

# Der Einfluß des Lichtes auf die Temperaturadaptation bei *Rana temporaria*<sup>1</sup>

PETER KASBOHM<sup>2</sup>

Zoologisches Institut der Universität Kiel,  
Lehrstuhl für vergleichende Physiologie und Tierpsychologie,  
Kiel

**ABSTRACT:** The influence of light on the temperature adaptation in *Rana temporaria*. Adult *Rana temporaria* L. males were acclimated to 7° and 23° C under long day, short day and continued darkness. Thereafter their oxygen consumption was measured at 23° C under different light conditions (automatic 24-hour registration). The individuals previously kept in darkness exhibited capacity adaptation in the sense of a compensation; long day acclimated frogs showed a respective adaptation, without change of light conditions, only in regard to the night values. For short day acclimated individuals, the test temperature of 23° C is unnaturally high. This fact may have affected our results and led to curves which are extremely difficult to interpret. The results obtained indicate that it is important to control the light conditions not only during the first acclimation period but also during the experiment proper. The experiments provide hints for the assumption that the known temperature independence of the circadian rhythm is based on a fast, almost ideal compensation. Extirpation of the pineal organ reduces oxygen consumption and causes the capacity adaptation to disappear. Oxygen consumption of muscle homogenates of individuals exposed to light during the daytime showed capacity adaptation in the sense of a compensation.

## EINLEITUNG

Bei vielen wechselwarmen Tieren ließen sich Anpassungen des Stoffwechsels an veränderte Temperaturen feststellen, die als Leistungsadaptationen bezeichnet werden. Sie haben sowohl für einen relativ kurzfristigen Temperaturwechsel während einer bestimmten Jahreszeit, als auch für die jahreszeitlichen Änderungen eine Bedeutung. Bei diesen langfristigen Anpassungen können neben der Adaptationstemperatur andere Faktoren wichtig sein, wie z. B. die Tageslänge. Daher stellte sich das Ziel dieser Arbeit, die Wirkung beider Faktoren auf den Sauerstoffverbrauch erwachsener intakter Grasfrösche (*Rana temporaria* L.) und von Muskelgewebehomogenisaten zu untersuchen.

Die Jahreszeit kann den Tieren durch eine innere Jahresuhr angezeigt werden. Dieser endogene Circaannuus-Rhythmus wird – wie der circadiane – durch Zeitgeber einreguliert (vgl. ASCHOFF & WEVER 1962, PRECHT 1964, REMMERT 1965). Wie ALLI-

---

<sup>1</sup> Herrn Professor Dr. FRIEDRICH KRÜGER zum 65. Geburtstag am 18. August 1967 in Verehrung gewidmet.

<sup>2</sup> Neue Anschrift: Kiel, Kuchelstraße 30.

son (1956) beobachtete auch ich, daß im Herbst gefangene Frösche, die im dunklen Kühlschrank aufbewahrt wurden, im späten Frühjahr laichten. So mag der Jahresuhr eine größere Bedeutung zukommen, als man zunächst vermutet. Das Tier spricht eventuell sogar primär auf die innere Uhr an; der Einfluß der Tageslänge, durch den die Uhr gestellt wird, wäre dann sekundär. Erst wenn diese Wirkung der Tageslänge blockiert ist, wird die Jahresuhr deutlich, obwohl es sich hierbei um Ausnahmen handelt (PRECHT & CHRISTOPHERSEN 1965). Die Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauchs der Amphibien von der Versuchs- und Adaptationstemperatur ist des öfteren gemessen worden (VERNBERG 1952, FROMM & JOHNSON 1955, STANGENBERG 1955, JANKOWSKY 1960, RIECK 1960, WHITFORD & HUTCHISON 1963, VINEGAR & HUTCHISON 1965). Für die Ganztieratmung von *Rana temporaria* und *R. esculenta* fanden schon KROGH (1904) und DOLK & POSTMA (1927) im Frühjahr und Frühsommer einen steigenden Anteil der Lungenatmung, während die Hautatmung das ganze Jahr eine relativ konstante Höhe behielt. Diese jahreszeitlichen Schwankungen des Sauerstoffverbrauchs zeigten Frösche (FROMM & JOHNSON 1955, STANGENBERG 1955) und Urodelen (VERNBERG 1952) auch, wenn sie an verschiedene konstante Temperaturen angepaßt waren. Bei *Triturus viridescens* sollen die Schwankungen des Sauerstoffverbrauchs Beziehungen zur Lunarperiodik aufweisen (BROWN et al. 1955). Eine hormonale Steuerung der Leistungsadaptation durch die Hypophyse konnte JANKOWSKY (1960) nachweisen.

Der Einfluß der Adaptationstemperatur auf den Sauerstoffverbrauch des Muskelgewebes dunkel gehaltener Frösche wurde von verschiedenen Autoren verneint (STANGENBERG 1955, PRECHT 1960, JANKOWSKY 1960), während RIECK (1960) eine Adaptation des Muskelgewebes bei zum Teil nahe verwandten Arten nachweisen konnte, die vor dem Versuch im Freilandranarium (Trinidad) gehalten wurden. Auch die von LOCKER (1958a, b) bei verschiedenen Geweben gemessenen Unterschiede des Sauerstoffverbrauchs von Sommer- und Winterfröschen mögen auf Adaptationseffekten beruhen, da die Temperaturen der Vorbehandlung ca. 20° beziehungsweise 7–10° C betragen, doch können temperaturunabhängige jahreszeitliche Veränderungen hierbei mitgewirkt haben. Jahreszeitliche Unterschiede ergaben sich bei Amphibien ferner für den Glykogengehalt der Froschleber (LOCKER & DONEFF 1958) und einige Froschhirnregionen (OKSCHE 1961), die Jodspeicherung durch die Schilddrüse (CAPUTA 1964), die Neurosekretion des Nucleus praeropticus (VOITKEVICH et al. 1960, DIERICKX et al. 1960) sowie für die Hypophyse, Thyreoidea, Thymus- und Keimdrüsen (SKLOWER 1925). Eine Abhängigkeit von der Photoperiode fand BUSH (1963) für die Fettpolsterbildung bei *Bufo fowleri*. Durch geeignete Kombinationen von Licht und Temperatur konnten unter Laboratoriumsbedingungen jahreszeitliche Änderungen endokriner Gewebe induziert werden (VOITKEVICH et al. 1960, OORDT et al. 1963, BREHM 1964). Die Abhängigkeit des Gasstoffwechsels von der Photoperiode untersuchten WHITFORD & HUTCHISON (1965) bei *Ambystoma maculata*; sie fanden eine Steigerung der Ganztieratmung mit der Länge der Photoperiode während der Vorbehandlung. Die große Variabilität der Meßwerte dunkel gehaltener Tiere ist wohl durch die Beleuchtung während ihrer Versuche bedingt; bei den Kurztags- und Langtagstieren war sie geringer.

Meine Untersuchungen zeigen, daß neben den Adaptations- auch die Versuchsbedingungen eine große Bedeutung haben können, was bisher kaum Beachtung fand.

Bisher wurden die Tiere oftmals im verdunkelten Raum untersucht, um Bewegungen zu unterbinden; von den meisten Autoren werden die Lichtbedingungen zur Versuchszeit nicht für erwähnenswert gehalten. Ferner erstreckten sich die Messungen der Ganztieratmung im allgemeinen nur auf einen Zeitraum von 4 bis 12 Stunden. Sie sind von GRAINGER (1960) als „overshoot“-Messungen angezweifelt worden und vernachlässigen den auch bei Amphibien gefundenen circadianen Rhythmus (BROWN et al. 1955, ROGGEN 1962, BOGENSCHÜTZ 1965). Meine Untersuchungen verfolgen das Ziel, den Einfluß der Lichtverhältnisse und der Temperatur während der Vorbehandlung und eines 24-stündigen Versuchs in verschiedenen Kombinationen auf den Sauerstoffverbrauch erwachsener Grasfroschmännchen zu prüfen.

Im Zusammenhang mit der Frage, wie die Tageslänge wahrgenommen wird, habe ich auch die Bedeutung des Pinealorgans geprüft. Diese auch Stirnorgan genannte Ausstülpung des Diencephalons entsteht ontogenetisch aus der Epiphyse, trennt sich jedoch während der Metamorphose vom Epiphysenschlauch und durchdringt das Schädeldach (RIECH 1925, EAKIN & WESTFALL 1961, OKSCHE 1962, vgl. auch BOGENSCHÜTZ 1965). Es muß somit zwischen Funktionen des Pinealorgans (Stirnorgan) und denen der Epiphyse getrennt werden, was nicht alle Autoren berücksichtigen. Die Endblase des Stirnorgans ist in der Kopfhaut von *Rana temporaria* als pigmentarmer Fleck mit einer leichten Vorwölbung auf dem Schnittpunkt der Scheitellinie mit der Verbindungslinie der vorderen Augenränder meist deutlich zu erkennen. Sie enthält Retinalstrukturen (EAKIN & WESTFALL 1961, OKSCHE & HARNACK 1963) und spricht sowohl auf chromatisches als auch auf achromatisches Licht an (DODT & HEERD 1962). Vom Pinealnerv konnten langsame lichtabhängige Potentiale abgeleitet werden (BAUMANN 1962), doch zeigten auch pinealektomierte Frösche in der Nähe des Epiphysenstiels eine elektrische Daueraktivität, deren Frequenz bei Belichtung des Zwischenhirndaches abnahm (DODT & JACOBSON 1963). Daneben konnten Anzeichen für eine Neurosekretion des Pinealorgans gefunden werden (EAKIN et al. 1963, BOGENSCHÜTZ 1965). Bei *Xenopus*-Larven unterblieb nach dem Ausätzen der Stirnblase das Aufhellen der Haut in der Dunkelheit (BAGNARA 1960). Injektionen von Epiphysenhormon (Melatonin) wie es LERNER (1958) von Rindern gewonnen hatte, induzierten die Reaktion wieder. Durch Epiphysenektomie erreichte DISCLOS (1964) bei *Alytes*-Larven eine Beschleunigung der Metamorphose und des Wachstums. Eine Gonadenstimulation wurde dadurch jedoch nicht erreicht. Beziehungen zwischen dem Pinealorgan und dem Farbwechsel zumindest der Amphibienlarven (BAGNARA 1960, BOGENSCHÜTZ 1965) sowie der Perzeption von Licht (DODT & HEERD 1962, BAUMANN 1962, OKSCHE & HARNACK 1963, BOGENSCHÜTZ 1965) können wohl als gesichert angesehen werden. Auch Verbindungen zur Hypophyse sind diskutiert worden (BOGENSCHÜTZ 1965, vgl. auch WURTMAN & AXELROD 1965). Analog zum circadianen Sekretionsrhythmus der Rattenepiphyse (WURTMAN & AXELROD 1965, SAYDER & AXELROD 1965) ist auch eine ähnliche Periodik des Pinealorgans oder des Epiphysenschlauches möglich, da sich bei Fröschen und Kaulquappen ein circadianer Farbwechselrhythmus zeigt, der auch unter Dauerdunkelheit 5 bis 8 Tage erhalten bleibt, jedoch nach Exstirpation des Pinealorgans erlischt (BAGNARA 1960, ROGGEN 1962, BOGENSCHÜTZ 1965), was in diesem Falle bedeuten würde, daß die Epiphyse nicht lichtempfindlich ist oder keine Tagesperiodizität aufweist.

