

## Die Struktur des Chorions von *Carausius morosus* (Sinéty, 1901) (Phasmatodea) mit besonderer Berücksichtigung der Mikropylenplatte

The Structure of the Chorion of *Carausius morosus* (Sinéty, 1901) (Phasmatodea) with Special Regard to the Micropylar Plate

THOMAS VAN DE KAMP & HARTMUT GREVEN

**Zusammenfassung:** Anhand von rasterelektronenmikroskopischen (REM) Aufnahmen und Semi-dünnschnittserien werden das unspezialisierte Chorion, das Capitulum und vor allen Dingen die Mikropylenplatte der Eier von *Carausius morosus* erneut beschrieben. Die REM-Aufnahmen bestätigen im Prinzip frühere Befunde. Das Capitulum ist jedoch offenbar kurz gestielt. Das Exochorion ist in drei Hauptschichten zu unterteilen, von denen die mittlere Schicht (II) besonders stark mineralisiert ist. Die innerste Schicht (III) ist auch im Bereich der Mikropylenplatte offenbar nicht mineralisiert, jedoch hier dicker, mehr spongiös und stark modifiziert. In der Mikropylenregion findet sich ein schräg verlaufender Strang, der äußeres (Schicht I) und inneres Exochorion (Schicht III) miteinander verbindet. Dieser Strang steht in Verbindung mit dem Mikropylenpfeiler, dessen Wand in das Endochorion übergeht. Im Mikropylenstrang und z.T. in der Wand des Mikropylenpfeilers finden sich Aufweitungen und dünne Kanäle, die als Reste eines oder mehrerer eng- oder weitlumiger Mikropylenkanäle gedeutet werden. Im Gegensatz zu manchen Literaturangaben zeigten diese aber keine Verbindung zur äußeren oder inneren Oberfläche des Eis. Bei *C. morosus* scheinen daher Anzahl, Weite und Verlauf der offenbar degenerierten Mikropylenkanäle viel variabler zu sein als bisher angenommen.

**Schlüsselwörter:** Phasmatodea, Chorionschichten, Capitulum, Mikropylenplatte, Mikropyle

**Summary:** The unspecialised chorion, the capitulum and the micropylar plate of eggs of the stick insect *Carausius morosus* were redescribed using scanning electron microscopy (SEM) and series of semithin sections. SEM-micrographs largely confirmed previous findings; the capitulum appeared to have a short peduncle rather than being fixed directly to the operculum. The exochorion was composed of three main layers; the middle layer (II) was strongly mineralised. The innermost layer (III) obviously was not mineralised, but thicker and spongy in the micropylar plate. In the micropylar region there was a transversal strand that connected outer (layer I) and inner exochorion (layer III). The strand was connected with the micropylar stalk, whose walls fused with the endochorion. Within the strand there were widening and small channels considered as remnants of micropyles with small or widened lumina. Contrary to some authors, in no case micropyles opened to the exterior or the interior surface. Number, width and course of apparently degenerated micropyles in *C. morosus* appeared to be more variable than hitherto assumed.

**Keywords:** Phasmatodea, chorion layers, capitulum, micropylar plate, micropyle

### 1. Einleitung

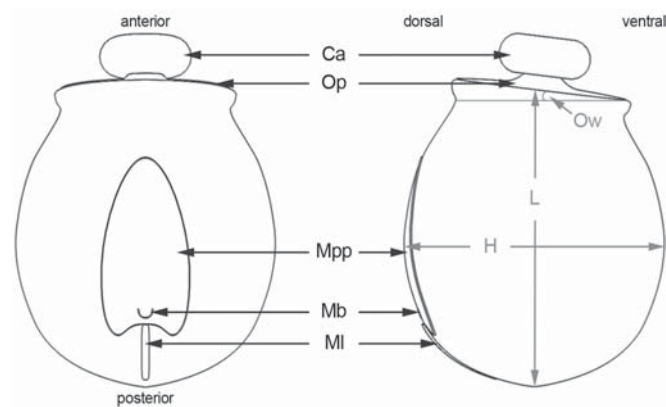
Die auffallend geformten und strukturierten Eier der Phasmiden sind für die Identifizierung von Arten, aber auch für phylogenetische

Spekulationen von beträchtlichem Wert. Wichtige äußere Merkmale des abgelegten Eies sind u.a. das Vorhandensein oder Fehlen eines Capitulum, die Skulpturierung des Chorions sowie die Organisation der Mikropylen-

platte. Dies ist in der Literatur durch gute Zeichnungen und zahlreiche rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen belegt (z.B. BEIER 1968; CLARK-SELICK 1988, 1997; HINTON 1981; MAZZINI et al. 1993; LIPINSKI et al. 1999; ZOMPRO 2004).

Histologische oder transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen der Eihülle von Phasmiden sind dagegen relativ selten, was unter anderem vielleicht an der z.T. sehr schweren Schneidbarkeit des Chorions liegt, das oft durch Mineraleinlagerungen stabilisiert ist (vgl. u.a. LEUZINGER 1926; CAPPE DE BAILLON 1940; MOSCONA 1950; HINTON 1981; CARLBERG et al. 1982; LIPINSKI et al. 1999; GREVEN et al. 2005).

Besonders eingehend ist bisher das Chorion der Eier der parthenogenetischen Stabschrecke *Carausius morosus* anhand licht- und rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen untersucht worden (u.a. LEUZINGER 1926; CAPPE DE BAILLON 1940; LARINK 1978; MAZZINI & SCALI 1980; HINTON & KENDALL in HINTON 1981; GODEKE & PIJNACKER 1984). Während die Befunde am unspezialisierten Chorion, am Operculum und am Capitulum bei den verschiedenen Autoren weitgehend übereinstimmen, sind die Angaben zur Mikropylenregion und namentlich der Mikropyle widersprüchlich. So beschreibt LEUZINGER (1926) einen durchgängigen Mikropylenkanal und nicht zwei blind endende

