Academic Press, London, New York. 9: 147-215.
- Adiyodi, R.G., Subramoniam, T., (1983). Arthropoda-Crustacea. In: Adiyodi, K.G., Adiyodi, R.G. (eds), Reproductive biology of invertebrates. Vol 1: Oogenesis, oviposition and oosorption. John Wiley and Sons, New York. 18: 443-495.
- Alheit, J., (1991). Recent advances in the application of the daily egg production method of clupeoid fish. ICES. C.M. H-38: 1-24.
- Arnaud, J., Brunet, M., Mazza, J., (1982). Etude de l'ovogenèse chez *Centropages typicus* (Copepoda, Calanoida). Reprod. Nutr. Dévelop. 22: 537-555.
- Arnaud, J., Brunet, M., Mazza, J., (1978). Studies on the midgut of *Centropages typicus* (Copepoda, Calanoida) I. Structural and ultrastructural data. Cell Tiss. Res. 333-353.
- Batchelder, H.P., (1986). A staining technique for determining copepod gonad maturation: Application to *Metridia pacifica* from the northeast pacific ocean. J. Crust. Biol. 6: 227-231.
- Beams, H.W., Kessel, R.G., (1963). Electron microscope studies on developing crayfish oocytes with special references to the origin of yolk. J. Cell. Biol. 18: 621-649.
- Berggreen U., Hansen, B., Kiorboe, T., (1988). Food size spectra, ingestion and growth of the copepod *Acartia tonsa* during development: implications for determination of copepod production. Mar. Biol. 99: 341-352.
- Blades-Eckelbarger, P.I., (1986). Aspects of internal anatomy and reproduction in the Copepoda. In: Schriever, G., Schminke, H.K., Shih, C.T. (eds), Proc. 2nd Int. Conf. Copepoda Nat. Mus. Canada. 58: 26-50.
- Blades-Eckelbarger, P.I., Marcus, N.H., (1992). The origin of cortical vesicles and their role in egg envelope formation in the "Spiny" eggs of a calanoid copepod, *Centropages velificatus*. Biol. Bull. 182: 41-53.
- Blades-Eckelbarger P.I., Youngbluth M.J., (1984). The ultrastructure of oogenesis and yolk formation in *Labidocera aestiva* (Copepoda: Calanoida). J. Morph. 179: 33-46.
- Browdy, C.L., Fainzilber, M., Tom, M., Loya, Y., Lubzens, E., (1990). Vitellin synthesis in relation to oogenesis in In vitro-incubated ovaries of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). J. Exp. Zool. 255: 205-215.

Literatur

- Budéus, G., Schneider, W., (1995). On the hydrography of the Northeast Water Polynya. *J. Geophys. Res.* 100-C3: 4287-4299.
- Budéus, G., Schneider, W., (1994). CTD Measurements. In: Kattner, G., Hirche, H.-J (ed), *Berichte zur Polarforschung, Die Nordostwasser-Polynia-Expedition 1993 Datenband der Arktis-Reisen ARK IX/2 und 3 mit FS "Polarstern"* 145: 4-84.
- Burck, H.-C., (1982). *Histologische Technik*. Georg Thieme, Stuttgart, New York.
- Charniaux-Cotton, H., (1985). Vitellogenesis and its control in malacostracan crustacea. *Am. Zool.* 25: 197-206.
- Charniaux-Cotton, H., Payen, G., (1985). Sexual differentiation. *The Biology of Crustacea* 9: 217-297.
- Checkley, D.M. jr., (1980). The egg production of a marine planktonic copepod in relation to its food supply: Laboratory studies. *Limnol. Oceanogr.* 25: 430-446.
- Clarke, A., (1983). Life in cold water: the physiological ecology of polar marine ectotherms. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Res.* 343-455.
- Conover, R.J., (1988). Comparative life histories in the genera *Calanus* and *Neocalanus* in high latitudes of the northern hemisphere. *Hydrobiologia* 167/168: 127-142.
- Conover, R.J., (1967). Reproductive cycle, early development, and fecundity in laboratory populations of the copepod *Calanus hyperboreus*. *Crustaceana* 13: 61-72.
- Conover, R.J., (1962). Metabolism and growth in *Calanus hyperboreus* in relation to its life cycle. *Rapp. P.-v. Cons. int. mer.* 153: 190-197.
- Conover, R.J., Siferd, T.D., (1993). Dark season survival strategies of coastal zone zooplankton in the canadian Arctic. *Arctic* 46: 303-311.
- Conover, R.J., Huntley, M., (1991). Zooplankton and sea ice - distribution, adaptations to seasonally limited food, metabolism, growth patterns and life cycles strategies in polar seas. *J. Mar. Syst.* 2: 1-41.
- Conover, R.J., Corner, E.D.S., (1968). Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycles. *J. mar. biol. Ass. U.K.* 48: 49-75.
- Corkett, C.J., McLaren, I.A., (1978). The biology of *Pseudocalanus*. *Advances in Biology* 1: 1-231.
- Corkett, C.J., McLaren, I.A., (1969). Egg production and oil storage by the copepod *Pseudocalanus* in the laboratory. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 3: 99-105.
- Courtney, A.J., Dredge, M.C.L., (1988). Female reproductive biology and spawning periodicity of two species of King Prawns, *Penaeus longistylus* Kubo and *Penaeus latisulcatus* Kishinouye, from Queensland's east coast fishery. *Aust. J. Mar. freshwater Res.* 39: 729-741.