## MATERIAL UND METHODE

Für die Untersuchungen verwendete ich ausgewachsene Grasfrösche (*Rana temporaria* L.), die ich etwa zur Hälfte (ca. 150 Exemplare) in der Umgebung Kiels gefangen oder als Frischfänge aus einer Froschhalterei in Süddeutschland bezogen hatte. In den Versuchsreihen wurden ausschließlich männliche Herbsttiere verwendet. Zur Aufbewahrung blieben je 10 Tiere mindestens 2 Wochen im dunklen Kühlschrank (7° C) in Plastikschüsseln, die 5 bis 6 cm hoch mit Leitungswasser gefüllt waren. Sie erhielten vor und während der Versuche kein Futter. Einige Frühjahrs- (Mitte bis Ende April) und Sommertiere (Ende Juli bis Anfang August) gelangten sofort nach dem Fang zur Untersuchung. Für sie galten die Temperatur des Fanggewässers und die durch das Fangdatum bestimmte Tageslänge als Adaptationsbedingungen (AB). Die übrigen Frösche befanden sich zur Adaptation einzeln in Glasschalen, in denen der Wasserstand 1 bis 2 cm betrug. Die warm gehaltenen Frösche (23° C) erhielten täglich, die kalt gehaltenen (7° C) wöchentlich neues temperiertes Wasser. Die Temperatur in den Anpassungsräumen hielten relaisgesteuerte Heizungen bzw. Kühlaggregate auf  $23 \pm 0,5^\circ \text{C}$  bzw.  $7 \pm 0,2^\circ \text{C}$  konstant. Die Photoperiode regulierten Schaltuhren (D = Dauerdunkelheit; K = Kurztag: 9.00 bis 17.00 Uhr Licht / 17.00 bis 9.00 Uhr Dunkelheit; L = Langtag: 5.00 bis 21.00 Uhr Licht / 21.00 bis 5.00 Uhr Dunkelheit). Leuchtstoffröhren gewährleisteten eine Lichtintensität von  $250 \pm 10$  Lux in Tiernähe. Alle Frösche wurden zunächst 7 bis 9 Tage an 23° C angepaßt (warmadaptiert), um „Adaptationseffekte“ auszuschließen, die nur durch Unterschiede in der Länge der Hungerzeit vorgetäuscht werden (vgl. PRECHT 1958). Zur Anpassung an tiefe Temperaturen blieben die Tiere anschließend 18 bis 21 Tage in der 7°-Klimakammer (vgl. JANKOWSKY 1960). Die gewünschten Lichtbedingungen wurden diesen Fröschen bereits während des Aufenthaltes bei 23° C geboten. Für die warmadaptierten, vorher dunkel gehaltenen Tiere genügten 4 bis 5 Tage, um ihren Sauerstoffverbrauch an die entsprechende Photoperiode anzugleichen. Der Rhythmus des Sauerstoffverbrauchs manifestierte sich etwas früher als dessen Höhe, wie Kontrollversuche zeigten.

Um das Pinealorgan zu zerstören, brannte ich die Stirnblase in Anlehnung an BAGNARA (1960) mit einer heißen Präpariernadel aus. Die Haut der pinealektomierten Frösche färbte sich nach 1 Stunde fahlbraun bis grau. Diese Tiere wurden nur unter Langtagsbedingungen gehalten.

Es ergaben sich acht Adaptationsgruppen:

7° C Dunkelheit	7 D	23° C Dunkelheit	23 D
7° C Kurztag	7 K	23° C Kurztag	23 K
7° C Langtag	7 L	23° C Langtag	23 L
7° C Langtag-pinealektomiert	7 Lp	23° C Langtag-pinealektomiert	23 Lp

Diese Gruppen wurden mit Ausnahme der pinealektomierten Frösche unter drei Lichtbedingungen bei einer Versuchstemperatur von 23° C getestet – dunkel gehaltene 23°-Tiere also in der Dunkelheit (23 D/D), im Kurztag (23 D/K) und im Langtag (23 D/L).

Die Messung des Sauerstoffverbrauchs der Frösche erfolgte in einem geschlossenen System (Abb. 1), in dem eine Membranpumpe (a) die Luft ständig zirkulieren ließ.

Zwischengeschaltete Waschflaschen mit Barytwasser (b) absorbierten das Kohlendioxyd. Das Respirationsgefäß (c) bestand aus einem Plexiglaszylinder, der mit einer Plexiglas-scheibe (d) durch vier Flügelschrauben luftdicht verschlossen werden konnte. Ein eingegossener Bleiboden (e) wirkte dem Auftrieb im Wasserbad (i) entgegen. Das Bodenwasser (f) im Respirationsgefäß sorgte für optimale Luftfeuchte im System. Der lose Einsatzkäfig (g) ermöglichte ein schnelles Auswechseln der Versuchstiere. Das Wasserbad und damit die Luft in dem geschlossenen System hielt ein Thermomix (h) auf

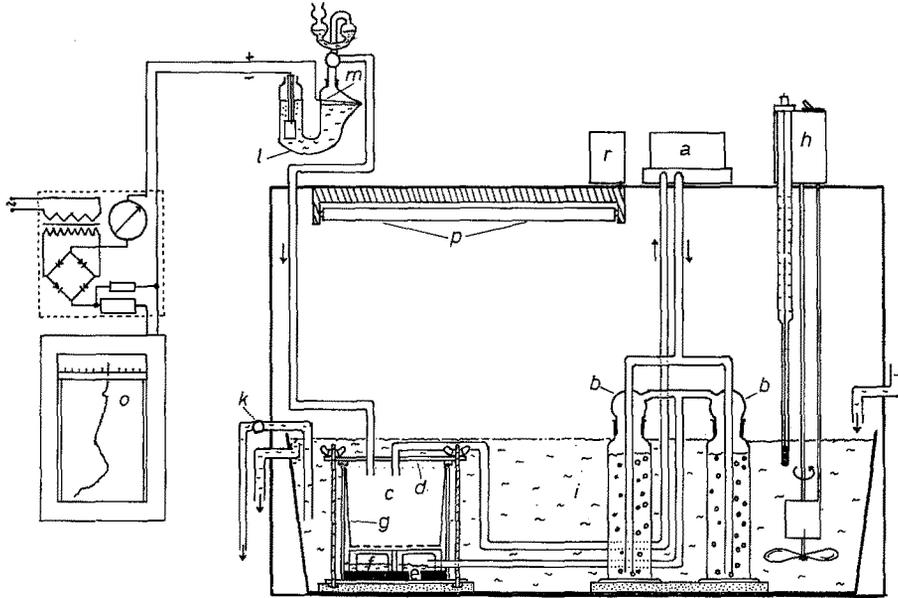


Abb. 1: Übersichtsschema der Versuchsanordnung zur kontinuierlichen Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs. (Erklärung im Text)

einer Temperatur von  $23 \pm 0,2^\circ \text{C}$  konstant. Zum Öffnen der Atmungskammer ließ sich der Wasserspiegel durch einen Heber (k) unter das Niveau des Deckels senken. Ein Elektrolyse-Manometer (l) (vgl. MOYAT 1957) ersetzte an einem schrägen Platindraht (m) den verbrauchten Sauerstoff. Die freigesetzte Sauerstoffmenge ist nach dem 1. FARADAYSchen Gesetz proportional der Stromstärke. Sie war in diesem System proportional der Kontaktfläche zwischen dem Platindraht und der Elektrolytflüssigkeit. Jede Druckänderung im System durch den Sauerstoffverbrauch, das absorbierte Kohlendioxyd und den äußeren Luftdruck verschob das Elektrolytniveau. Damit variierten die Kontaktfläche, die freigesetzte Sauerstoffmenge und die Stromstärke. Diese registrierte ein Fallbügelschreiber (o) kontinuierlich. Der Ausgleich vom Vollausschlag bis zum Nullpunkt erfolgte innerhalb von 15 Minuten. Eine 20-Watt-Leuchtstoffröhre (p) an der Decke der lichtdichten Verkleidung lieferte in Höhe des Versuchstieres eine Lichtintensität von  $250 \pm 10 \text{ Lux}$ . Über eine Schaltuhr (r) konnten die Lichtbedingungen nach Bedarf verändert werden.