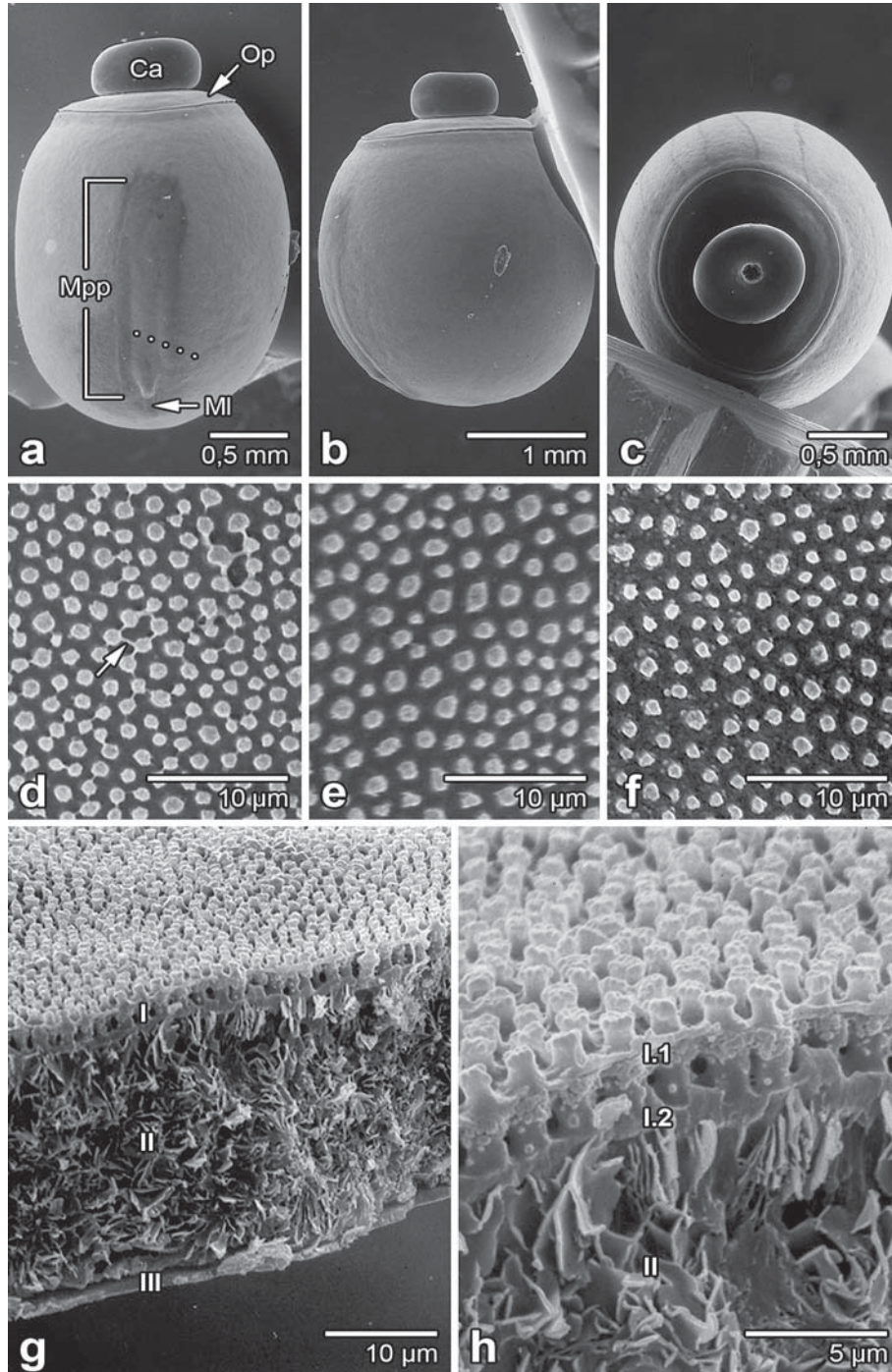


**Abb. 1:** Terminologie des Phasmideneies. Ca = Capitulum; H = Höhe; L = Länge; Mb = Mikropylenbecher; MI = Medianlinie; Mpp = Mikropylenplatte; Op = Operculum; Ow = Opercularwinkel (verändert nach CLARK SELICK 1997).

**Fig. 1:** Terminology of the phasmid egg. Ca = capitulum; H = height; L = length; Mb = micropylar cup; MI = median line; Mpp = micropylar plate; Op = operculum; Ow = opercular angle (modified after CLARK SELICK 1997).

**Abb. 2:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen des Eis von *Carausius morosus*. **a:** Gesamtübersicht, dorsal; punktierte Linie = Bruch durch die Mikropylenplatte (vgl. Abb. 4e); **b:** Gesamtübersicht, lateral; **c:** Gesamtansicht, anteriorer Pol; **d-f:** Oberflächenstrukturen (**d:** unspezialisiertes Chorion mit schmalen Stegen zwischen einigen Erhebungen (Pfeil); **e:** Operculum; **f:** Mikropylenplatte); **g:** Bruch durch das unspezialisierte Chorion mit drei Hauptschichten (I-III); **h:** Stäbchenschicht mit zwei Unterschichten (I.1, I.2). Abkürzungen s. Abb. 1.

**Fig. 2:** Scanning electron microscopy of the egg of *Carausius morosus*. **a:** Overview, dorsal; dotted line = fracture of the micropylar plate (see fig. 4e); **b:** overview, lateral; **c:** overview, anterior pole; **d-f:** surface ornamentation (**d:** unspecialised chorion; note thin connections between rods (arrow); **e:** operculum; **f:** micropylar plate); **g:** fractured surface of the unspecialised chorion with three main layers (I-III); **h:** rodlet layer with sublayers (I.1, I.2). Abbreviations see Fig. 1.



Kanäle, wie VISCUSO et al. (1986) anmerken. CAPPE DE BAILLON (1940) findet zwei durchgängige Mikropylkanäle, während LARINK (1978) nur einen einzigen, nach außen hin geschlossenen, aber nach innen hin offenen, in einen spongiösen Bereich mündenden Mikropylkanal zeigt. MAZZINI & SCALI (1980) sprechen von keiner nach außen hin offenen Mikropyle, erwähnen aber, dass manchmal zwei Mikropylkanäle vorkämen („... the formation of 2 micropylar canals can sometimes be observed“, S. 379). HINTON & KENDALL (in HINTON 1981) bilden einen nach beiden Seiten hin blind endenden Mikropylkanal ab, GODEKE & PIJNACKER (1984) aber zwei durchgängige Mikropylkanäle.

Im Rahmen von Studien zur Struktur der Eier verschiedener Phasmiden (vgl. auch LIPINSKI et al. 1999; GREVEN et al. 2005) haben wir die Eier von *C. morosus* erneut rasterelektronenmikroskopisch und vor allem mit Hilfe von 0,5 µm dicken Serienschritten lichtmikroskopisch untersucht, um die z.T. widersprüchlichen Angaben, namentlich der Mikropylregion, aus der Literatur zu überprüfen.

## 2. Material und Methoden

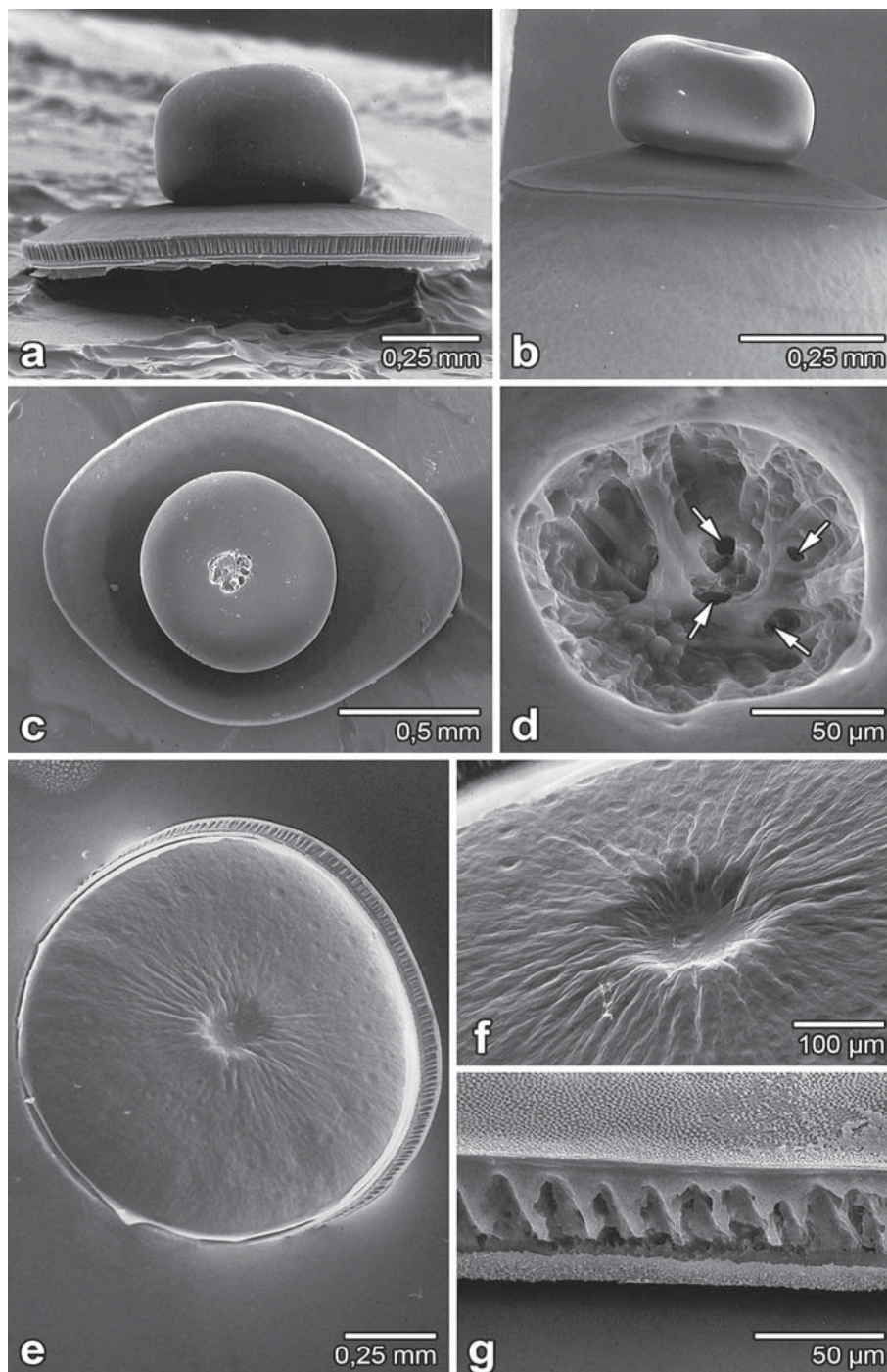
Adulte Weibchen von *Carausius morosus* wurden in einem Glasterrarium gehalten und mit Brombeerblättern (*Rubus fruticosus*) gefüttert. Die Eier wurden spätestens eine Woche nach der Eiablage abgesammelt und für die lichtmikroskopischen Untersuchungen minde-