- Davis, C.C., (1976). Overwintering strategies of common planktic copepods in some North Norway fjords and sounds. *Astarte* 9: 37-42.
- Dehn, P.F., Aiken, D.E., Waddy, S.L., (1983). Aspects of vitellogenesis in the lobster *Homarus americanus*. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 1161: 1-24.
- Diel, S., (1991). Zur Lebensgeschichte dominanter Copepodenarten (*Calanus finmarchicus*, *C. glacialis*, *C. hyperboreus*, *Metridia longa*) in der Framstraße. In: *Berichte zur Polarforschung* 88: 1-113
- Diel, S., Tande, K., (1992). Does the spawning of *Calanus finmarchicus* in high latitudes follow a reproducible pattern? *Mar. Biol.* 113: 21-31.
- Düsterloh, S., (1995). Der Einfluß der dominanten herbivoren Copepoden auf die Entwicklung der Frühjahrsblüte in der Grönlandsee. Diplomarbeit, Universität Oldenburg. 1-93.
- Eilertsen, H.C., Hopkins, C.C.E., Falk-Petersen, S., K.S. Tande (1981). Ecological investigations on the plankton community of Balsfjorden, Northern Norway. Program for the project, study area, topography, and physical environment. *Sarsia* 69: 1-15.
- Eurenius, L., (1973). An electron microscope study on the developing oocytes of the crab *Cancer pagurus* L. with special reference to yolk formation. *Z. Morphol. Tiere* 75: 243-254.
- Frost, B.W., (1972). Effects of size and concentration of food particles on feeding behaviour of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnol. Oceanogr.* 17: 805-815.
- Fyhn, U.E.H., Costlow, J.D., (1977). Histology and histochemistry of the ovary and oogenesis in *Balanus amphitrite* L. and *B. eburneus* Gould (Cirripedia, Crustacea). *Biol. Bull. (Woods Hol, Mass)* 152: 351-359.
- Gascard, J.-C., Kergomard, C., Jeannin, P.-F., Fily, M., (1988). Diagnostic study of the Fram Strait marginal ice zone during summer from 1983 and 1984. Marginal ice zone experiment lagrangian observations. *J. Geophys. Res.* 93, C4: 3613-3641.
- Gierloff-Emden, H.G., (1980). *Geographie des Meeres*, Teil 2, W. de Gruyter, Berlin.
- Giese, A.C., Pearse, J.S., (1974). *Reproduction of marine invertebrates. Volume 1 : Acoelomate and pseudocoelomate Metazoans.* Academic Press, New York, London.
- Glauert, A.M., (1975). *Fixation, dehydration and embedding of biological specimen.* North Holland, Amsterdam.
- Gorny, M., George, M.R., (1995). Reproductive cycle and gonad production of the antarctic deep-water shrimp *Nematocarcinus lanceopes* Bate 1888 (Crustacea: Decapoda: Caridea) in the Weddell Sea. In press: *Polar Biol.* 1-8.
- Grainger, E.H., (1963). Zooplankton from the Arctic Ocean and adjacent Canadian waters. *J. Fish. Res. Bd. Canada.* 22(2): 543-564.

Literatur

- Grigg, H., Bardwell, S.J., (1982). Seasonal observations on moulting and maturation in stage V copepodites of *Calanus finmarchicus* from the Firth of Clyde. J. mar. biol. Ass. U.K. 62: 315-327.
- Hagen, W., Schnack-Schiel, S., (1995). Seasonal lipid dynamics in dominant Antarctic copepods : Energy for overwintering or reproduction? Deep Sea Res. in Druck.
- Harding, J.P., (1963). The chromosomes of *Calanus finmarchicus* and *C. helgolandicus*. Crustaceana 6: 81-88.
- Harding, J.P., Marshall, S.M., Orr, A.P., (1951). Time of egg-laying in the planktonic copepod *Calanus*. Nature 167: 953.
- Harris, R.P., (1977). Some aspects of the biology of the harpacticoid copepod, *Scottolana canadensis* (Willes), maintained in laboratory culture. Chesapeake Sci. 18: 245-252.
- Harrison, K.E., (1990). The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review. J. of Shellfish Res. 9: 1-28.
- Heberer, G. (1930). Die Struktur der Oocyten von *Eucalanus elongatus* Dana mit Bemerkungen über den Bau des weiblichen Genitalapparates. Zeitschr. f. wiss. Zool. 136: 155-194.
- Heinrich, A. K. (1962). The life histories of plankton animals and seasonal cycles of plankton communities in the oceans. J. Cons. perm. int. Explor. Mer. 27: 15-24.
- Hilge, V., (1975). Geschlechtsreifung und Laichreifung bei Teleostiern - ein Überblick. Ber. dt. wiss. Kommn. Meeresforsch. 24: 172-183.
- Hilton, I.F., (1931). The oogenesis of *Calanus finmarchicus*. Quart. J. micro. Sc. 74: 193-222.
- Hinsch, G.W., Cone, M.G., (1969). Ultrastructural observations of vitellogenesis in the spider crab, *Libinia emarginata* (L.). J. Cell. Biol. 40: 336-342.
- Hirche, H.-J., (in Druck). The reproductive biology of the marine copepod, *Calanus finmarchicus* - a review. Ophelia.
- Hirche, H.-J., (1995). Überwinterungs- und Fortpflanzungsstrategie arktischer Copepoden. In: Hempel, I., Hempel, G. (eds), Biologie der Polarmeere. Gustav Fischer, Stuttgart, New York. 156-165.
- Hirche, H.-J., (1991). Distribution of dominant calanoid copepod species in the Greenland Sea during late fall. Polar Biol. 11: 351-362.
- Hirche, H.-J., (1990). Egg production of *Calanus finmarchicus* at low temperature. Mar. Biol. 106: 53-58.
- Hirche, H.-J., (1989). Egg production of the Arctic copepod *Calanus glacialis*: laboratory experiments. Mar. Biol. 103: 311-318.