Vor und nach jedem Versuch bestimmte ich das Gewicht der Tiere. Kaltadaptierte

Frösche veranlaßte ich vor dem Wiegen durch einen mäßigen Druck auf den Unterleib zum Entleeren der Harnblase (GRAINGER 1964). Warmadaptierte Tiere zeigten diese Reaktion nicht. Vom Verlassen des Adaptationsraumes bis zum ersten registrierten Meßwert vergingen durchschnittlich 20 Minuten.

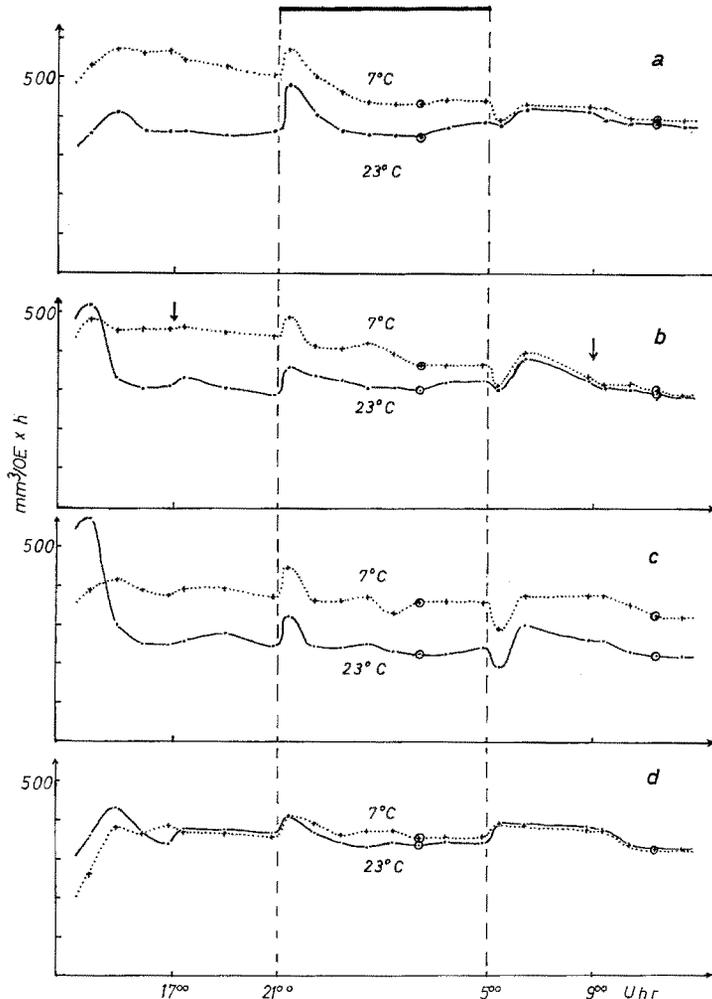


Abb. 2: Mittelwertkurven des O<sub>2</sub>-Verbrauchs bei 23° C (Langtag) über 24 Stunden für unterschiedlich adaptierte Frösche. Adaptationsbedingungen: (a) Langtag; (b) Kurztag; (c) Dauerdunkel; (d) Pinealektomie und Langtag; ○: Nacht- bzw. Tagwerte (vgl. Tab. 4 und 7)

Die Messungen erfaßten den Sauerstoffverbrauch des Ganztieres über einen Zeitraum von 24 Stunden bei 23° C und verschiedenen Lichtbedingungen. Die Versuche begannen im allgemeinen gegen 13 Uhr. Da die Stromstärkekurven des Punktschreibers eine Funktion des erzeugten und damit des verbrauchten Sauerstoffes darstellten (siehe oben), ließ sich die Atmungsintensität der Tiere für jeden Zeitpunkt des Versuches

angeben. Durch Multiplikation der registrierten Stromstärke  $I$  mit einem Umrechnungsfaktor  $f$  [ $\text{mm}^3 \cdot \text{A}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] erhielt ich den Sauerstoffverbrauch pro Stunde:

$$I \cdot f = \text{mm}^3\text{O}_2/\text{h}$$

Ich bezog diesen auf die Flächeneinheit ( $\text{OE} = \text{g}^{0,67}$ ), wobei das nach Beendigung des Versuches bestimmte Gewicht ( $\text{g}$ ) zur Berechnung verwendet wurde (DAVISON 1955, TASHIAN & RAY 1957, GRAINGER 1964).

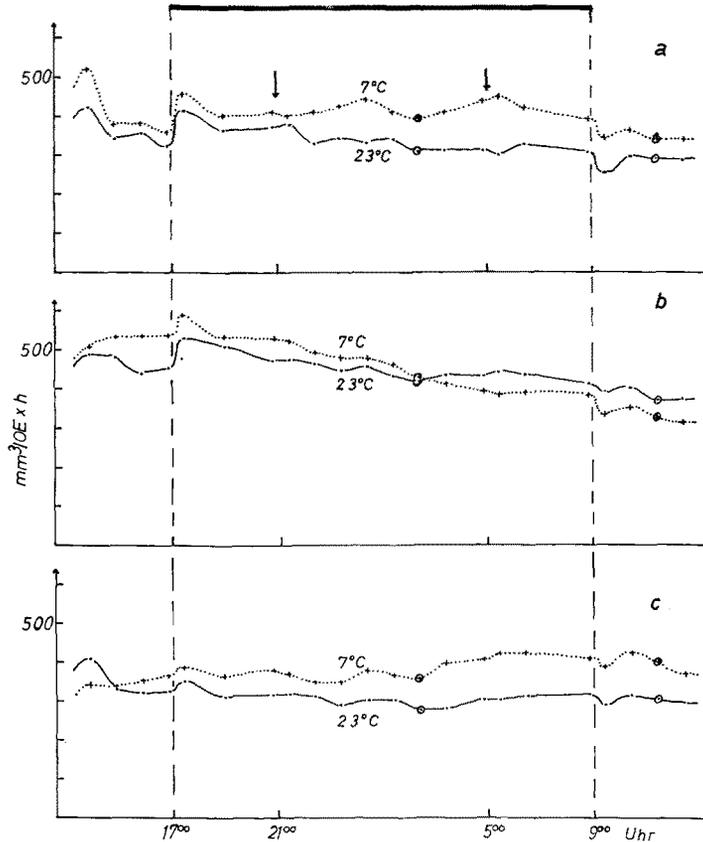


Abb. 3: Mittelwertkurven des  $\text{O}_2$ -Verbrauchs bei  $23^\circ\text{C}$  (Kurztag) über 24 Stunden für unterschiedlich adaptierte Frösche. Adaptationsbedingungen: (a) Langtag; (b) Kurztag; (c) Dauerdunkel;  $\circ$ : Nacht- bzw. Tagwerte (vgl. Tab. 5)

Zur Mittelwertbildung legte ich für die 24stündige Versuchszeit 22 Meßpunkte so fest, daß die schnellen Änderungen bei den Lichtwechselln des Lang- und Kurztages erfaßt werden konnten. An diesen Punkten betrug ihr Abstand 30 Minuten, während die Meßpunkte in den Phasen relativer Ruhe bis zu 90 Minuten auseinander lagen. Sie sind mit besonderem Augenmerk auf den Langtag gewählt und für die übrigen Versuchsreihen übernommen worden (vgl. Abb. 2, 3, 4). Die Punkte 1 bis 4 lagen in der Zeit von 13.00 bis 17.00, 5 bis 7 von 17.00 bis 21.00, 8 bis 15 von 21.00 bis 5.00,

16 bis 18 von 5.00 bis 9.00 und die Meßpunkte 19 bis 22 in der Zeit von 9.00 bis 13.00 Uhr. Bei den Versuchen unter Langtagsbedingungen wurde der Sauerstoffverbrauch in der Nachtphase durch die Werte 8 bis 15 erfaßt, unter Kurztagsbedingungen waren es die Werte 5 bis 18. Die 22 Meßwerte aus jedem Versuch, das Endgewicht (für

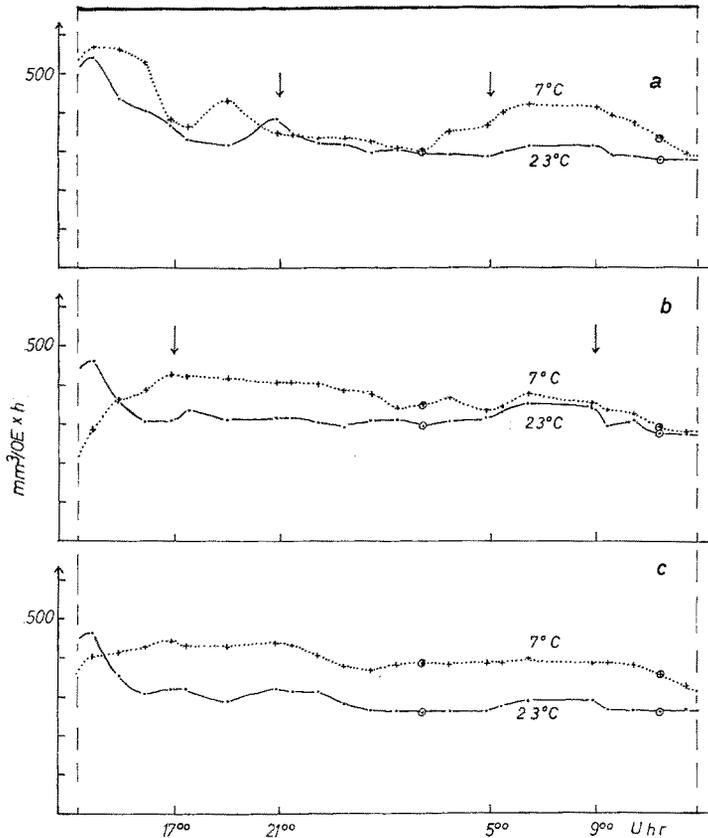


Abb. 4: Mittelwertkurven des  $O_2$ -Verbrauchs bei  $23^\circ C$  und Dunkelheit über 24 Stunden für unterschiedlich adaptierte Frösche. Adaptationsbedingungen: (a) Langtag; (b) Kurztag; (c) Dauerdunkel;  $\circ$ : Nacht- bzw. Tagwerte (vgl. Tab. 6)

den Wasserhaushalt auch das Anfangsgewicht), die Adaptations- und Versuchsbedingungen und den Umrechnungsfaktor  $f$  gab ich einem Datenverarbeiter ein. Die Berechnung der 22 Mittelwerte für jede der 20 Versuchsreihen aus den hierfür verwendeten 380 Einzelkurven erfolgte im Kieler Rechenzentrum durch Herrn Dr. MOSSAKOWSKI, dem ich für seine freundliche Hilfe herzlich danke.