stens 24 Stunden in 2,5 % Glutaraldehyd und 2 % Paraformaldehyd in 0,1 mol/l Sørensen-Phosphatpuffer fixiert (KARNOVSKY 1965) und anschließend mit 25% EDTA-NaOH 36 Tage lang entkalkt. Danach wurden die Mikropylplatte und Stücke des unspezialisierten Chorions mit einem Skalpell aus dem Ei herausgeschnitten und Dotterreste entfernt. Das Operculum konnte leicht vom Ei abgelöst werden. Anschließend wurden die Objekte mit 0,5 mol/l Sørensen-Phosphatpuffer gewaschen, danach 1 h in 1 % Osmiumtetroxid mit 1,5 % Hexacyanoferrat nachfixiert, im gleichen Puffer gespült, über eine Alkohol-Aceton-Reihe entwässert und in Epoxidharz (SPURR 1969) eingebettet. An einem Om U3-Mikrotom der Firma C. Reichert wurden Semidünnschnitte von 0,5 µm Dicke hergestellt und mit Toluidinblau-Borax gefärbt. Die Schnitte wurden an einem Olympus AH-2/Vanox T-Mikroskop mit einer Olympus Camera Digital Camera C3030 Zoom fotografiert und die Fotos digital gespeichert. Im Anschluss erfolgte eine Bearbeitung der Fotos am Computer mit der Software Adobe Photoshop CS2.

Für die Rasterelektronenmikroskopie wurden die Eier luftgetrocknet. Einige wurden mit einem Skalpell aufgeschnitten, um das Exochorion darstellen zu können. Dotter und Endochorion wurden von den Bruchstücken entfernt, die Objekte mit Heißkleber auf Messinghaltern befestigt und in einem EMSCOPE SC 500 2 x 7 min mit Gold besputtert. Die Präparate wurden an einem Rasterelektronenmikroskop der Firma Leitz (AMR

**Abb. 3:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Operculum und Capitulum des Eis von *Carausius morosus*. **a:** abgelöstes Operculum mit Capitulum, lateral; **b:** Operculum mit Capitulum am Ei, lateral; **c:** abgelöstes Operculum mit Capitulum, von oben; **d:** zentrale Vertiefung des Capitulum mit kleinen Öffnungen (Pfeile); **e:** abgelöstes Operculum, von innen; **f:** zentrale Vertiefung auf der Unterseite des Operculums; **g:** gerippter Rand des Operculums.

**Fig. 3:** Scanning electron microscopy of the operculum and the capitulum of the egg of *Carausius morosus*. **a:** detached operculum with capitulum, lateral view; **b:** operculum with capitulum attached to the egg; **c:** detached operculum with capitulum, top view; **d:** central depression of the capitulum with small openings (arrows); **e:** detached operculum, inside; **f:** central depression in the undersurface of the operculum; **g:** corrugated border of the operculum.



1000) untersucht und fotografiert (Leica MD-2; Agfa APX 25 oder Agfa APX 100). Die Fotonegative wurden mit einem Epson Perfection 1200 Foto-Flachbettscanner digitalisiert und mit der Software Adobe Photoshop CS2 am Computer bearbeitet.

### 3. Ergebnisse

Das Ei von *Carausius morosus* (zur Terminologie s. Abb. 1) ist weitgehend dunkelbraun gefärbt und tonnenförmig (Abb. 2a-c). Das Capitulum erscheint gelblich. Das gesamte Ei hat eine Länge von etwa 2,6 mm, eine Breite von etwa 1,6 mm und eine Höhe von etwa 1,9 mm. Die Mikropylenplatte ist als längliche Erhebung auf der Dorsalseite erkennbar (Abb. 2a, 4a); sie ist heller als ihre Umgebung. Im Rasterelektronenmikroskop ist die Mikropylenplatte nicht deutlich vom unspezialisierten Teil des Chorions abgesetzt (Abb. 4b); sie besitzt zudem keinen begrenzenden Wall. Der Mikropylenbecher („micropylar cup“) im posterioren Bereich der Platte ist schwach ausgeprägt (Abb. 4d). Anterior des Bechers findet sich eine Erhebung, der Mediantuberkel (Abb. 4c, d); posterior der Mikropylenplatte liegt die Medianlinie (Abb. 2a).

Das Operculum ist mehr oder weniger oval (Abb. 3a-c, e) und besitzt unterseits eine Vertiefung (Abb. 3e, f); ihm sitzt ein rundes Capitulum (Abb. 3a, c) auf, welches eine zentra-

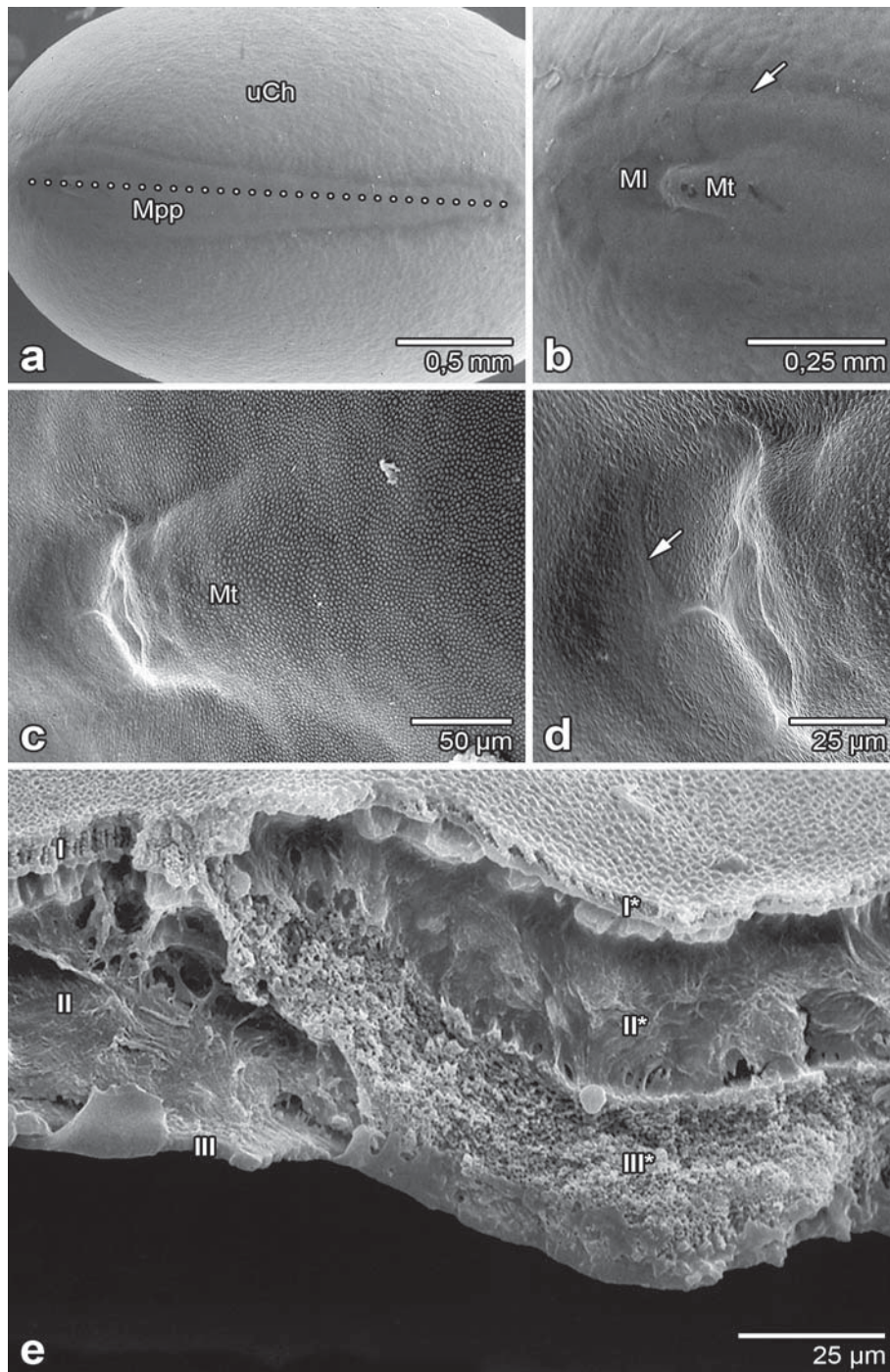
le, stark strukturierte Vertiefung (Abb. 3d) besitzt. Der Rand des Operculums ist auffällig gerippt (Abb. 3e, g). Das Chorion erscheint glatt, zeigt aber bei stärkerer Vergrößerung zahlreiche kleine Erhebungen, die zwischen unspezialisiertem Chorion, Operculum und Mikropylenplatte geringfügige Unterschiede aufweisen (Abb. 2d-f). So sind beispielsweise nur auf dem unspezialisierten Chorion schmale Stege erkennbar, die einige der Erhebungen miteinander verbinden (Abb. 2d).