- Hirche, H.-J., (1983). Overwintering of *Calanus finmarchicus* and *C. helgolandicus*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 11: 281-290.
- Hirche, H.-J., Niehoff, B., (in Druck). Reproduction of the Arctic copepod *Calanus hyperboreus* in the Greenland Sea - field and laboratory observations. Pol. Biol.
- Hirche, H.-J., Kattner, G., (1993). Egg production and lipid content of *Calanus glacialis* in spring: indication of a food-dependent and food-independent reproductive mode. Mar. Biol. 117 (4): 615-622.
- Hirche, H.-J., Bohrer, R.N., (1987). Reproduction of the arctic copepod *Calanus glacialis* in Fram strait. Mar. Biol. 94: 11-17.
- Hirche, H.-J., Meyer, U., Niehoff, B., (in Druck). Egg production of *Calanus finmarchicus* - effect of food, temperature and season. Mar. Biol.
- Hirche, H.-J., Baumann, M., Kattner, G., Gradinger, R., (1991). Plankton distribution and the impact of copepod grazing on primary production in Fram Strait, Greenland Sea. J. Mar. Sys. 2: 477-494.
- Hopkins, C.C.E., Tande, K.S., Grønvik, S., Sargent, J.R., Schweder, T., (1984). Ecological investigations of the zooplankton community of Balsfjorden, northern Norway : an analysis of growth and overwintering tactics in relation to niche and environment in *Metridia longa* (Lubbock), *Calanus finmarchicus* (Gunnerus), *Thysanoessa inermis* (Krøyer) and *T. raschi*. (Sars). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 82: 77-99.
- Hopkins, T.L., (1969). Zooplankton standing crop in the Arctic Basin. Limnol. Oceanogr. 14: 80-85.
- Hopkins, T.S., (1991). The GIN-Sea - A synthesis of its physical oceanography and literature review 1972-1985. Earth-Sci. Rev. 30: 175-318.
- Hunter, J.R., Goldberg, S.R., (1980). Spawning incidence and batch fecundity in northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fish. Bull. 77: 641-652.
- Hunter, J.R., Macewicz, B.J., Lo, N.C.H., Kimbrell, C.A., (1992). Fecundity, spawning and maturity of female Dover sole, *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision. Fish. Bull. 90 (1): 101-128.
- Hunter, J.R., Lo, N.C.H., Leong, R.J.H., (1985). Batch fecundity in multiple spawning fishes. In: Lasker, R. (ed), An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: Application to the northern anchovy, *Engraulis mordax*. NOAA Tech. Rep. NMFS. 36: 67-78.
- Huntley, M.E., Lopez, M.D.G., (1992). Temperatur-dependent production of marine copepods: a global synthesis. Am. Nat. 140: 201-242.
- Ianora, A., (1990). The effect of reproductive condition on egg production rates in the planktonic copepod *Centropages typicus*. J. Plankton Res. 12: 885-890.
- Ianora, A., Scotto di Carlo, B., Mascarello, P. (1989). Reproductive biology of the planktonic copepod *Temora stylifera*. Mar. Biol. 101: 187-194.

Literatur

- Ianora, A., Scotto di Carlo, B., (1988). Observations on egg production rates and seasonal changes in the internal morphology of mediterranean populations of *Acartia clausi* and *Centropages typicus*. *Hydrobiologia* 167/168: 247-253.
- Ianora, A., Poulet, S.A., Miralto, A., (1995). A comparative study of the inhibitory effect of diatoms and the reproductive biology of the copepod *Temora stylifera*. *Mar. Biol.* 121: 533-539.
- Jaschnov, W.A., (1970). Distribution of *Calanus* species in the seas of northern hemisphere. *Int. Rev. ges. Hydrobiol* 55: 197-212.
- Jónasdóttir, S.H., (1994). Effects of food quality on the reproductive success of *Acartia tonsa* and *Acartia hudsonica*: laboratory observations. *Mar. Biol.* 121: 67-81.
- Kästner, A. (1993). Lehrbuch der speziellen Zoologie. Band I : Wirbellose Tiere, 4. Teil: Arthropoda (ohne Insecta). Gustav Fischer, Stuttgart, New York.
- Kane, J. (1984). The feeding habitats of co-occurring cod and haddock larvae from Georges Bank. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 16: 9-20.
- Karnovsky, M.J., (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixation of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 27: 137 A.
- Kessel, R.G., (1968). Mechanisms of protein yolk synthesis and deposition in crustacean oocytes. *Z. Zellforsch.* 89: 17-38.
- Kimmerer, W.J., (1987). The theory of secondary production calculation for continuously reproducing populations. *Limnol. Oceanogr.* 32: 1-13.
- Kimoto, K., Uye, S.I., Onbé, T., (1986). Egg production of a brackish-water calanoid copepod *Sinocalanus tenellus* in relation to food abundance and temperature. *Bull. Plankton Soc. Japan* 33: 133-145.
- Kosobokova, K. N., (1993). Reproduction and egg production of the White Sea copepod *Calanus glacialis* under experimental conditions. *Oceanol.* 33 (3): 337-340
- Kosobokova, K.N., (1992). Experimental study of the fecundity of the antarctic copepod *Calanus propinquus*. *Oceanol.* 32: 89-93.
- Kurbjeweit, F., (1993). Reproduktion und Lebenszyklen dominanter Copepodenarten aus dem Weddellmeer, Antarktis. *Ber. Polarforsch.* 129: 1-238.
- Lee, R.F., (1974). Lipid composition of the copepod *Calanus hyperboreus* from the Arctic ocean. Changes with depth and season. *Mar. Biol.* 26: 313-318.
- Lie, U., (1965). Quantities of zooplankton and propagation of *Calanus finmarchicus* at permanent stations on the Norwegian coast and at Spitzbergen, 1959-1962. *Repzt. Norw. Fish. Mar. Invest.* 13: 5-9.
- Lisovenko, L.A., Andrianov, D.P., (1991). Determination of absolute fecundity of intermittenly spawning fishes. *J. Ichthyol.* 31: 143-155.

- Lišovenko, L.A., Prut'ko, V.G., (1987). Reproductive biology of *Diaphus suborbitalis* (Myctophidae) in the equatorial part of the Indian Ocean 2. Fecundity and reproductive potential. J. Ichthyol. 27: 1-12.
- Lowe, E., (1935). On the anatomy of a marine copepod, *Calanus finmarchicus* (Gunnerus). Trans. Roy. Soc. Edin. LVIII: 561-603.
- Lui, C.W., Sage, B.A., O'Connor, J.D., (1974). Biosynthesis of lipovitellin by the crustacean ovary. J. Exp. Zool. 188: 289-296.
- Mackintosh, N.A., (1937). The circulation of the Antarctic macroplankton. Dis. Rep. 16: 365-412.
- MacGregor, J.S., (1976). Ovarian development and fecundity of five species of California current fishes. CalCOFI Rep. 18: 181-188.
- Marshall, S. M., Nicholls A. G., Orr A. P. (1934). On the biology of *Calanus finmarchicus*. V. Seasonal distribution, size, weight and chemical composition in Loch Striven in 1933, and their relation to the phytoplankton. - New Series 19: 793-819.
- Marshall, S.M., Orr, A.P., (1956). On the biology of *Calanus finmarchicus*. IX. Feeding and digestion in young stages. J. Mar. Biol. Ass. UK 35: 587-603.
- Marshall, S.M., Orr, A.P. (1955). The biology of a marine copepod *Calanus finmarchicus* Gunnerus. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- Marshall, S.M., Orr, A.P., (1952 a). Experimental feeding of the copepod *Calanus finmarchicus* (Gunner) on phytoplankton cultures labelled with radioactive carbon (¹⁴C). Deep Sea Res. 3: 110-114.
- Marshall, S.M., Orr, A.P., (1952 b). On the biology of *Calanus finmarchicus*. VII. Factors affecting egg production. J. Mar. Biol. Ass. 30: 527-547.
- Matthews, J.B.L., Hestad, L., Bakke, J.L.W., (1978). Ecological studies in Korsfjorden, western Norway. The generations and stocks of *Calanus hyperboreus* and *C. finmarchicus* in 1971-1974. Oceanologica acta 1: 277-284.
- McLaren, I.A., (1969). Population and production ecology of Ogac Lake, a landlocked fiord on Baffin Island. J. Fish. Res. Bd. Can. 26: 1485-1559.
- Meincke, J., Verch, N., Purschel, W., Baering, S., Dengler, M., Senet, C., Budeus, G., Darnall, C., Johnson, J., Gascard, J.-C., Rouault C. (1994). Physical Oceanography. In: Eicken, H., Meinke J. (eds). Berichte zur Polarforschung, Die Expedition ARKTIS IX/1 of RV "Polarstern" in 1993.
- Meusy, J.J., (1980). Vitellogenin, the extravarian precursor of the protein yolk in Crustacea: a review. Reprod. Nutr. Dévelop. 20: 1-21.
- Meyer, U., (1991). Die Eiproduktion von *Calanus finmarchicus* in Abhängigkeit von Temperatur und Futterangebot. Diplomarbeit, Technische Universität Braunschweig 1-105.