Für den Vergleich der Nacht- und Tagwerte der einzelnen Gruppen wählte ich aus einem Zeitraum mit relativ gleichmäßigem Sauerstoffverbrauch in allen Meßreihen je einen Punkt der Dunkelphase (Meßwert 13 = 2.30 Uhr) und der Hellphase (Meßwert 21 = 11.30 Uhr) als Nacht- (N) bzw. Tagwert (T). Diese Werte sind in den Abbildungen 2, 3 und 4 besonders hervorgehoben. Bei der Wahl eines Mittelwertes aller

Punkte wären die Schwankungen während der Lichtwechsel und andere Unruhen in die Rechnungen eingegangen. Andererseits wird bei dem gewählten Verfahren den beiden Einzelwerten (N und T) ein nicht ganz gerechtfertigtes Gewicht beigelegt; die Vorteile für den Tag-Nacht-Vergleich rechtfertigen jedoch dieses Verfahren. Die Wahl von Vergleichswerten am Versuchsanfang erschien nicht sinnvoll, da besonders die 7<sup>0</sup>-Frösche etwa 4 bis 6 Stunden brauchten, bis sie sich beruhigt hatten und einen gleichmäßigeren Sauerstoffverbrauch zeigten (vgl. JANKOWSKY 1960, HÜLSTEN & ZERBST 1964). In diese Zeit aber fielen der Lichtwechsel des Kurztages und zum Teil auch noch der des Langtages, wodurch eine erneute Schwankung des Sauerstoffverbrauchs einsetzte.

Den Sauerstoffverbrauch von Muskelgewebe bestimmte ich im WARBURG-Apparat bei einer Versuchstemperatur von 25<sup>0</sup> C. Die Tröge enthielten je 200 mg Gewebematerial in 2 ml 0,1 mol. Glukose- und 1 ml 0,1 mol. Natriumsuccinat-Lösung. Im Mittelstutzen befanden sich 0,2 ml 20%ige Natronlauge zur Absorption des entstehenden Kohlendioxyds. Zur Gewinnung des Homogenisats wurden ca. 1,5 g grob zerkleinerte Oberschenkelmuskulatur in 5 ml Glukose-Succinat-Lösung zwei Minuten unter ständiger Eiskühlung mit einer Teflon-Gewebemühle homogenisiert und dann soweit aufgefüllt, daß 200 mg auf 3 ml Lösung entfielen. Nach einem erneuten Durchmischen in der Gewebemühle (1 min) wurde die Lösung in die Tröge pipettiert. Der Versuch lief durchschnittlich 20 Minuten nach dem Töten der Tiere an. Während des Versuchs und vorher herrschte normale Laborbeleuchtung.

Die statistische Sicherung der Unterschiede (P-Werte) erfolgte nach der graphischen Methode von PÄTAU (1943). In den Tabellen sind stets die mittleren Fehler der Mittelwerte angegeben.

## ERGEBNISSE

### Gewichtsänderungen und Wasserhaushalt

In der 24stündigen Versuchszeit traten zum Teil erhebliche Gewichtsverluste auf. Die Differenz zwischen dem Anfangs- und dem Endgewicht war bei den warmadaptierten Fröschen deutlich kleiner als bei den kaltadaptierten, obwohl die 7<sup>0</sup>-Tiere vor dem Wiegen zusätzlich zum Entleeren der Harnblase veranlaßt wurden. Durch Umadaptationen kamen weitere Veränderungen hinzu. So hatte ein Frosch, der 7 Tage an 23<sup>0</sup>-Kurztag (23 K) angepaßt worden war (Tab. 1b), vor dem Versuch ein Anfangsgewicht von 38,4 g. Nach 24 Stunden Aufenthalt im Respirationgefäß bei 23<sup>0</sup> C wog er noch 35,4 g (Endgewicht). Danach wurde er nach 7<sup>0</sup>-Kurztag (7 K) umadaptiert und gelangte nach 19 Tagen erneut zur Untersuchung. Nach dem Entleeren der Harnblase wog er 39,8 g (Anfangsgewicht) und war damit schwerer als zu Beginn des ersten Versuchs. Das Endgewicht nach dem zweiten Versuch bei 23<sup>0</sup> C betrug 33,0 g.

Da bei den frisch gefangenen Frühjahrs- und Sommertieren (Beispiel c, d) die Gewichtsänderungen in der gleichen Weise wie bei länger gehaltenen Fröschen auftraten, konnten Haltungsmängel ausgeschlossen werden. Die Gewichtszunahme nach der Überführung in die Kälte beruhte auch nicht auf einer Futteraufnahme, da die Tiere keine

Tabelle 1

Gewichtsänderungen von 4 Grasfröschen während des Versuchs (Anfangs- und Endgewicht) vor und nach der Umadaptation. Die Lichtbedingungen während des Versuchs entsprachen denen der Aufbewahrungsbedingungen. Bei den Frischfängen (c, d) ist unter Adaptationsbedingungen die Temperatur des Fanggewässers und die Jahreszeit angegeben

Nr.	Versuchsbeginn	Adaptationsbedingungen	Adaptationsdauer (Tage)	Anfangsgewicht	Endgewicht
a	16. März	23 L	10	42,7 g	42,3 g
	17. April	7 L	30	42,8 g	37,0 g
b	9. Oktober	23 K	7	38,4 g	35,4 g
	29. Oktober	7 K	19	39,8 g	33,0 g
c	25. April	15 <sup>0</sup> Frühjahr	—	27,7 g	27,5 g
	28. Mai	7 L	31	28,4 g	25,9 g
d	26. Juli	20 <sup>0</sup> Sommer	—	22,7 g	21,6 g
	24. August	7 L	30	22,7 g	19,7 g

Nahrung erhielten; außerdem verdauen sie in der Kälte nicht (STANGENBERG 1955, REEDER 1964). Die Gewichtsverluste während des Versuchs (Tab. 2) betragen bei den 7<sup>0</sup>-Fröschen bis zu 17,9 % des Anfangsgewichtes, dagegen lagen sie bei den 23<sup>0</sup>-Tieren zwischen 2 und 7 %. So verloren Grasfrösche der Gruppe 23 D/D (an 23<sup>0</sup>-C-Dunkelheit adaptiert und bei 23<sup>0</sup>-C-Dunkelheit untersucht) im Versuch durchschnittlich 6,2 % an Gewicht. Das Endgewicht der Tiere der Gruppe 7 D/D (an 7<sup>0</sup>-C-Dunkelheit angepaßt und bei 23<sup>0</sup>-C-Dunkelheit untersucht) verminderte sich dagegen um  $12,6 \pm 1,3$  % gegenüber dem Anfangsgewicht.

Tabelle 2

Durchschnittlicher Gewichtsverlust der Grasfrösche in Prozent des Anfangsgewichtes nach 24stündiger Versuchsdauer bei 23<sup>0</sup> C und variierten Lichtverhältnissen. In Klammern: Anzahl der Messungen.  $P < 0,0002$  für alle Unterschiede zwischen den Reihen mit entsprechenden Lichtbedingungen

Adaptationsbedingungen	Lichtbedingungen während des Versuchs		
	Dunkelheit	Kurztag	Langtag
23 D	$6,2 \pm 1,0$ (17)	$5,7 \pm 0,9$ (21)	$4,5 \pm 0,9$ (19)
23 K	$6,4 \pm 0,9$ (18)	$2,1 \pm 0,2$ (22)	$3,6 \pm 0,5$ (24)
23 L	$7,6 \pm 0,9$ (14)	$3,0 \pm 0,6$ (17)	$7,1 \pm 1,4$ (16)
23 Lp	—	—	$7,0 \pm 0,6$ (11)
7 D	$12,6 \pm 1,3$ (21)	$16,5 \pm 1,2$ (21)	$15,8 \pm 1,4$ (18)
7 K	$15,7 \pm 1,1$ (22)	$12,0 \pm 0,4$ (19)	$14,0 \pm 1,0$ (25)
7 L	$17,9 \pm 0,8$ (11)	$11,6 \pm 1,5$ (15)	$16,7 \pm 1,1$ (22)
7 Lp	—	—	$14,0 \pm 0,8$ (23)

Unter Langtagsbedingungen im Versuch (L) verloren die Frösche der gleichen Adaptationsgruppen (23 D und 7 D) 4,5 % beziehungsweise 15,8 % des Anfangsgewichtes. Die Unterschiede sind wie die der übrigen entsprechenden Serien, bei denen die Lichtbedingungen übereinstimmen, sehr gut gesichert ( $P < 0,0002$ ). Betrachtet man

den prozentualen Unterschied der Prozentwerte für die Gewichtsverluste, so ergibt sich für die Serie 7 D/D bis 23 D/D eine Änderung von 51 % (7 D/D = 100 %) und für die Serie 7 D/L bis 23 D/L eine solche von 71,5 %.