Im Rasterelektronenmikroskop zeigt sich an der Bruchfläche, dass das Exochorion aus verschiedenen Schichten besteht (Abb. 2g, h). Auf eine dünne, einheitlich strukturierte innere Schicht von etwa 2 µm Dicke (Schicht III) folgt eine etwa 20 µm starke Lage „Faserschicht“ (Schicht II). Die ihr aufsitzende äußere Chorionschicht von etwa 5 µm Dicke wird wegen ihres Aussehens auch als „Stäbchenschicht“ bezeichnet (Schicht I) und kann in zwei Unterschichten aufgeteilt werden (Abb. 2h).

Im Semidünnschnitt ergibt sich ein ähnliches Bild. Die Stäbchenschicht lässt sich auch hier in zwei weitere Schichten unterteilen (Abb. 5f). Das Chorion des Operculums ist etwas dicker, die Schichtenfolge entspricht aber der des unspezialisierten Chorions. Am Rand des Operculums ist die innere Schicht gefaltet (Abb. 5b). Das etwa 0,3 mm hohe und etwa 0,6 mm breite Capitulum lässt einen vollkommen an-

**Abb. 4:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Mikropylenplatte des Eis von *Carausius morosus*. **a:** Übersicht, dorsal; punktierte Linie = Längsschnitt in Abb. 6a; **b:** posteriorer Bereich der Mikropylenplatte mit Übergang zum unspezialisierten Chorion (Pfeil); **c:** dito, posteriorer Bereich mit nach anterior gerichtetem Mediantuberkel (Mt); **d:** schwach ausgeprägter Mikropylenbecher (Pfeil); **e:** Bruch durch die Grenze der Mikropylenplatte (Schichten I\*-III\*) und des unspezialisierten Chorions (Schichten I-III); die modifizierte Schicht III\* fusioniert mit Schicht I (Pfeil) (vgl. Abb. 2 und 4e). Mt = Mediantuberkel; uCh = unspezialisiertes Chorion. Weitere Abkürzungen s. Abb. 1.

**Fig. 4:** Scanning electron microscopy of the micropylar plate of the egg of *Carausius morosus*. **a:** overview, dorsal; dotted line = longitudinal section in Figure 6 a; **b:** posterior portion of the micropylar plate with transition to the unspecialized chorion (arrow); **c:** ditto with a median tubercle pointed anteriorly; **d:** less distinct micropylar cup (arrow); **e:** fracture of the border of the micropylar plate (layers I\*-III\*) and the unspecialised chorion (layers I-III). The modified layer III\* fuses with layer I (arrow) (for comparison see Figs 2 and 4 e). Mt = median tubercle; uCh = unspecialized Chorion. Additional abbreviations see Fig. 1.



deren Aufbau erkennen. Die äußere, kompakte Schicht geht nach innen in ein spongiöses Hohlräumssystem über (Abb. 5a, c), das in der zentralen Vertiefung über kleine Öffnungen mit der Außenwelt in Verbindung steht (Abb. 3d, 5e). Das Capitulum ist über einen kurzen Stiel mit dem Operculum verwachsen. Dieser ähnelt weitgehend der äußeren kompakten Schicht des Capitulums; eine Verbindung zum Operculum existiert nicht (Abb. 5d).

Im Bereich der Mikropylenplatte findet sich ein uneinheitlich dicker Strang von 12,5 bis 19  $\mu\text{m}$  Dicke, der das Exochorion mit dem Endochorion verbindet. Er geht von Schicht I ab (Abb. 6a, e), zieht schräg durch das gesamte Exochorion und geht weiter innen in den Mikropylenpfeiler über (Abb. 6a, d). Innerhalb dieses Stranges sind im Längsschnitt oft Aufweitungen im proximalen Abschnitt (Abb. 6d) oder mehr distal feine, dunkel gefärbte Fäden (Abb. 6e) mit benachbarten, lateralen Aufweitungen zu erkennen. Diese Fäden setzen sich manchmal bis in die Wand des Mikropylenpfeilers fort (Abb. 6d).