Literatur

- Minagawa, M., Chiu, J.-R., Kudo, M., Ito, F., Takashima, F., (1993). Female reproductive biology and oocyte development of the red frog crab, *Ranina ranina*, of Hachijojima, Izu Islands, Japan. *Mar. biol.* 115: 613-623.
- Mullin, C.H., (1967). Egg-laying in the planktonic copepod *Calanus helgolandicus* (Claus). *Crustaceana*, suppl. 1: 29-34.
- Nemoto, T., Harrison, G., (1981). High latitude ecosystems. In: Longhurst, A.R. (ed), *Analysis of marine ecosystems* Academic Press, London. 95-126.
- Norrbin, M.F., (1991). Gonad maturation as an indication of seasonal cycles for several species of small copepods in the Barents Sea. *Polar Res.* 10: 1-12.
- Ohman, M.D., Runge, J.A., (1994). Sustained fecundity when phytoplankton resources are in short supply: Omnivory by *Calanus finmarchicus* in the Gulf of St. Lawrence. *Limnol. Oceanogr.* 1: 21-36.
- Omori, M., Ikeda, T. (1984). *Methods in marine zooplankton ecology*. John Wiley and Sons, New York.
- Papathanassiou, E., King, P.E., (1984). Ultrastructural studies on gametogenesis of the prawn *Palaemon serratus* (Pennant). I. Oogenesis. *Acta zool.* 65: 17-31.
- Paquette, R.G., Bourke, R.H., Newton, J.F., Perdue, W.F., (1985). The East Greenland Polar Front in autumn. *J. Geophys. Res.* 90 (C3): 4866-4882.
- Park, T.S., (1966). The biology of a calanoid copepod *Epilabidocera amphitrites* Mc Murrich. *La Cellule* 66: 129-251.
- Parrish, K.K., Wilson, D.F., (1978). Fecundity studies on *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoida) in standardised culture. *Mar. Biol.* 46: 65-81.
- Paulus, J.E., Laufer, H., (1987). Vitellogenocytes in the hepatopankreas of *Carcinus maenas* and *Libinia emarginata* (Decapoda, Brachyura). *Int. J. Inv. Reprod. Dev.* 11: 29-44.
- Pedersen, L.T., Gudmandsen, P., Skriver, H. (1993). North-East Water - A remote sensing study. Technical University of Denmark, Electromagnetic Institute Bd. R545: 64, Lyngby.
- Penn, J.W., (1980). Spawning and fecundity of the western King Prawn, *Penaeus latisulacatus* Kishinouye, in western Australian waters. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 31: 21-35.
- Perry, R.K., (1986). Bathymetry. In: Hurdle, B.G. (ed), *The Nordic Seas*. Springer, Berlin. 211-234.
- Plourde, S., Runge, J.A. (1993). Reproduction of the planktonic copepod *Calanus finmarchicus* in the Lower St. Lawrence Estuary: Relation to the cycle of phytoplankton production and evidence for a *Calanus* pump. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 102: 217-227.

- Poulet, S.A., Ianora, A., Miralto, A., Meijer, L., (1994). Do diatoms arrest embryonic development in copepods? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 111: 79-86.
- Quackenbush, L.S., (1986). Crustacean endocrinology, a review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43: 2271-2282.
- Quackenbusch, L.S., Keeley, L.L., (1986). Vitellogenesis in the shrimp, *Penaeus vannamei*. *Am. Zool.* 26-56A: 274.
- Quadfasel, D., Gascard, J.-C., Koltermann, K.-P., (1987). Large-scale oceanography in Fram Strait during the 1984 Marginal Ice Zone Experiment. *J. Geophys. Res.* 92 (C7): 6719-6728.
- Raymont, J.E.G., Krishnawamy, S., Woodhouse, M.A., Griffin, R.L., (1974). Studies on the fine structure of copepoda. Observations on *Calanus finmarchicus* (Gunnerus). 409-424.
- Razouls, S., (1974). Maturité sexuelle et fécondité chez les femelles de *Temora stylifera*, copépode pélagique (Copepoda, Calanoida). *Archives de zoologie expérimentale et générale* 115: 387-399.
- Razouls, S., Razouls, C., Huntley, M., (1991). Development and expression of sexual maturity in female *Calanus pacificus* (Copepoda: Calanoida) in relation to food quality. *Mar. Biol.* 110: 65-74.
- Razouls, S., Nival, S., Nival, P., (1986). La reproduction de *Temora stylifera*: ses implications anatomiques en relation avec le facteur "nutrition". *J. Plankton Res.* 8: 875-889.
- Richardson, K.C., Jarett, L., Finke, E.H., (1960). Embedding in Epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. *Stain. Technol.* 35: 313-325.
- Romeis, B. (1989). *Mikroskopische Technik*. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore.
- Runge, J.A., (1984). Egg production of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus* Brodsky: Laboratory observations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 74: 53-66.
- Romeis, B. (1968). *Mikroskopische Technik*. R. Oldenbourg, München, Wien.
- Runge, J. A., (1985a). Relationship of egg production of *Calanus pacificus* to seasonal changes in phytoplankton availability in Pudget Sound, Washington. *Limnol. Oceanogr.* 30 (2): 382-396.
- Runge, J.A., (1985b). Egg production rates of *Calanus finmarchicus* in the sea off Nova Scotia. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 21: 33-40.
- Runge, J.A., (1987). Measurement of egg production rate of *Calanus finmarchicus*: a method using preserved samples. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: 2009-2012
- Runge, J.A., Plourde, S., (1994). Fecundity of *Calanus finmarchicus* in coastal waters of eastern Canada. *ICES* 1-10.