Einen Gewichtsverlust von 8 % innerhalb von 4 Stunden fand auch GRAINGER (1964) beim Umsetzen der Grasfrösche von einer kalten in eine warme Umgebung. Nach THORSON (1955, zitiert in DEYRUP 1964) verloren Frösche (*R. pipiens*) dabei innerhalb von 2 bis 4 Stunden etwa 13 % des Gewichtes als Wasser. In der Wärme ist die Wasserabgabe verstärkt (BRAUN 1951, PIGEON et al. 1963, DEYRUP 1964, GRAINGER 1964). Beim Umsetzen der Frösche von 23° nach 7° C wird die Wasseraufnahme erhöht. Nach 12 bis 26 Stunden ist ein neues Gleichgewicht erreicht und das Ausgangsgewicht wiederhergestellt (JØRGENSEN 1950, BRAUN 1951, vgl. auch DEYRUP 1964). Das Ausmaß der Gewichts differenzen scheint von den Lichtverhältnissen mitbestimmt zu werden (GRAINGER 1964). Aus Belichtungsänderungen im Versuch gegenüber den Anpassungsbedingungen resultieren bei meinen Messungen die größten prozentualen Unterschiede zwischen den Gewichtsverlusten der kalt- und warmadaptierten Frösche (7 D/L–23 D/L = 71,5 %; 7 L/K–23 L/K = 74,0 %; vgl. Tab. 2). Die geringsten Abweichungen weisen die dunkel gehaltenen und dunkel untersuchten Reihen (D/D) mit 51 % und die Meßreihen der pinealektomierten Frösche (Lp/L) mit 50 % auf. Direkte Beziehungen zwischen dem Sauerstoffverbrauch und den Gewichtsverlusten im Versuch lassen sich nicht herstellen (vgl. JANKOWSKY 1960).

### Einfluß von Temperatur und Lichtbedingungen auf den Sauerstoffverbrauch

Wie erwähnt, wird der Sauerstoffverbrauch stets in  $\text{mm}^3/\text{g}^{0,67} \cdot \text{h}$  angegeben, wobei das Endgewicht nach dem Versuch der Berechnung zugrunde gelegt wurde (vgl. p. 163).

#### *Frischfänge*

Frisch gefangene Tiere aus der Umgebung Kiels gelangten wenige Stunden nach dem Fang in den Versuch. Mitte April gefangene Grasfrösche wurden sowohl unter Langtags- als auch unter Kurztagsbedingungen getestet, da die natürliche Photoperiode zur Fangzeit zwischen den im Versuch verwendeten Tageslängen lag. Die Fänge Ende Juli untersuchte ich nur bei Langtagsbedingungen, die von Mitte August nur bei Kurztagsbedingungen. Als Anpassungstemperatur wurde dabei die Temperatur des Fanggewässers angenommen.

Die Versuche sind nur mit einem geringen Tiermaterial durchgeführt worden, weil der Sättigungsgrad der Frösche und andere Faktoren nicht zu beurteilen waren. Eine Konstanz der Temperatur und der Lichtverhältnisse während der vorangegangenen Zeit bestand für diese Tiere selbstverständlich nicht. Gewisse Tendenzen lassen sich trotz der erwartungsgemäß hohen P-Werte erkennen. Die niedrigen Meßwerte Ende April können auf einer Erschöpfung durch die Laichzeit beruhen. Im Fanggebiet fand ich zu dieser Zeit viele Froschkadaver. Die gefangenen Exemplare waren recht schwach

Tabelle 3

O<sub>2</sub>-Verbrauch frisch gefangener Grasfrösche unter verschiedenen Versuchsbedingungen in mm<sup>3</sup>/OE·h. Adaptationsbedingungen: Wassertemperatur des Fanggewässers und Fangzeit. In Klammern: Anzahl der Messungen. P < 0,05 (schwach gesicherter Unterschied): aT-dT; bT-eT; P = 0,07: aT-bT; dT-eT

Nr.	Versuchsbedingungen	Adaptationsbedingungen	Nachtwerte (N)	Tagwerte (T)
a	23 L	15° C (Mitte April)	456 ± 40 (3)	526 ± 12 (3)
b	23 K	15° C (Mitte April)	513 ± 19 (2)	496 ± 6 (2)
c	23 L	15° C (Ende April)	265 ± 24 (3)	261 ± 19 (3)
d	23 L	20° C (Ende Juli)	429 ± 26 (4)	432 ± 14 (4)
e	23 K	22° C (Mitte August)	446 ± 20 (5)	370 ± 29 (5)

und mager, so daß vier Tiere die Versuchszeit nicht durchstanden. Sie konnten deshalb nicht gewertet werden. Die auch aus der Tabelle 3 hervorgehenden jahreszeitlichen Änderungen des Sauerstoffverbrauchs von Amphibien sind, wie einleitend erwähnt, mehrfach untersucht worden. Bei der Betrachtung der Tag- und Nachtwerte fallen daneben unterschiedliche Tendenzen bei den verschiedenen Lichtverhältnissen im Versuch auf; dies gilt unabhängig von der Fangzeit. Während die Tagwerte (T) für die Frösche unter Langtagsbedingungen über die Nachtwerte steigen (Tab. 3a, d), sinken sie unter Kurztagsbedingungen unter diese (Tab. 3b, e). Da sich die Versuchsbedingungen nur in bezug auf die Lichtverhältnisse unterscheiden (die Adaptationsbedingungen, d. h. Temperatur und Licht zur Fangzeit, waren nahezu identisch), kommt diesen eine Bedeutung zu.

#### *Untersuchungen nach konstanter Vorbehandlung der Tiere*

Die zu den folgenden Versuchen verwendeten hungernden Tiere ließen einen geringeren Sauerstoffverbrauch erwarten, als die Frischfänge ihn gezeigt hatten. Die Untersuchungen wurden ausschließlich in den Monaten Oktober bis März durchgeführt.

Tabelle 4

O<sub>2</sub>-Verbrauch der Grasfrösche (in mm<sup>3</sup>/OE · h) bei 23° C-Langtag nach unterschiedlicher Vorbehandlung (vgl. Text). In Klammern: Anzahl der Messungen. P < 0,0002: aN-dN; aT-dT; aN-cN; aT-cT; bT-cT; eT-fT. P < 0,0027: eN-eT; bN-cN; bN-cN; cN-fN; dN-fN; eN-fN. dT-fT = 0,02; fN-fT = 0,09

Nr.	Adaptationsbedingungen	Nachtwerte (N)	Tagwerte (T)
a	23 D	219 ± 22 (19)	219 ± 12 (18)
b	23 K	286 ± 12 (24)	284 ± 10 (24)
c	23 L	355 ± 15 (15)	380 ± 16 (12)
d	7 D	356 ± 18 (18)	325 ± 17 (18)
e	7 K	357 ± 13 (25)	297 ± 11 (24)
f	7 L	434 ± 16 (22)	389 ± 20 (17)

Tabelle 5

O<sub>2</sub>-Verbrauch der Grasfrösche (in mm<sup>3</sup>/OE · h) bei 23° C-Kurztag nach unterschiedlicher Vorbehandlung. P < 0,0002: eN-eT; aN-bN; cN-bN; P < 0,0027: aN-dN; cT-bT; dN-eN; P < 0,01: cN-fN; aT-bT

Nr.	Adaptationsbedingungen	Nachtwerte (N)	Tagwerte (T)
a	23 D	279 ± 12 (21)	303 ± 13 (19)
b	23 K	417 ± 16 (22)	371 ± 20 (18)
c	23 L	310 ± 16 (17)	288 ± 16 (14)
d	7 D	359 ± 20 (21)	367 ± 26 (19)
e	7 K	423 ± 16 (19)	324 ± 14 (14)
f	7 L	388 ± 23 (15)	336 ± 22 (13)

Tabelle 6

O<sub>2</sub>-Verbrauch der Grasfrösche (in mm<sup>3</sup>/OE · h) bei 23° C-Dauerdunkelheit nach unterschiedlicher Vorbehandlung. P < 0,0002: aN-dN; aT-dT; P < 0,0027: eN-eT; dT-eT; dN-fN; P < 0,01: bN-eN; P < 0,05: cT-fT

Nr.	Adaptationsbedingungen	Nachtwerte (N)	Tagwerte („T“)
a	23 D	257 ± 16 (17)	258 ± 15 (16)
b	23 K	289 ± 17 (18)	275 ± 16 (18)
c	23 L	289 ± 12 (14)	274 ± 14 (13)
d	7 D	386 ± 17 (21)	353 ± 15 (19)
e	7 K	352 ± 15 (22)	290 ± 10 (22)
f	7 L	295 ± 20 (11)	330 ± 27 (10)

Die getesteten Herbsttiere waren mindestens zwei Wochen im dunklen Kühlschrank aufbewahrt worden, bevor sie in die Anpassungsräume überführt wurden (vgl. pp. 160). Alle Befunde sind in den Tabellen 4, 5 und 6 zusammengefaßt worden, bei denen unter Langtags-, Kurztagsbedingungen oder bei Dunkelheit gemessen wurde. Für die Versuche in der Dunkelheit stellt nicht nur der erste Punkt (N), sondern auch der zweite einen Dunkelwert dar; er wird hier dennoch als Tagwert („T“) bezeichnet. Im allgemeinen ist der Sauerstoffverbrauch am höchsten, wenn die Lichtverhältnisse sich in der Anpassung und im Versuch entsprechen.