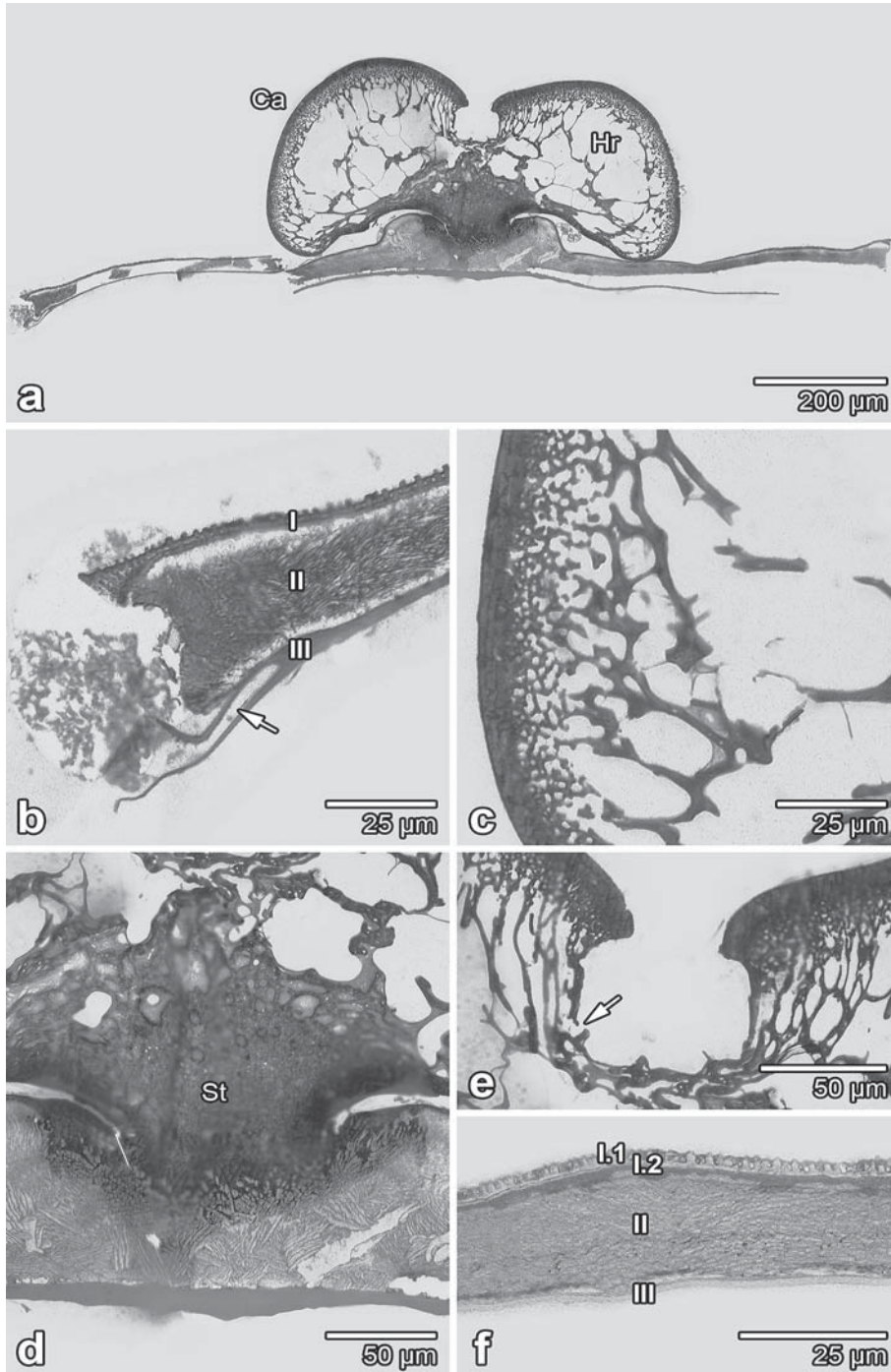
In einer lückenlosen Querschnittserie (Abb. 7) von posterior nach anterior konnten im Mikropylenstrang mehrere Hohlräume nachgewiesen werden. In keinem Fall standen diese mit der äußeren oder inneren Oberfläche des Chorions in Verbindung (Abb. 6 d, e, 7a, b, g). Die Schnittserie beginnt mit einer erkennbaren Verdickung der ersten Chorion-schicht (Abb. 7a). Ungefähr 16  $\mu\text{m}$  weiter nach

anterior hat sich innerhalb der Verdickung eine zentrale Verdichtung gebildet, der Mikropylenstrang (Abb. 7b). Öffnungen sind in diesem Bereich nicht zu erkennen. Nach ca. 32  $\mu\text{m}$  sind innerhalb des Mikropylenstranges zwei fast kreisrunde Hohlräume auszumachen (Abb. 7c; Pfeile). Nach etwa 48  $\mu\text{m}$  lassen sich neben den beiden schon zuvor beobachteten Hohlräumen einige zusätzliche Lumina erkennen (Abb. 7d), die nach ca. 80  $\mu\text{m}$  (Abb. 7e) jedoch nicht mehr auszumachen sind. Hier lassen sich lediglich zwei schmale Fäden (weiße Pfeile) beobachten, die aus den bereits erwähnten parallelen Hohlräumen hervorgegangen sind. Ventral wird ein weiterer Hohlraum sichtbar (schwarzer Pfeil). Nach ungefähr 128  $\mu\text{m}$  nähert sich der Mikropylenstrang der kompakten Schicht III.5 an; die Weite des ventralen Hohlraumes (schwarzer Pfeil) nimmt ab. Aus den beiden parallelen Fäden sind wiederum kleine Hohlräume geworden (weiße Pfeile). Nach etwa 160  $\mu\text{m}$  hat der Mikropylenstrang Anschluss an Schicht III.5 erhalten; das ventrale Lumen ist nicht mehr zu erkennen. Im Bereich um ca. 192  $\mu\text{m}$  anterior des Startpunktes der Schnittserie ist der Mikropylenstrang vollständig verschwunden, und der Mikropylenpfeiler ist sichtbar. Die Wand des Mikropylenpfeilers besteht offensichtlich aus Schicht III, deren kompakte Schicht (III.5) in das Endochorion übergeht (Abb. 6d, 7h); dieses enthält ein Hohlräumssystem (Abb. 6d, 7).

**Abb. 5:** Semidünnschnitte durch Chorionbereiche des Eis von *Carausius morosus*. **a:** Operculum mit Capitulum (Ca), Übersicht; **b:** Ausschnitt aus a (links); Randbereich des Operculums mit drei Hauptschichten (I-III) und gefalteter Schicht III (Pfeil); **c:** Randbereich des Capitulums mit Übergang der kompakten „Schale“ zu einem Hohlräumssystem; **d:** Basis des Capitulums in der Mitte des Operculums mit zentralem Stiel (St); **e:** zentrale Vertiefung des Capitulums mit Zugängen zum Hohlräumssystem (Pfeil); **f:** unspezialisiertes Chorion mit verschiedenen Schichten (I.1- III); Hr = Hohlräumssystem im Capitulum.

**Fig. 5:** Semithin-sections of various regions of the egg chorion of *Carausius morosus*. **a:** operculum with capitulum, overview; **b:** section of a; border of the operculum with the three main layers (I-III) and folded layer III (arrow); **c:** compact border of the capitulum and adjacent lacunar system; **d:** basis of the capitulum with a peduncle (St) in the center of the operculum; **e:** central depression of the capitulum with access (arrow) to lacunar system; **f:** unspecialized chorion with several layers (I.1-III); Hr = lacunar system.





Schicht III ist anterior anders organisiert als posterior. Posterior des Mikropylenpfeilers ist sie dicht und kompakt. Die gesamte Schichtenfolge des Chorions ähnelt der des unspezialisierten Teils. Das Chorion ist unmittelbar posterior des Pfeilers mit etwa 75 µm wesentlich dicker als das unspezialisierte Chorion. Am stärksten verdickt sind die Schichten II (etwa 40 µm) und III (etwa 11 µm). Schicht I ist dünner und kompakt (Abb. 6f). Dieser etwa 160 µm lange und 70 µm breite Bereich ist am Ei als Medianlinie erkennbar (Abb. 6a; vgl. Abb. 2a). Anterior des Mikropylenpfeilers ist Schicht III in weitere unterschiedlich dichte spongiöse Lagen zu unterteilen und wesentlich dicker als posterior (etwa 40 µm). Ein Teil davon geht in das Innere des Mikropylenpfeilers über (Abb. 6d). An den Grenzen der Mikropylenplatte scheint Schicht III die mineralisierte Schicht II zu durchdringen, mit Schicht I zu verschmelzen und ein dichtes Maschenwerk zu bilden (Abb. 6b, 7). Dies wird auch dann deutlich, wenn man den Bruch durch die Grenzregion im Rasterelektronenmikroskop betrachtet (Abb. 4e).