Literatur

- Sachs, L. (1978). *Angewandte Statistik*. Springer, New York, Heidelberg, Berlin.
- Sargent, J.R., (1976). The structure, metabolism and function of lipids in marine organisms. In: Malins, D.C., Sargent, J.R. (eds), *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology 3*: Academic Press, London. 149-212.
- Sargent, J.R., Falk-Petersen, S., (1988). The lipid biochemistry of calanoid copepods. *Hydrobiologia* 167/168: 101-114.
- Schnack-Schiel, S., Thomas, D., Dieckmann, G., Eicken, H., Gradinger, R., Spindler, M., Weissenberger, J., Mizdalski, E., Beyer, K., (1995). Life strategy of the Antarctic calanoid copepod *Stephos longipes*. *Prog. Oceanogr.*, im Druck.
- Sekiguchi, H., McLaren, I.A., Corkett, C.J., (1980). Relationship between growth rate and egg production in the copepod *Acartia clausi hudsonica*. *Mar. Biol.* 58: 133-138.
- Siewing, R. (1980). *Lehrbuch der Zoologie. Band 1 : Allgemeine Zoologie*. Gustav Fischer, Stuttgart, New York.
- Smith, S.L., (1990). Egg production and feeding by copepods prior to the spring bloom of phytoplankton in Fram Strait, Greenland Sea. *Mar. Biol.* 106: 59-69.
- Smith, S.L., Lane, P.V.Z., (1985). Laboratory studies of the marine copepod *Centropages typicus*: egg production and development rates. *Mar. Biol.* 85: 153-162.
- Smith, S.D., Muench, R.D., Pease, C.H., (1990). Polynyas and leads: An overview of physical processes and environment. *Lourn. of geophys. Res.* 95: 9461-9479.
- Smith, S.L., Lane, P.V.Z., Schwarting, E.M., (1986). *Zooplankton data report: The marginal ice zone experiment MIZEX, 1984*. Brookhaven National Laboratory. Upton, New York
- Sømme, J.D., (1934). Animal plankton of the Norwegian coast waters and the open sea : I. Production of *Calanus finmarchicus* (Gunnerus) and *Calanus hyperboreus* (Krøyer) in the Lofoten area. *Rep. Norw. Fish. Invest.* 4(9): 1-163.
- Swift, J.H., Aagaard K. (1981). Seasonal transitions and water mass formation in the Iceland and Greenland seas. *Deep Sea Res.* 28A (10), 1107-1129.
- Tande, K.S., (1982). Ecological Investigations on the zooplankton community of Balsfjorden, northern Norway: Generation cycles and variation in body weight and body content of carbon and nitrogen related to overwintering and reproduction in the copepod *Calanus finmarchicus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 62: 129-142.
- Tande, K.S., Slagstad, D., (1992). Regional and interannual variations in biomass and productivity of the marine copepod, *Calanus finmarchicus*, in subarctic environments. *Oceanol. Acta* 15: 309-321.
- Tande, K.S., Henderson, R.J., (1988). Lipid composition of copepodite stages and adult females of *Calanus glacialis* in arctic waters of the Barents Sea. *Polar Biol.* 8: 333-339.

- Tande, K.S., Grønvik, S., (1983). Ecological investigations on the zooplankton community of Balsfjorden, Northern Norway: sex ratio and gonad maturation cycle in the copepod *Metridia longa* (Lubbock). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 71: 43-54.
- Tande, K.S., Slagstad, D. (1982). Ecological investigations on the zooplankton community of Balsfjorden, northern Norway. Seasonal and short-time variations in enzyme activity in copepodite stage V and VI males and females of *Calanus finmarchicus* (Gunnerus). Sarsia. 67: 63-68.
- Tande, K.S., Hopkins, C.C.E., (1981). Ecological investigations of the zooplankton community of Balsfjorden, northern Norway: The genital system in *Calanus finmarchicus* and the role of gonad development in overwintering strategy. Mar. Biol. 63: 159-164.
- Tande, K.S., Hassel, A., Slagstad, D., (1985). Gonad maturation and possible life cycle strategies in *Calanus finmarchicus* and *Calanus glacialis* in the northwestern part of the Barents Sea. In: Gray, J.S., Christiansen, M.E. (ed), Marine biology of polar regions and effects of stress on marine organisms. Wiley and Sons, Chichester, New York. 141-155.
- Tan-Fermin, J.D., Pudadera, R.A., (1989). Ovarian maturation stages of the wild giant tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius. Aquaculture 77: 229-242.
- Tourangeau, S., Runge, J.A., (1991). Reproduction of *Calanus glacialis* under ice in spring in southeastern Hudson Bay, Canada. Mar. Biol. 108: 227-233.
- Tranter, D.T., (1974). Zooplankton sampling. UNESCO, Paris. 1-174.
- Uye, S.-I, (1981). Fecundity studies of neritic calanoid copepods *Acartia clausi* Giesbrecht and *A. steueri* Smirnov: A simple empirical model of dailey egg production. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 50: 255-271.
- Wadhams, P. (1981). The ice cover in the Greenland and Norwegian Seas. Rev. Geophys. Space Phys. 19: 345-393.
- Weakley, B.S. (1981). A beginner's handbook in biological transmission electron microscopy. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne, New York.
- Wiborg, K.F., (1954). Investigations on zooplankton in coastal and offshore waters off western and northwestern Norway. Rep. Norw. Fish. Inv. 11: 1-246.
- Zerbib, C., (1980). Ultrastructural observation of oogenesis in the crustacean Amphipoda *Orchestia gammarellus* (Pallas). Tissue Cell 12: 47-62.
- Zurlini, G., Ferrari, I., Nassogne, A., (1978). Reproduction and growth of *Euterpina acutifrons* (Copepoda: Harpacticoida) under experimental conditions. Mar. Biol. 46: 56-64.