#### *Der Sauerstoffverbrauch pinealektomierter Tiere*

Aus den eingangs erwähnten Gründen habe ich untersucht, ob das Pinealorgan der Anuren ein stoffwechselwirksamer Photorezeptor ist. Ich zerstörte bei Fröschen der Gruppen 23 D und 7 D die Stirnblase des Pinealorgans und hielt sie anschließend bei Langtagsbedingungen. Die Mittelwerte der Nacht- und Tagphase dieser Messungen (Lp) wurden in der Tabelle 7 den Meßwerten normaler L-Tiere (vgl. Tab. 4) gegenübergestellt.

Die Höhe des Sauerstoffverbrauchs der 23 Lp-Tiere unterschied sich nur unwesentlich von der der normalen 23 L-Frösche. Doch auch die Gruppe 7 Lp hatte fast den gleichen Sauerstoffumsatz wie die 23 L-Tiere. Die Werte der 7 Lp-Frösche lagen

Tabelle 7

O<sub>2</sub>-Verbrauch normaler und pinealektomierter Langtagsfrösche (in mm<sup>3</sup>/OE · h) bei 23° C-Langtag. P < 0,0027: cN-fN; hN-fN; gT-cT = 0,07; P < 0,01: hT-fT

Nr.	Adaptationsbedingungen	Nachtwerte (N)	Tagwerte (T)
g	23 Lp	327 ± 25 (11)	333 ± 20 (10)
c	23 L	355 ± 15 (15)	380 ± 16 (12)
h	7 Lp	349 ± 15 (23)	329 ± 12 (22)
f	7 L	434 ± 16 (22)	389 ± 20 (17)

damit signifikant unter den entsprechenden der 7 L-Tiere. Die für die Nachtwerte der normalen Langtagsfrösche vorhandene Leistungsadaptation im Sinne einer Kompensation ist bei den pinealektomierten Tieren aufgehoben. Ein Einfluß des Organs auf den Stoffwechsel ist somit vorhanden.

#### Vergleich der Meßreihen

Zum Vergleich aller Meßreihen geht man am besten von einer Bezugsgröße aus; als solche erschien der Sauerstoffverbrauch der Gruppe 23 D/D (dunkel gehalten/dunkel untersucht) geeignet, da er in der 24stündigen Versuchszeit fast konstant blieb (vgl. Tab. 6a und Abb. 4c). Das Licht wirkte auf diese Frösche nur in den 20 Minuten vom Verlassen des Adaptationsraumes bis zum Versuchsbeginn ein, was in diesem Zusammenhang vernachlässigt werden konnte.

Der Sauerstoffverbrauch der Meßreihen während der Nacht- und der Tagphase (N und T bzw. „T“), ausgedrückt in Prozent des Sauerstoffumsatzes der 23 D/D-Tiere, läßt neben der Wirkung der Adaptationstemperatur den Einfluß der Lichtbedingungen in der Anpassungszeit und im Versuch sichtbar werden. Die Dunkeltiere (Abb. 5a) zeigen für die Bedingungen D/D, wie schon JANKOWSKY (1960) fand, eine deutliche Leistungsadaptation im Sinne einer Kompensation, die auch erhalten bleibt, wenn die Versuchsbedingungen nicht mehr den Adaptationsbedingungen entsprechen. Dies ändert bei den kaltadaptierten Tieren die Nachtwerte geringfügig, die Tagwerte steigen unter Kurztagsbedingungen an und sinken unter Langtagsbedingungen weiter ab. Die 23<sup>0</sup>-Frösche weisen allgemein einen besonders niedrigen Sauerstoffverbrauch auf, wie er für eine Leistungsadaptation typisch ist.

Die Kurztagsfrösche (Abb. 5b) zeigen unter gleichen Lichtbedingungen im Versuch und in der Anpassung (K/K) für die Nachtwerte keine und für die Tagwerte eine inverse Adaptation. In den Untersuchungen, bei denen die Lichtbedingungen im Versuch und in der Vorbereitung nicht übereinstimmen, zeigen besonders die Nachtwerte und weniger die Tageswerte eine Leistungsadaptation im Sinne einer Kompensation.

Bei den unnatürlichen Versuchsbedingungen (23<sup>o</sup>-Kurztag) sind die Werte der K/K-Tiere die höchsten dieser Serie.

Auch die Langtagsfrösche haben unter gleichen Lichtbedingungen im Versuch wie in der Anpassung (L/L) den höchsten Sauerstoffverbrauch. Sie zeigen für die Nachtwerte eine deutliche Kompensation, nicht jedoch für die Tagwerte. Dieser Versuchsserie

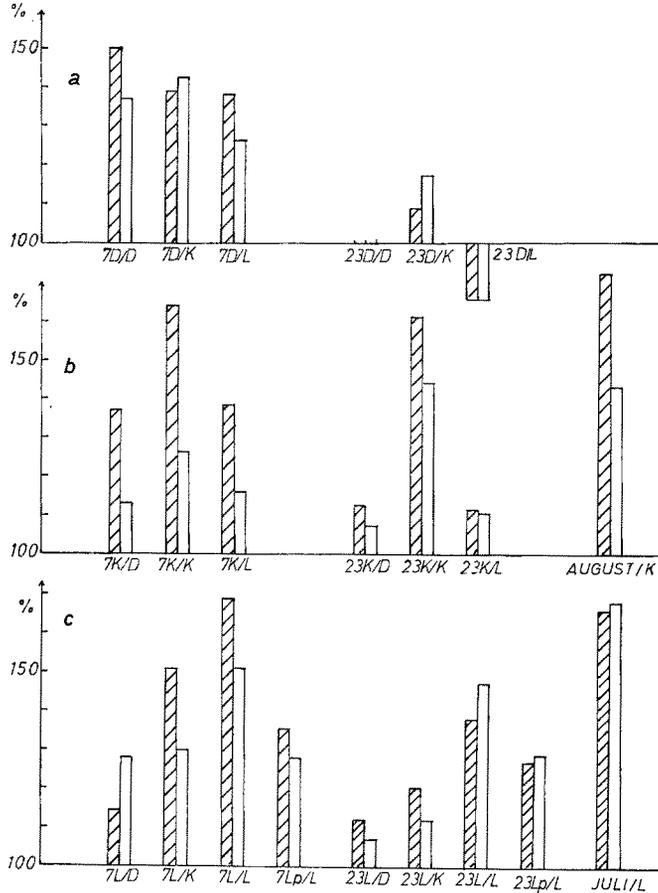


Abb. 5: O<sub>2</sub>-Verbrauch, bezogen auf dunkel adaptierte/dunkel untersuchte 23<sup>o</sup>-Tiere (23 D/D = 100 %). Versuchstemperatur: 23<sup>o</sup> C; Nachtwerte schraffiert; Tagwerte weiß; (a) dunkel gehaltene Tiere; (b) Kurztagtiere; (c) Langtagtiere

kommt dadurch ein besonderes Gewicht zu, daß Langtag während der Adaptation und des Versuchs am besten zur hohen Versuchstemperatur von 23<sup>o</sup> C paßt. Eine Erklärung dafür, daß sich zwar bei den Nachtwerten die Leistungsadaptation stets zeigt, daß aber in der sich anschließenden Lichtphase bei den 7-L/L-Tieren ein rascher Ausgleich zum Typ 4 erfolgt, kann nicht gegeben werden. Interessant wäre die Messung des Sauerstoffverbrauchs über einen noch größeren Zeitraum. Bei den L/K-Tieren zeigt sich die Kompensation bei den Nacht- und Tagwerten, bei den L/D-Tieren nur bei den Tagwerten. Die Nachtwerte sind sehr niedrig.

Die Pinealektomie senkt bei den Langtagsfröschen (Abb. 5c) den Sauerstoffverbrauch und auch das Ausmaß der Adaptation bei den Nachtwerten. Für die Gruppe 7 Lp liegen die Nachtwerte 38 %, die Tagwerte 23 % unter denen der normalen 7-L-Tiere; bei den 23<sup>o</sup>-Fröschen beträgt dieser Abfall der Werte 7 % für die Nacht- und 18 % für die Tagphase. In ihrer Wirkung auf den Sauerstoffverbrauch des Ganztieres ähneln die Ergebnisse der Pinealektomie (Tab. 7 und Abb. 5c) denen der Hypophysenektomie (JANKOWSKY 1960). Sie lassen Beziehungen zwischen dem Pinealorgan und der Hypophyse auch für Frösche möglich erscheinen (vgl. WURTMAN & AXELROD 1965). Die fahle Hautfärbung der pinealektomierten Grasfrösche weist auch auf die Störung der Farbwechselreaktion hin (vgl. BAGNARA 1960, BOGENSCHÜTZ 1965).

Eine Deutung der Folgen der Pinealektomie ist schwierig. Aus Abb. 5c möchte man zunächst schließen, daß von dem Stirnorgan direkt oder indirekt stoffwechselaktive Einflüsse ausgehen. Die Werte der Lp/L-Tiere sind niedriger als die der L/L-Frösche; eine Kompensation fehlt weitgehend auch bei den Nachtwerten. Besonders gesenkt sind die hohen Werte der L/L-Tiere, was zu einer Angleichung der Unterschiede durch die Adaptationstemperatur führt; aber auch der Mechanismus der Leistungsadaptation könnte beeinträchtigt worden sein. Man sollte dann jedoch meinen, daß auch in den Dunkeltieren die lichtabhängige Funktion des Stirnorgans beeinflusst wird. Bei den 7-D/D-Tieren werden aber recht hohe Werte erreicht, und die Leistungsadaptation im Sinne einer Kompensation ist gerade bei den Dunkeltieren ausgeprägt. Es ist ferner zu berücksichtigen, daß die 23-Lp/L-Werte höher liegen als die 23-D/L-Werte.