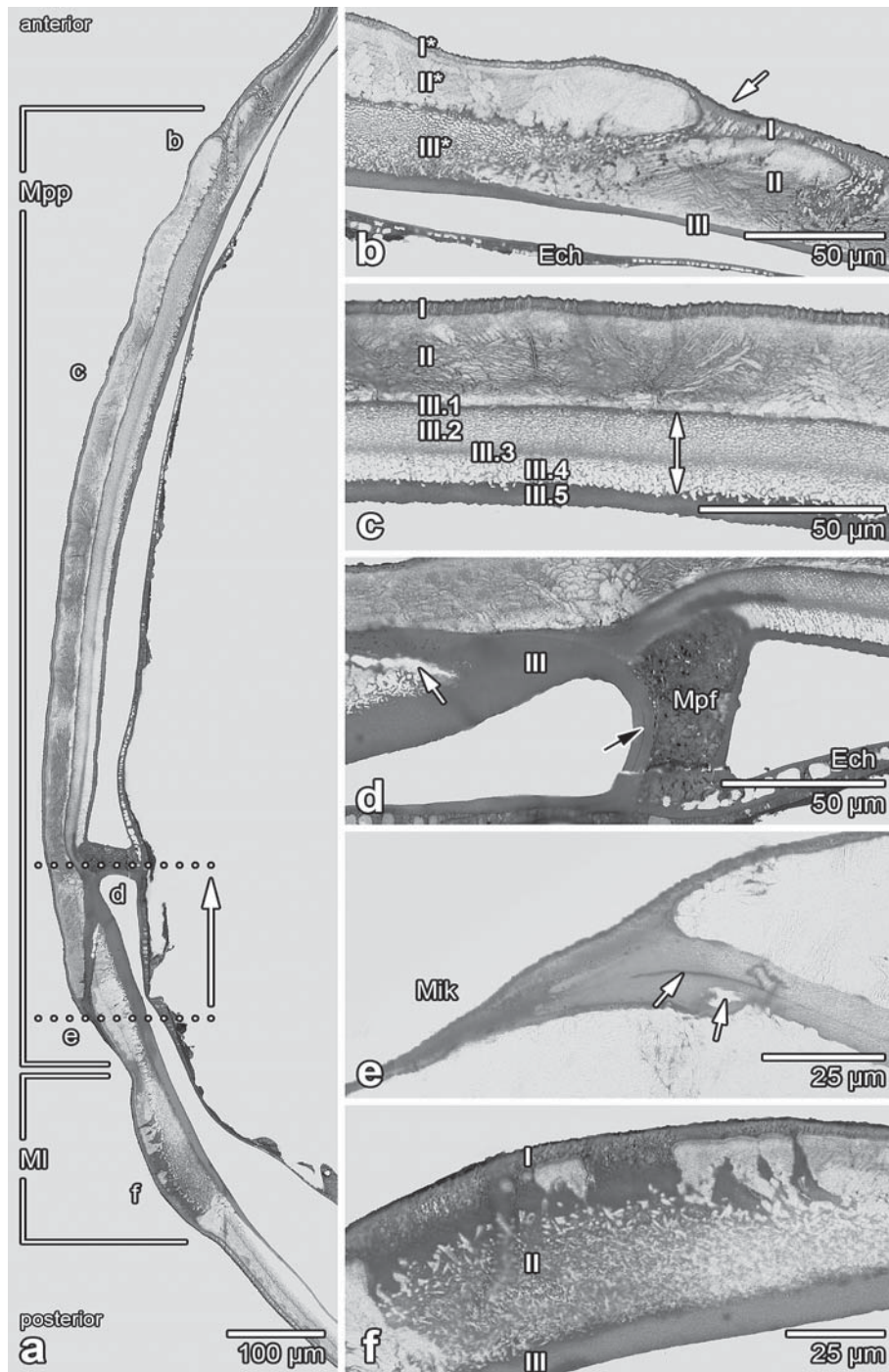
#### 4. Diskussion

Der äußere Aufbau des Eis und die Schichtenfolge des Chorions bei *Carausius morosus* sind bekannt (vgl. LEUZINGER 1926; LARINK 1978; MAZZINI & SCALI 1980; HINTON 1981; GODEKE & PIJNACKER 1984). Das Capitulum dieser Eier – es ähnelt offenbar den Elaiosomen von Pflanzensamen und fördert so die Verschleppung und das Vergraben von Eiern durch Ameisen (u.a. HUGHES & WESTOBY 1992) – wird von LARINK (1978) und MAZZINI & SCALI (1980) als ungestielt und lediglich als am Operculum festgekittet beschrieben. Die Zeichnungen von LEUZINGER (1926) und HINTON (1981) und unsere lichtmikroskopischen Aufnahmen lassen aber sehr wohl einen kurzen Stiel erkennen.

Das unspezialisierte Exochorion der Eier von *C. morosus* besitzt drei auch im Rasterelektronenmikroskop leicht zu identifizierende Hauptschichten (I-III). Es ist, wie bei vielen anderen Phasmiden auch, stark mineralisiert, im Wesentlichen wohl mit Calciumsalzen (vgl. u.a. MOSCONA 1950; HINTON 1981; CARLBERG et al. 1982; LIPINSKI et al. 1999; GREVEN et al.

**Abb. 6:** Semidünnschnitt durch die Mikropylenplatte des Eis von *Carausius morosus*, längs. **a:** Übersicht (vgl. Abb. 4a); punktierte Linie = Schnittserie in Abb. 7; **b,c,d,f:** Ausschnitte aus a; **b:** anteriorer Übergang (Pfeil) der spongiösen Schicht (III) der Mikropylenplatte in die Stäbchenschicht (I) des unspezialisierten Chorions (vgl. Abb. 4e); **c:** Organisation des Chorions anterior des Mikropylenpfeilers mit modifizierter spongiöser Schicht III (Doppelpfeil); **d:** proximales Ende des Mikropylenstranges mit Übergang in die Wand des Mikropylenpfeilers und des Endochorions; mögliche Reste von Mikropylenkanälen (weißer und schwarzer Pfeil); **e:** mögliche Reste von Mikropylenkanälen im distalen Bereich des Mikropylenstranges (Pfeile); **f:** Schichtenfolge (I-III) posterior des Mikropylenstranges in der Medianlinie. I-III = Schichten des Chorions; Ech = Endochorion; Mik = Bereich der Mikropyle; MI = Medianlinie; Mpf = Mikropylenpfeiler; Mpp = Mikropylenplatte.

**Fig. 6:** Longitudinal semithin section of the micropylar plate of the egg of *Carausius morosus*. **a:** overview (see Fig. 4a); dotted line = serial sections in Figure 7; **b,c,d,f:** sections from a; **b:** anterior fusion (arrow) of the spongy layer (III) of the micropylar region with the rodlet layer (I) of the unspecialized chorion (see Fig. 4e); **c:** organisation of the chorion anterior to the micropylar stalk with modified, spongy (double arrow) layer III; **d:** proximal portion of the micropylar strand and its transition in the wall of the micropylar stalk and endochorion; putative remnants of micropylar canals (white and black arrow); **e:** putative remnants of micropylar canals in the distal portion of the strand (arrow); **f:** chorion layers posterior of the micropylar strand within the median line. I-III = chorion layers; Ech = endochorion; Mik = micropylar region; MI = median line; Mpf = micropylar stalk.



2004). Das gilt vor allem für die Hauptschicht II, die auch nach EDTA-Entkalkung – EDTA bildet auch mit Metallionen und einigen Proteinen Chelatkomplexe – noch schwer zu schneiden ist. Drei Hauptschichten finden sich im Prinzip auch im Chorion von anderen Phasmiden ganz unterschiedlicher systematischer Stellung (u.a. MAZZINI et al. 1980, 1993; VISCUSO & LONGO 1983; VISCUSO et al. 1986; LIPINSKI et al. 1999; GREVEN et al. 2005; VAN DE KAMP & GREVEN in Vorb.). Das gilt auch für das Exochorion von *Bacillus libanicus*, in dem MOSCONA (1950a) histologisch und histochemisch sieben Lagen unterscheidet. Unsere Semidünnschnitte zeigen, dass einzelne Schichten mehr oder weniger stärker modifiziert sind und nach Entkalkung unterschiedlich dichtes spongioses organisches Material hinterlassen (vgl. auch HINTON 1981).