8 Anhang

Tab. A.1: Unterschiede in Größenhäufigkeitsverteilung der Oocyten in den Divertikeln und Ovidukten einzelner Weibchen von *C. finmarchicus* (Kap. 4.1.2.2). Dargestellt sind die Ergebnisse (p) des U-Tests nach Mann-Whitney und des Kolmogorov-Smirnov-Tests (KS-Test); $p < 0,005$ = die Verteilung / die mittlere Größe der Oocyten ist in den Divertikeln und Ovidukten unterschiedlich. P = Probenahme, W = Weibchen Nr., GS = Gonadenreifstadium.

P	W	GS	U-Test (p)	KS-Test (p)
1	1	2	0,7706	0,3364
	2	2	0,4288	0,2666
	3	3	0,5199	0,6050
	4	3	0,4181	0,3384
2	1	2	<0,0001	<0,0001
	2	2	-	-
	3	2	0,4824	0,3458
	4	3	0,5093	0,3298
	5	3	0,1260	0,0006
	6	2	0,3814	0,6239
3	1	4	0,0037	0,0009
	2	4	0,0438	0,0476
	3	4	0,4588	0,3904
	4	2	0,9775	0,7160
	5	3	0,1975	0,2672
4	1	3	0,0059	0,0126
	2	4	0,0007	<0,0001
	3	4	0,1743	0,0995
	4	4	0,0072	0,0333
	5	4	0,1081	0,1730
5	1	4	0,3306	0,4459
	2	4	0,0001	<0,0001
	3	4	0,1854	0,1286
	4	4	>0,9999	0,9744
10	1	s	<0,0001	<0,0001
	2	s	0,3079	0,6908
	3	s	0,9206	0,9978
	4	s	0,3806	0,6917
	5	s	0,1080	0,0031

Tab. A.2: Reproduktion von *Calanus finmarchicus* bei Fütterung im Labor (Kap. 4.1.2.3). Angegeben sind die durchschnittlichen Eiproduktionsraten (EPR) und die durchschnittliche Gelegegröße (GG) von 85 Weibchen.

Datum	26.4.		27.4.		28.4.		29.4.		30.4.	
EPR	28,6	28,5	19,3	25,4	35,1	28,3	40,1	26,7	44,6	26,7
GG	46,4	22,5	44,3	19,4	47,3	22,3	50,9	18,7	46,5	25,5

Tab. A 3: Gelegegrößen von 18 *Calanus finmarchicus*-Weibchen (Kap. 4.1.4.2). Dargestellt sind die Gelegegrößen der einzelnen Weibchen an 5 Tagen bei Fütterung im Labor, die mittlere individuelle Gelegegröße (MIGG) und die anhand der histologischen Schnitte ermittelte erwartete Gelegegröße (EGG).

Nr W	26.4.	27.4.	28.4.	29.4.	30.4.	MIGG	EGG	
1	53		53	61	38	51,2	9,6	67
2	56	-	31	64	59	52,5	14,7	47
3	-	-	52	52	26	43,3	15,0	25
4	18	39	51	14	33	31,0	15,2	39
5	60	-	25	77	24	46,5	26,3	50
6	50	-	98	76	61	71,2	20,8	69
7	-	-	37	86	22	48,3	33,5	42
8	15	-	52	71	56	48,5	23,8	50
9	34	52	38	25	46	39,0	10,5	63
10	8	-	32	47	45	41,3	17,9	50
11	46	-	73	55	38	53,0	15,0	44
12	-	-	122	110	56	84,8	35,2	40
13	-	-	-	-	74	74,0		78
14	56	42	63	-	114	44,2	31,4	48
15	15	-	32	-	35	27,3	10,8	42
16	119	-	62	50	22	63,2	40,8	74
17	29	-	37	40	44	37,5	6,4	34
18	-	47	-	61	15	41,0	23,6	55

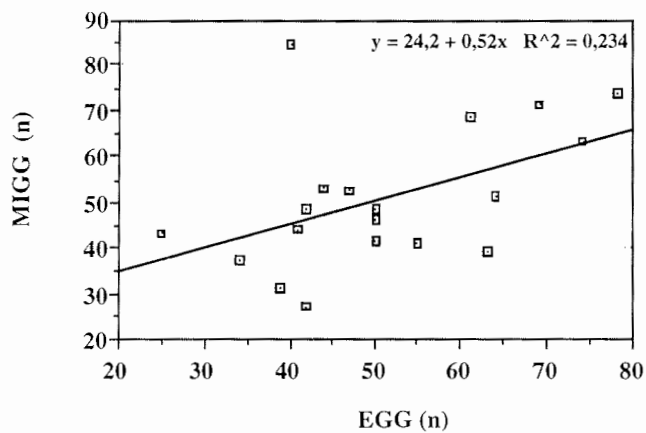


Abb. A.1: Korrelation zwischen der individuellen mittleren Gelegegröße (MIGG) und der erwarteten Gelegegröße (EGG) bei *C. finmarchicus*.

Tab. A.4: Reproduktion von *C. finmarchicus* unter Futter- und Hungerbedingungen im Labor (Kap. 4.1.5.1). Angegeben werden die Eiproduktionsraten (gefütterte Weibchen = EPR_f ; hungernde Weibchen = EPR_h), die Gelegegrößen (gefütterte Weibchen = GG_f ; hungernde Weibchen = GG_h) und der prozentuale Anteil eierlegender Weibchen (gefütterte Weibchen = W_f ; hungernde Weibchen W_h) bei der Laborhaltung nach verschiedenen Probenahmen (P).