### Wirkung der Temperatur und der Lichtbedingungen auf den Tagesrhythmus des Sauerstoffverbrauchs

Die aus den 22 Meßpunkten jeder Gruppe entstandenen Mittelwertkurven des Sauerstoffverbrauchs über 24 Stunden werden im folgenden kurz als Tageskurven bezeichnet. Sie zeigen gewisse Regelmäßigkeiten ähnlich der Tageskurve für *Triturus viridescens*, die jedoch nicht als solche betont werden (BROWN et al. 1955, Fig. 4 A 1). Die Tageskurven haben bei den Versuchsreihen mit vorgegebener Photoperiode drei Gipfel. Der zweite und dritte Anstieg des Sauerstoffverbrauchs hängen deutlich mit dem Lichtwechsel während des Versuches zusammen. Sie fehlen bei den dunkel untersuchten Gruppen (Abb. 4) fast vollständig. Den ersten Höhepunkt verursacht dagegen die Unruhe der Frösche nach dem Einsetzen in die Apparatur. Bei den 7<sup>o</sup>-Tieren ist durch die plötzliche Temperaturänderung auch mit overshoot-Phänomenen zu rechnen (vgl. GRAINGER 1960, HÜLSTEN & ZERBST 1965).

In den Abbildungen 2, 3, 4 wurden die mittleren Fehler der Mittelwerte und die Standardabweichungen nicht eingezeichnet. Der mittlere Fehler liegt bei allen Meßpunkten zwischen  $\pm 15$  und  $\pm 35$ . (Die Einzelangaben sind in der ausführlichen Dissertation enthalten.)

Bei den Versuchen, bei denen die Temperatur und die Lichtbedingungen während der Untersuchung und in der Vorbehandlung übereinstimmen (Abb. 2a, 3b: ausgezogene Linien), erkennt man deutlich den plötzlichen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs nach dem Ausschalten des Lichtes und eine leichte Senkung zu Beginn der zweiten

Hellphase. Im Laufe der Dunkelphase nimmt die Atmungsintensität ab, während sie in der zweiten Hellphase besonders bei den Langtagstieren (Abb. 2a) wieder steigt. Diese an sich unbiologischen plötzlichen Lichtwechsel im Versuch haben auch auf vorher dunkel gehaltene Frösche diese Wirkung (Abb. 2c, 3c).

Wird die Photoperiode während des Versuchs gegenüber der Vorbehandlung geändert, steigen die Meßwerte wiederum zu Beginn der Dunkelphase und sinken zu Beginn der anschließenden Hellphase. Entsprechend ihrer Vorbehandlung „erwarten“ die Tiere jedoch zu den durch Pfeile markierten Zeitpunkten (Abb. 2b, 3a) den Lichtwechsel. Besonders die Tageskurven der 23<sup>0</sup>-Tiere (ausgezogene Linien) zeigen dort einen Anstieg bzw. eine Senkung des Sauerstoffverbrauchs. Bei der Gruppe 23 L/K (Abb. 3a) hält der anfängliche Anstieg bis zum ersten Pfeil an. Die Gruppe D/L (Abb. 2c) reagiert auf den zweiten Lichtwechsel stärker als die Gruppen L/L und K/L (Abb. 2a, b). Aus diesen Kurven geht die Angleichung der Werte der kalt- und warmadaptierten Tiere während der zweiten Hellphase hervor, doch findet sie nicht, wie zu erwarten, langsam im Laufe dieser Hellphase statt, sondern plötzlich an ihrem Beginn, wobei allerdings die unnatürlich schnellen Lichtwechsel eine Rolle spielen können.

Bei den Dunkelversuchen (Abb. 4) zeigen sich wieder mehr oder weniger deutliche Änderungen der Atmungsintensität bei den erwarteten Änderungen der Lichtbedingungen. Die erwarteten Lichtwechsel sind interessant für das oft diskutierte Problem der Temperaturunabhängigkeit des circadianen Rhythmus. Plötzliche Temperaturänderungen wie im Versuch brauchen jedoch nicht ohne Wirkung zu sein (HOFFMANN 1957, PRECHT 1964, REMMERT 1965). Die Temperaturerhöhung von 7 auf 23<sup>0</sup> C während des Versuchs führt zunächst zu einer Beschleunigung des Tagesrhythmus; das bewirkt eine Vorverlegung der erwähnten Maxima bei den punktierten Kurven (7<sup>0</sup>-Tiere), die in Abbildung 4a besonders deutlich wird. Eine temperaturabhängige „innere Uhr“ würde aber unbrauchbar sein; so muß eine nahezu ideale rasche Kompensation dafür sorgen, daß wieder Temperaturunabhängigkeit erreicht wird. Auch unveröffentlichte Versuche von JANKOWSKY an *Orchestia* sprechen für eine solche Deutung. PRECHT (1964, p. 92 ff.) betont jedoch, daß nicht alle Probleme der Temperaturunabhängigkeit des Tagesrhythmus einer so einfachen Erklärung genügen.

Unter allen Versuchsbedingungen haben die dunkel gehaltenen Frösche (Abb. 2c, 3c, 4c) den gleichmäßigsten Sauerstoffverbrauch. Der Unterschied zwischen dem der warm- und dem der kaltadaptierten Tiere ist mit Ausnahme der ersten Hellphase unter Kurztagsbedingungen über die 24stündige Versuchszeit immer deutlich (vgl. Tab. 4, 5, 6). Besonders unter Langtagsbedingungen gleichen sich dagegen die Kurven in der zweiten Hellphase an (Abb. 2a, b). Die Ähnlichkeit der Kurven bei den pinelektomierten Tieren und die geringe Reaktion auf die Lichtänderungen lassen erkennen, daß das Stirnorgan nicht nur für die Farbwechselreaktionen (vgl. BAGNARA 1960, BOGENSCHÜTZ 1965), sondern auch für den Gesamtstoffwechsel eine Bedeutung hat.

### Einfluß des Luftdrucks auf die Ganztieratmung

Durch die Verwendung eines Elektrolyse-Manometers war das System zur Messung des Sauerstoffverbrauchs selbstverständlich den Luftdruckschwankungen unter-

worfen. Der Vergleich der Tageskurven mit den Barogrammen der Wetterwarte Kiel läßt jedoch für diese Untersuchungen keine Beziehungen zwischen den beiden Aufzeichnungen erkennen. Wohl reagierte das System auf plötzliche Druckschwankungen, der Ausgleich war aber nach spätestens 15 Minuten vollzogen und das vorherige Niveau wieder erreicht. Die von HERTER (1941) angedeutete Druckabhängigkeit des Stoffwechsels muß deshalb für meine Versuche verneint werden (vgl. BROWN et al. 1955).

### Auswirkungen der Photoperiode auf die Gewebeatmung

Nach den Ergebnissen der Ganztieratmung liegt es nahe, nach etwaigen Einflüssen des Lichtes auf die Gewebeatmung zu suchen. Einige Autoren hatten bei dunkel gehaltenen Fröschen keine Adaptation des Muskelgewebes gefunden (vgl. p. 158), dagegen konnte RIECK (1960) eine deutliche Adaptation der Atmung beim Muskel- und Magen-gewebe von *Rana pipiens* feststellen. Die Untersuchungen des Muskelgewebes wurden deshalb mit Langtag- und Kurztag-adaptierten Grasfröschen in den Monaten Januar bis März wiederholt.

Der Sauerstoffverbrauch der Gewebehomogenisate in  $\text{mm}^3/\text{g}$  Frischgewicht  $\cdot$  h zeigt deutliche Unterschiede zwischen den warm- und kaltadaptierten Fröschen. Weniger deutlich sind dagegen die Differenzen zwischen den Tieren mit unterschiedlichen Lichtbedingungen in der Anpassung.

Tabelle 8

$\text{O}_2$ -Verbrauch von Muskelgewebemogenisat von Grasfröschen in  $\text{mm}^3/\text{g}$  Frischgewicht  $\cdot$  h für unterschiedliche Adaptationsbedingungen bei 25° C Versuchstemperatur im WARBURG-Apparat; in Klammern: Einzelmessungen/Anzahl der verwendeten Tiere

Adaptationsbedingungen	$\text{mm}^3/\text{g} \cdot \text{h}$	Steigerung	P-Werte
23 L 7 L	$348 \pm 13$ (27/8) $457 \pm 25$ (27/15)	31,5 %	< 0,0005
23 K 7 K	$280 \pm 6,0$ (20/4) $508 \pm 23$ (14/7)	82,0 %	< 0,0002

Nach JANKOWSKY & KORN (1965) ist bei im Langtag gehaltenen Fischen sogar die Zahl der Mitochondrien pro Zelle von der Adaptationstemperatur abhängig. Da RIECK (1960) und ich bei Licht angepaßte Tiere untersuchten, scheint die Aufbewahrung bei Dunkelheit für die negativen Befunde von STANGENBERG (1955), JANKOWSKY (1960) und PRECHT (1960) verantwortlich zu sein.