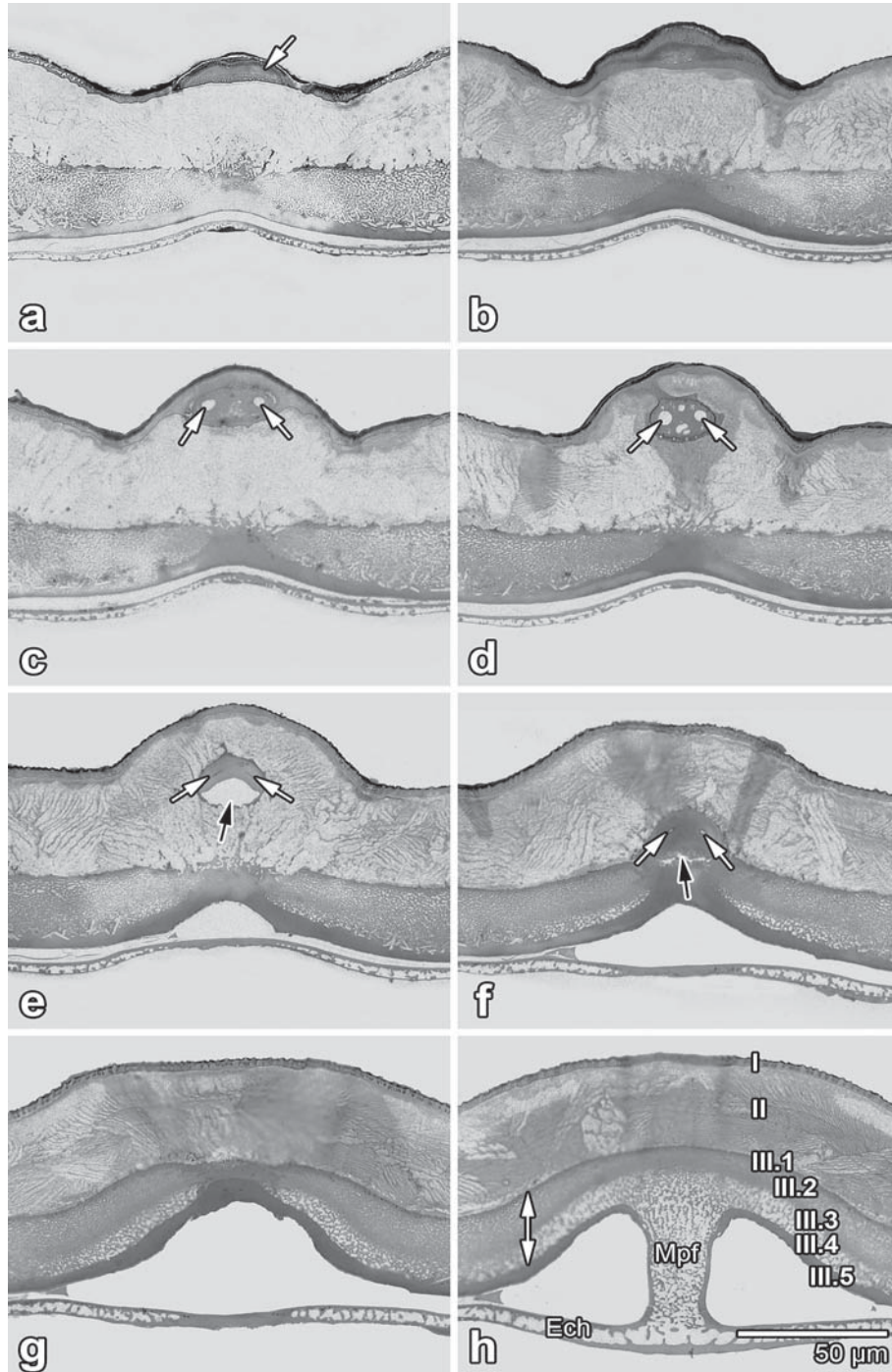
Im Hinblick auf die histologische Struktur des Chorions der Eier von *C. morosus* sind die Angaben von LEUZINGER (1926), LARINK

(1978) und vor allem von HINTON & KENDALL (in HINTON 1981) weitgehend zu bestätigen, d.h. das Vorhandensein einer zweischichtigen Stäbchenlage, einer darunter liegenden kristallinen Schicht aus Calciumsalzen und einem organischen Maschenwerk (entspricht unserer Schicht II) und einer homogenen Lage (Schicht III), eines kompakten Operculums und dessen Verbindung mit dem Chorion, eines Hohlraumsystems im Capitulum und dessen Öffnungen in der zentralen Einsenkung sowie die Besonderheiten der Mikropylenplatte.

Die Angaben über Anzahl, Verlauf und Weite der Mikropylenkanäle sind allerdings ganz unterschiedlich (ein durchgängiger Kanal: LEUZINGER 1926; zwei durchgängige Kanäle: CAPPE DE BAILLON 1940; ein weitleumiger Kanal mit einer Verbindung nach innen: LARINK 1978; gelegentlich zwei Kanäle ohne Verbindung nach außen: MAZZINI & SCALI 1980; ein nach beiden Seiten blind endender englumiger Kanal: HINTON & KENDALL (in HINTON

**Abb. 7:** Semidünnschnittserie, quer, von posterior (a) nach anterior (h) durch den Mikropylenstrang eines Eis von *Carausius morosus*. **a:** Verdickung von Schicht I (Pfeil); **b:** nach ca. 16 µm weitere Verdickung und Ausbildung eines kompakten zentralen Bereichs (Mikropylenstrang); **c:** nach ca. 32 µm: innerhalb des Mikropylenstranges liegen zwei Hohlräume (Pfeile); **d:** nach weiteren 48 µm liegt der Mikropylenstrang frei in Schicht II; man beachte das Vorhandensein weiterer Hohlräume; die beiden Hohlräume aus Abb. c sind noch sichtbar (weiße Pfeile); **e:** nach weiteren 80 µm besitzt der Strang ventral einen großen Hohlraum (schwarzer Pfeil); dorsal bilden zwei feine Fäden (weiße Pfeile) die Fortsetzung der lateralen Hohlräume; **f:** nach weiteren 128 µm nähert sich der Strang Schicht III.5 (vgl. Abb. 6d); der große Hohlraum (schwarzer Pfeil) ist kleiner; die beiden kleinen Hohlräume darüber entsprechen denen im vorigen Bild; **g:** nach weiteren 160 µm hat der Strang Anschluss an Schicht III.5; **h:** nach weiteren 192 µm ist der Strang verschwunden; Schichtung der Mikropylenplatte (I-III.5) mit modifizierter Schicht III (Doppelpfeil). Ech = Endochorion; Mpf = Mikropylenpfeiler.

**Fig. 7:** Cross sectioned micropylar plate (semi-thin sections) from distal (a) to proximal (b) of an egg of *Carausius morosus*. **a:** thickening of layer I (arrow) that forms the micropylar strand; **b:** after approx. 16 µm thickening has increased, its dense center represents the micropylar strand; **c:** after approx. further 32 µm two lacunae are visible within the distal part of the micropylar strand (arrows); **d:** after further 48 µm the micropylar strand lies freely in layer II; note presence of further lacunae; those seen in Fig. c are still present (white arrows); **e:** after further 80 µm the strand contains a large lacunae; two small threads (white arrows) replace the lateral lacunae; **f:** after about 128 µm the strand approaches layer III; the large lacuna (black arrow) is now smaller, and the threads of Fig. e are now widened; **g:** after further 160 µm the strand fused with sublayer III.5; **h:** after further 192 µm the strand is no longer seen; layers of the micropylar plate (I-III.5) with modified layer III (double arrow). Ech = endochorion; Mpf = micropylar stalk.



1981); zwei relativ weitleumige, durchgängige Mikropylkanäle, die sich nach außen öffnen sowie das gesamte Exochorion, z.T. in der Wand des Mikropylenpfeilers, und das Endochorion durchdringen: GODEKE & PIJNACKER 1984). Bei der nicht ausschließlich parthenogenetischen Art *Bacillus rossius* scheinen mehrere entweder offene oder geschlossene Mündungen vorzukommen (MAZZINI & SCALI 1977).

PIJNACKER & FERWERDA (1976) glauben, dass die Entwicklung der Eier durch Sauerstoff angeregt wird, der durch die Mikropylen unmittelbar nach der Eiablage zur Eizelle gelangt. Auch WIGGLESWORTH & BEAMENT (1950) haben dem Mikropylkanal von *C. morosus* eine respiratorische Funktion zugeschrieben; diese Annahme ist nicht ohne Weiteres mit der Tatsache zu vereinbaren, dass der Mikropylkanal bei vielen, auch bisexuellen Phasmiden geschlossen, gar nicht erkennbar oder nur als blind endender Kanal vorhanden ist. Vielleicht eignet sich die gesamte, insgesamt spongiosere Mikropylenregion als Ort der Respiration. Wahrscheinlich ist die Mikropylenregion der Phasmatoidea generell degeneriert und fungiert nicht mehr als Eintrittsstelle für die Spermien; die Oocyten müssten dann allerdings vor der Chorionbildung besamt und befruchtet werden (u.a. HINTON 1981; VISCUSO & LONGO 1983; VISCUSO et al. 1986).