P 1	EPR_f ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_f (n)		W_f (%)	EPR_h ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_h (n)		W_h (%)
16.4.93	0,1	1,1	-	-	1,8	0,0	-	-	-	0,0
17.4.93	0,4	0,2	-	-	3,6	1,1	3,4	-	-	13,3
18.4.93	0,0	0,3	-	-	1,8	0,1	0,4	-	-	6,7
19.4.93	0,0	0,0	-	-	0,0	0,0	-	-	-	0,0

P 2	EPR_f ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_f (n)		W_f (%)	EPR_h ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_h (n)		W_h (%)
22.3.94	0,0	-	0,0	-	0,0	0,0	-	-	-	0,0
23.3.94	0,0	-	0,0	-	0,0	1,3	7,5	30,0	26,9	4,4
24.3.94	0,0	-	0,0	-	0,0	0,0	0,0	-	-	0,0
25.3.94	2,9	10,1	28,5	18,4	10,0	0,0	0,1	-	-	2,2
26.3.94	5,9	16,1	39,2	21,1	15,0	1,4	4,8	17,0	5,5	11,1
27.3.94	6,0	15,8	39,7	18,4	15,0	0,0	-	-	-	0,0
28.3.94	19,6	27,0	48,9	19,1	40,0	0,0	-	-	-	0,0

P 3	EPR_f ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_f (n)		W_f (%)	EPR_h ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_h (n)		W_h (%)
29.3.94	15,5	20,6	34,7	17,0	44,0	20,1	22,7	33,1	20,7	65,7
30.3.94	12,2	19,9	40,6	14,0	39,6	14,2	20,7	37,8	15,7	42,9
31.3.94	14,1	21,7	36,1	21,7	54,2	1,1	4,8	28,0	-	17,1
1.4.94	29,1	23,3	37,6	19,6	81,3	1,1	5,6	33,0	-	8,6
2.4.94	27,4	21,6	39,5	14,2	75,0	3,4	8,9	26,3	9,2	22,9

P 4	EPR_f ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_f (n)		W_f (%)	EPR_h ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_h (n)		W_h (%)
6.4.94	15,4	18,1	27,6	16,1	57,1	28,0	25,4	40,0	20,8	70,0
7.4.94	11,4	18,4	36,0	14,9	36,7	17,2	22,0	39,6	14,7	46,7
8.4.94	11,9	16,3	30,1	11,6	40,8	7,3	14,2	30,4	12,8	30,0
9.4.94	14,4	21,2	41,1	13,6	40,8	2,3	9,3	32,0	24,0	10,0

P 8	EPR_f ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_f (n)		W_f (%)	EPR_h ($nW^{-1}d^{-1}$)		GG_h (n)		W_h (%)
5.5.94	26,4	23,1	38,8	17,2	64,0	27,6	27,2	43,9	21,3	57,1
6.5.94	31,3	27,8	45,9	21,4	66,0	6,7	13,5	30,9	10,9	22,9
7.5.94	20,1	21,5	34,7	17,0	56,0	5,7	11,7	23,9	13,1	22,9
8.5.94	34,6	27,3	45,5	21,8	72,0	1,5	5,4	21,5	10,6	5,7
9.5.94	25,3	23,3	39,6	16,6	60,0	3,9	12,7	44,3	8,4	5,7

Fortsetzung Tab. A.4

P 9	EPR _f (nW ⁻¹ d ⁻¹)		GG _f (n)		W _f (%)	EPR _h (nW ⁻¹ d ⁻¹)		GG _h (n)		W _h (%)
11.5.94	22,5	23,1	38,8	15,2	53,3	12,3	22,3	45,4	18,7	30,0
12.5.94	35,8	25,1	45,7	18,1	70,5	17,8	26,2	44,6	22,4	40,0
13.5.94	29,4	26,5	43,0	20,1	60,5	7,8	17,1	37,8	18,4	26,7
14.5.94	18,2	19,2	33,5	12,7	50,0	0,0	1,5	-	-	6,7
15.5.94	24,1	24,4	42,5	16,0	50,0	2,9	9,0	29,0	5,6	10,0
16.5.94	23,6	21,8	38,0	14,2	54,8	6,2	19,3	46,5	33,3	13,3
17.5.94	21,6	20,3	33,3	15,3	57,1	1,9	5,8	18,7	3,8	10,0
18.5.94	25,4	19,8	36,0	13,1	64,3	1,1	4,2	-	-	6,7
19.5.94	22,1	25,7	38,7	22,8	50,0	1,7	5,7	-	-	10,0

P 10	EPR _f (nW ⁻¹ d ⁻¹)		GG _f (n)		W _f (%)	EPR _h (nW ⁻¹ d ⁻¹)		GG _h (n)		W _h (%)
19.5.94	5,4	13,2	30,6	14,4	17,8	5,9	13,6	29,4	15,3	20,0
20.5.94	2,9	9,6	32,3	8,6	8,9	1,1	6,4	38,0	-	2,9
21.5.94	15,6	20,8	38,5	13,6	42,2	0,4	2,2	13,0	-	2,9
22.5.94	17,3	13,4	34,6		40,9	5,4	15,9	-	-	9,4
23.5.94	18,9	23,8	39,8	19,2	75,6	4,6	15,9	32,1	12,3	7,1

Tab A.5: Einfluß von Futter- und Hungerbedingungen auf die Gonadengrößen von *C. fimmarchicus* (Versuch 1: 22.3. 1994 bis. 14.4.1994, Kap. 4.1.5.2).

	Ovarlänge	Teilungszone	Wachstumszone	Divertikel	Ovidukte	
Futter	Beginn	75,8 ± 25,8	199,4 ± 20,1	92,0 ± 12,7	50,0 ± 8,9	
	4. Tag	666,1 ± 100,2	212,3 ± 39,9	203,0 ± 151,5	142,9 ± 102,4	
	8. Tag	494,1 ± 72,1	97,4 ± 15,0	216,7 ± 28,0	286,8 ± 68,5	204,8 ± 70,6
	16. Tag	531,7 ± 95,4	67,6 ± 17,7	191,8 ± 32,4	265,9 ± 67,9	180,5 ± 23,9
	23. Tag	513,3 ± 145,2	74,6 ± 11,5	181,7 ± 14,3	319,7 ± 17,0	416,4 ± 237,5
	Ovarlänge	Teilungszone	Wachstumszone	Divertikel	Ovidukte	
Hunger	Beginn	610,0 ± 99,6	75,9 ± 8,7	199,4 ± 43,2	92,1 ± 35,0	50,1 ± 24,8
	4. Tag	586,5 ± 86,6	77,8 ± 7,6	153,7 ± 68,1	108,3 ± 34,8	73,0 ± 30,5
	8. Tag	492,9 ± 42,9	69,3 ± 17,5	203,4 ± 56,0	101,0 ± 78,3	87,8 ± 60,0
	16. Tag	454,6 ± 77,0	64,8 ± 6,3	147,9 ± 16,2	126,3 ± 22,2	82,1 ± 26,3
	23. Tag	402,6 ± 76,6	56,6 ± 14,9	138,4 ± 25,3	104,5 ± 80,1	75,5 ± 52,0

Tab A.6: Einfluß von Futter- und Hungerbedingungen auf die Gonadengrößen von *C. fimmarchicus* (Versuch 2: 25.4. 1994 bis. 16.5.1994, Kap. 4.1.5.2).

	Ovarlänge	Teilungszone	Wachstumszone	Divertikel	Ovidukte	
Futter	Beginn	125,1 ± 24,7	294,9 ± 45,8	416,2 ± 50,8	284,9 ± 56,8	
	14. Tag	654,3 ± 3 2,8	200,2 ± 29,9	326,8 ± 27,7	222,7 ± 43,6	
	Ovarlänge	Teilungszone	Wachstumszone	Divertikel	Ovidukte	
Hunger	Beginn	125,1 ± 26,5	294,9 ± 48,9	416,2 ± 123,5	284,9 ± 101,9	
	6. Tag	627,0 ± 102,6	250,1 ± 38,9	167,1 ± 38,9	219,1 ± 39,9	154,7 ± 56,5
	14. Tag	549,8 ± 33,1	108,3 ± 20,1	143,9 ± 53,8	154,1 ± 55,1	115,2 ± 28,9
	19. Tag	492,3 ± 37,1	73,3 ± 11,4	135,7 ± 19,0	145,1 ± 93,3	108,3 ± 72,0
	23. Tag	474,7 ± 83,4	57,9 ± 15,0	130,7 ± 35,3	93,4 ± 64,9	94,4 ± 44,2

Tab. A.7: Unterschiede in Größenhäufigkeitsverteilung der Oocyten in den Divertikeln und Ovidukten einzelner Weibchen von *C. glacialis* (Kap. 4.2.2.1). Dargestellt sind die Ergebnisse (p) des U-Tests nach Mann-Whitney und des Kolmogorov-Smirnov-Tests (KS-Test); $p < 0,005$ = die Verteilung / die mittlere Größe der Oocyten ist in den Divertikeln und Ovidukten unterschiedlich. W= Weibchen Nr..

W	KS-Test (p)	U-Test (p)
1	0,018	0,024
2	0,852	0,761
3	0,001	<,0001
4	>,9999	0,964
5	0,443	0,420
6	0,753	0,892
7	0,037	0,111
8	0,578	0,267
9	0,264	0,049
10	0,140	0,035
11	0,167	0,064
12	0,105	0,080
13	0,377	0,589
15	0,154	0,084
16	0,081	0,011
17	0,001	<,0001
18	0,260	0,413
19	0,037	0,800
20	0,931	0,320
21	<,0001	<,0001

Tab A.8: Eiproduktionsraten und Gelegegröße von *C. glacialis* im Labor (Kap. 4.2.3). Es werden die durchschnittlichen Eiproduktionsraten (EPR) und Gelegegrößen (GG) angegeben.

Datum	EPR (n W ⁻¹ d ⁻¹)		GG (n)	
23.8.	3.1	7.7	20.4	8.0
24.8.	2.5	8.7	26.2	14.5
25.8.	7.3	13.8	26.2	14.3
26.8.	3.9	11.4	31.2	14.7
27.8.	5.9	13.1	29.3	13.6
30.8.	7.4	14.6	26.5	17.4
31.8.	11.7	16.2	28.3	13.7
1.9.	5.4	12.6	31.1	12.0
2.9.	4.6	11.8	28.9	13.6
3.9.	5.8	13.7	29.6	16.3
5.9.	6.4	13.6	27.3	16.1
6.9.	5.5	11.2	24.7	10.7
7.9.	5.3	12.7	27.9	15.8

Tab. A.9: Mittlere individuelle Gelegegröße (MIGG) und erwartete Gelegegröße von *C. glacialis* (Kap. 4.2.3).

Nr. W	MIGG (n)		EGG(n)
1	18,0	-	20
2	40,8	22,1	31
3	17,0	-	60
4	23,0	7,1	41
5	18,3	8,1	27
6	22,3	16,6	58
7	19,3	8,5	24
8	30,8	14,8	56
9	29,0	15,4	32
10	31,0	7,7	57
11	16,8	5,9	24
12	34,4	18,3	45
13	29,8	12,9	42
14	27,2	14,5	32
15	34,0	11,6	60
16	30,1	15,2	45
17	23,0	6,1	35
18	21,7	14,2	18
19	29,5	12,8	22
20	24,6	10,2	25
21	39,5	13,2	70
22	18,5	5,3	18

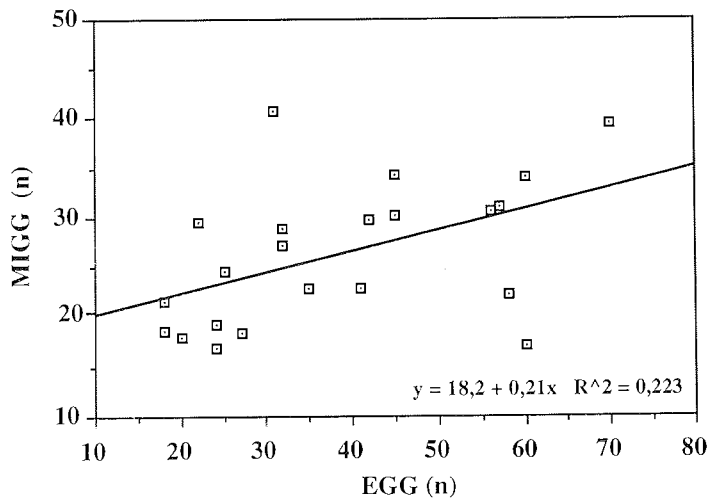


Abb. A.2: Korrelation zwischen der individuellen mittleren Gelegegröße (MIGG) und der erwarteten Gelegegröße (EGG) bei *C. glacialis*. (Kap. 4.2.3)

Tab. A.10: Individuelle mittlere Gelegegröße (MIGG) und erwartete Gelegegröße von *C. hyperboreus* (Kap. 4.3.4).

Nr. W	MIGG (n)		EGG(n)
1	51,8	26,6	82
2	18,7	5,3	40
3	65,5	38,9	130
4	35,5	24,7	64
5	60,2	37,4	56
6	26,0	16,8	85
7	91,0	56,7	100
8	36,7	17,2	87
9	47,0	41,0	52
10	39,2	19,8	122
11	63,0		61
12	94,0	17,0	61
13	32,4	16,8	46
14	79,7	16,5	120

Aufgrund des Umfangs der weiteren Rohdaten wird auf einen umfassenderen Anhang verzichtet. Alle hier nicht aufgeführten Daten können jedoch von der Autorin bezogen werden.