Anhand lückenloser Serienschnitte von schonend entkalkten Hüllen abgelegter Eier haben wir zeigen können, dass zumindest in unseren Präparationen durchgängige Mikropylkanäle nicht vorhanden waren. Offenbar finden sich aber Reste solcher Kanäle in dem transversalen Strang der Mikropylenregion, der äußeres und inneres Exochorion miteinander verbindet. Diese Reste sind entweder dünne, gefärbte „Fäden“ und/oder Aufweitungen, die in unseren Präparaten weder eine Verbindung mit der äußeren noch mit der inneren Oberfläche des Chorions hatten.

Im Hinblick auf das weite oder enge Lumen der Mikropyle schließen wir einen Effekt der

Entkalkung aus, wie ihn GODEKE & PIJNACKER (1984) für die Befunde von LARINK (1978) und HINTON (1980) vermuten. In der Mikropylenregion bereits abgelegter Eier anderer parthenogenetischer, aber auch bisexueller Phasmiden finden wir nach einer Fixierung und Entkalkung, wie wir sie nahezu identisch bei *C. morosus* angewandt haben, weitleumige Mikropylkanäle (VAN DE KAMP & GREVEN in Vorbereitung; vgl. auch die Diskussion bei VISCUSO et al. 1986).

Die plausibelste Erklärung für die in der Literatur und hier beschriebenen Unterschiede dürfte eine bisher in diesem Ausmaß bei *C. morosus* nicht diskutierte Variationsbreite in der Ausbildung von Resten von Mikropylkanälen sein. Variationen des äußeren Erscheinungsbildes der Mikropylenplatte sind schon seit längerem bekannt (PIJNACKER 1971). Es wäre zu überprüfen, ob unterschiedlich ausgebildete Mikropylkanäle bereits innerhalb eines Geleges und/oder zwischen den Gelegen verschiedener Individuen vorhanden sind.

## Literatur

- BEIER, M. (1968): 10. Phasmida (Stab- oder Gespenstschrecken). S. 1-56 in: HELMCKE, J.G., STARCK, D., WERMUTH, H. (Hrsg.): Handbuch der Zoologie, Band IV: Arthropoda, 2. Hälfte: Insecta, 2. Teil. De Gruyter; Berlin.
- CAPPE DE BAILLON, P. (1940): L'embryogénie des monstres doubles des Phasmens. Bulletin Biologique de la France et de la Belgique 74: 197-248.
- CARLBERG, U., LINDQUIST, B.A.R., & PALMHEDEN, A.-K. (1982): Mineral contents of the egg shell of stick insects (Phasmida). Zoologischer Anzeiger 208: 68-73.
- CLARK SELICK, J.T. (1988): The capitula of phasmid eggs: an update with a review of the current state of phasmid ootaxonomy. Zoological Journal of the Linnean Society London 93: 273-382.
- CLARK SELICK, J.T. (1997): Descriptive terminology of the phasmid egg capsule, with an extended key to the phasmid genera based on egg structure. Systematic Entomology 22: 97-122.

- GODEKE, J., & PIJNACKER, L.P. (1984). Structure of the micropyle in the eggs of the parthenogenetic stick insect *Carausius morosus* Br. (Phasmatodea, Phasmatidae). Netherlands Journal of Zoology 34: 407-413.
- GREVEN, H., MIELEWCZIK, M., & HAMMER, H. (2005): Röntgenmikroanalytische Untersuchung des Chorions der Gespenstschrecke *Pharmacia westwoodi* (Phasmatodea). Entomologie heute 17: 39-45.
- HINTON, H.E. (1981): Biology of insect eggs, vol. II. Pergamon Press; Oxford, New York.
- HUGHES, L., & WESTOBY, M. (1992): Capitula on stick insect eggs and elaiosomes on seeds: convergent adaptations for burial by ants. Functional Ecology 6: 642-648.
- KARNOVSKY, M.J. (1965): A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. Journal of Cell Biology 27: 137A.
- LARINK, O. (1978): Die Eischalen-Struktur der Stabheuschrecke *Carausius morosus* (Phasmatodea: Phasmatidae). Entomologica Germanica 4: 133-139.
- LEUZINGER, H. (1926): Eibau und Keimblätterbildung, S. 1-88 in LEUZINGER, H., WIESMANN, R., & LEHMANN, F.E. (Hrsg.): Zur Kenntnis der Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Stabheuschrecke *Carausius morosus* Br. Gustav Fischer Verlag; Jena.
- LIPINSKI, K., GREVEN, H., SCHULTEN, D., & LÖSER, S. (1999): Die Struktur der Eihüllen von 48 Phasmatodea-Arten aus der Sammlung des Löbbecke-Museum und Aquazoo Düsseldorf. Entomologische Mitteilungen aus dem Löbbecke-Museum und Aquazoo, Beiheft 5: 1-125.
- MAZZINI, M., & SCALI, V. (1977): Fine structure of the insect micropyle. 6. Scanning electron microscope investigations of the egg of the stick insect *Bacillus rossius* (Rossi) (Insecta Cheleutoptera). Monitore Zoologico Italiano N.S. 19: 71-82.
- MAZZINI, M., & SCALI, V. (1980): Ultrastructure and amino acid analysis of the eggs of the stick insects, *Lonchodes pterodactylus* Gray and *Carausius morosus* Br. (Phasmatodea: Heteronemiidae). International Journal of Insect Morphology and Embryology 9: 369-382.
- MAZZINI, M., CARCUPINO, M., & FAUSTO, A.M. (1993): Egg chorion architecture in stick insects (Phasmatodea). International Journal of Insect Morphology and Embryology 22: 391-415.
- MOSCONA, A. (1950): Studies of the egg of *Bacillus libanicus* (Orthoptera, Phasmidae). I. The egg envelopes. Quarterly Journal of Microscopical Science 91: 183-193.
- PIJNACKER, L.P. (1971): The origin of abnormal micropyle apparatus of eggs of *Carausius morosus* Br. (Cheleutoptera; Phasmidae). Netherlands Journal of Zoology 21: 366-372.
- PIJNACKER, L.P., & FERWERDA, M.A. (1976): Experiments on blocking and unblocking of first meiotic metaphase in eggs of the parthenogenetic stick insect *Carausius morosus* Br. (Phasmida, Insecta). Journal of Embryology and experimental Morphology 36: 383-394.
- SPURR, A.R. (1969): A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. Journal of Ultrastructure Research 26: 31-43.
- VISCUSO, R., & LONGO, G. (1983): Morphology and fine structure of the corion of the eggs of *Anchiale maculata* Olivier and *Eurycnema herculeana* Brunner (Phasmatodea, Phasmatidae). Archives biologiques (Bruxelles) 94: 413-439.
- VISCUSO, R., LONGO, G., & DE LUCA, V. (1986): Egg morphology and chorion fine structure in the stick insect *Eurycantha borrida* Boisduval (Phasmatodea, Phasmatidae). Archives biologiques (Bruxelles) 97: 417-434.
- WIGGLESWORTH, V.V., & BEAMENT, J.W.L. (1950): The respiratory mechanisms of some insect eggs. Quarterly Journal of Microscopical Science 91: 429-452.
- ZOMPRO, O. (2004): Revision of the genera of the Areolatae, including the status of *Timea* and *Agathemera* (Insecta, Phasmatodea). Abhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins in Hamburg (NF) 37: 1-327.

Dipl. Biol. Thomas van de Kamp  
 Prof. Dr. Hartmut Greven  
 Institut für Zoomorphologie  
 und Zellbiologie

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
 Universitätsstr. 1  
 D-40255 Düsseldorf  
 E-Mail: thomas@van-de-kamp.com  
 grevenh@uni-duesseldorf.de