### ZUSAMMENFASSUNG

1. Der Sauerstoffverbrauch adulter Grasfroschmännchen (*Rana temporaria* L.) wurde nach Anpassung an 7° und 23° C bei Langtag, Kurztag und Dunkelheit bei 23° C

- unter verschiedenen Beleuchtungsbedingungen untersucht (automatische Registrierung während 24 Stunden).
2. Bei den vorher dunkel aufbewahrten Tieren zeigte sich eine Leistungsadaptation im Sinne einer Kompensation, bei den Langtagsfröschen fand sich ohne Veränderung der Lichtperiode eine entsprechende Adaptation nur bei den Nachtwerten.
  3. Für die Kurztagstiere ist die Versuchstemperatur von 23° C unnatürlich hoch. Damit mag die schwere Deutbarkeit der Kurven zusammenhängen. Nach den Befunden ist es wichtig, nicht nur die Lichtbedingungen der Vorbehandlung, sondern auch die während des Versuches konstant zu halten.
  4. Die Versuche geben Hinweise dafür, daß die bekannte Temperaturunabhängigkeit des circadianen Rhythmus durch eine rasche, nahezu ideale Kompensation zustande kommt.
  5. Die Exstirpation des Pinealorgans senkt die Werte für den Sauerstoffverbrauch und bringt die Leistungsadaptation zum Verschwinden.
  6. Der Sauerstoffverbrauch der Muskelhomogenisate von Tieren, die tags beleuchtet wurden, zeigt eine Leistungsadaptation im Sinne einer Kompensation.

Es wurden Apparate benutzt, welche die Deutsche Forschungsgemeinschaft Herrn Prof. Dr. PRECHT zur Verfügung stellte.

#### ZITIERTE LITERATUR

- ALLISON, R. M., 1956. Failure of enforced hibernation to inhibit breeding in the frog (*Rana temporaria*). *Nature Lond.* **177**, 342.
- ASCHOFF, J. & WEVER, R., 1962. Über Phasenbeziehungen zwischen biologischer Tagesperiodik und Zeitgeberperiodik. *Z. vergl. Physiol.* **46**, 115–127.
- BAGNARA, I. T., 1960. Pineal regulation of the body lightning reaction in amphibian larvae. *Science, N. Y.* **132**, 1481–1483.
- BAUMANN, C., 1962. Lichtabhängige langsame Potentiale aus dem Stirnorgan des Frosches. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **276**, 56–65.
- BOGENSCHÜTZ, H., 1965. Untersuchungen über den lichtbedingten Farbwechsel der Kaulquappen. *Z. vergl. Physiol.* **50**, 598–614.
- BRAUN, R., 1951. Beiträge zur Kenntnis vom Wasserhaushalt des Frosches. *Z. vergl. Physiol.* **33**, 266–300.
- BREHM, H. VON, 1964. Experimentelle Studie zur Frage der jahreszyklischen Veränderungen. Morphologische Untersuchungen an Epithelkörperchen (glandulae parathyreoideae) an Anuren. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **61**, 725–741.
- BROWN, F. A., Jr., WEBB, H. M., BENNETT, M. F. & SANDEEN, M. I., 1955. Evidence for an exogenous contribution to persistent diurnal and lunar rhythmicity under so-called constant conditions. *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole* **109**, 238–254.
- BROWN, G. W., Jr., 1964. The metabolism of amphibia. *In: Physiology of the amphibia*. Ed. by J. A. Moore, Acad. pr., New York, 1–98.
- BUDDENBROCK, W. VON, 1950. Vergleichende Physiologie. Bd 4: Hormone. Birkhäuser, Basel, 492 pp.
- 1961. Vergleichende Physiologie. Bd 5: Erfolgsorgane. Birkhäuser, Basel, 390 pp.
- BUSH, M. F., 1963. Effects of light and temperature on the gross composition of the toad *Bufo fowleri*. *J. exp. Zool.* **153**, 1–14.
- CAPUTA, A., 1964. Jahreszeitliche Einflüsse auf die Radiojodspeicherung der Schilddrüse des Frosches (*R. rudibunda* PALL.). *Biología, Bratisl.* **19**, 440–445.

- COMBESCOT, C., DUNARET, J., REYNOUARD, F., BRAULT & GUYON, L., 1964. L'épiphyse de l'axolotl. *Archs Anat. microsc. Morph. exp.* **53**, 261–269.
- DAVISON, J., 1955. Body weight, cell surface, and metabolic rate in anuran amphibia. *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole* **109**, 407–419.
- DEYRUP, I. J., 1964. Water balance and kidney. *In: Physiology of the amphibia*. Ed. by J. A. Moore. Acad. pr., New York, 251–328.
- DIERICKX, K., ABEELE, H. VAN DER & RYSENACO, M., 1960. Phénomènes de l'activité cyclique dans le système hypothalamus-hypophysaire de *Rana temporaria* (L.). *Archs Anat. microsc. Morph. exp.* **49**, 73–88.
- DISCLOS, P., 1964. Epiphysectomie chez le têtard d'Alytes. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris* **258**, 3101–3103.
- DODT, E. & HEERD, E., 1962. Mode of action of pineal nerve fibres in frogs. *J. Neurophysiol.* **25**, 405–429.
- & JACOBSON, M., 1963. Photosensitivity of a localized region of the frog diencephalon. *J. Neurophysiol.* **26**, 752–758.
- DOLK, H. E. & POSTMA, N., 1927. Über die Haut- und Lungenatmung von *Rana temporaria* (L.). *Z. vergl. Physiol.* **5**, 435.
- EAKIN, R. M. & WESTFALL, J. A., 1961. The development of photo receptors in the stirnorgan of the tree frog *Hyla regilla*. *Embryologia* **6**, 84–98.
- QUAY, W. B. & WESTFALL, J. A., 1963. Cytological and cytochemical studies on the frontal and pineal organs of the tree frog, *Hyla regilla*. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **59**, 663–683.
- FROMM, P. O. & JOHNSON, R. E., 1955. The respiratory metabolism of frogs as related to season. *J. cell. comp. Physiol.* **45**, 343–360.
- GORBMAN, A., 1964. Endocrinology of the amphibia. *In: Physiology of the amphibia*. Ed. by J. A. Moore. Acad. pr., New York, 371–425.
- GRAINGER, J. N. R., 1960. The early stages in the adaptation of the frog *Rana temporaria* to higher temperatures. *Zool. Anz. (Suppl. Bd)* **24** (1961), 60–72.
- 1964. The effect of temperature on weight changes and water fluxes in the common frog *Rana temporaria* L. *Proc. R. Ir. Acad. Sect. B* **64**, 25–32.
- HERTER, K., 1941. Physiologie der Amphibien. *In: Handbuch der Zoologie*. Gegr. von W. Küenthal. De Gruyter, Berlin, Bd **6** (Hälfte 2) Anh., 1–252.
- HOFFMANN, K., 1957. Über den Einfluß der Temperatur auf die Tagesperiodizität bei einem Poikilothermen. *Naturwissenschaften* **44**, 358.
- HÜLSTEN, J. & ZERBST, E., 1964. Untersuchungen zur kurzzeitigen Temperaturanpassung der Froschherzfrequenz. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **279**, R 40.
- JANKOWSKY, H. D., 1960. Über die hormonale Beeinflussung der Temperaturadaptation beim Grasfrosch (*Rana temporaria* L.). *Z. vergl. Physiol.* **43**, 392–410.
- 1964. Die Bedeutung der Hormone für die Temperaturanpassung im normalen Temperaturbereich. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **9**, 412–419.
- & KORN, H., 1965. Der Einfluß der Adaptationstemperatur auf den Mitochondriengehalt des Fischmuskels. *Naturwissenschaften* **52**, 642–643.
- JØRGENSEN, C. B., 1950. Osmotic regulation in the frog (*R. esculenta* L.) at low temperatures. *Acta physiol. scand.* **20**, 46–55.
- KROGH, A., 1904. On the cutaneous and pulmonary respiration of the frog. *Skand. Arch. Physiol.* **15**, 328–419.
- LERNER, A. M., 1961. Hormones and skin colour. *Scient. Am.* **205** (1), 98–113. (Zit. nach WURTMAN & AXELROD 1965.)
- LOCKER, A., 1958. Die Gewebeatmung der Froschhaut unter verschiedenen experimentellen Bedingungen, im Vergleich zu anderen Kalt- und Warmblütergeweben. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **267**, 358–369.
- 1958. Die Gewebeatmung poikilothermer Wirbeltiere in Abhängigkeit von Körpergröße und Temperatur. *Z. vergl. Physiol.* **41**, 249–266.
- & DONEFF, D., 1958. Der Einfluß der Temperatur auf die Abhängigkeit der Gewebeatmung der Froschleber vom Glykogengehalt. *Z. vergl. Physiol.* **41**, 242–248.

- MOYAT, P., 1957. Über den Einfluß von Licht und Aktivität auf endogene Stoffwechselrhythmen bei Kleinsäugetern und Vögeln. *Z. vergl. Physiol.* **40**, 397–414.
- OKSCHE, A., 1962. Histologische, histochemische und experimentelle Studien am Subkommissuralorgan (SKO) von Anuren (mit Hinweisen auf den Epiphysenkomplex). *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **57**, 240–326.
- & HARNACK, M. VON, 1963. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Stirnorgan von Anuren (zur Frage der Lichtrezeptoren). *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **59**, 239–288; 582–614.
- OORDT, P. G. VAN, LOFTS, W. J. & LOFTS, B., 1963. The effects of high temperature on gonadotropin secretion in the male common frog (*R. temp.*). *J. Endocr.* **27**, 137–146.
- PIGEON, GILLES & EPSTEIN, F. H., 1963. Water uptake in the intact frog. *Am. J. Physiol.* **204**, 217–221.
- PÄTAU, K., 1943. Zur statistischen Beurteilung von Meßreihen. *Biol. Zbl.* **63**, 152.
- PRECHT, H., 1958. Concepts of the temperature adaptation of unchanging reaction systems of cold-blooded animals. In: *Physiological adaptation. A symposium held . . . at the Mar. Biol. Lab., Woods Hole, Sept. 5–6, 1957.* Ed. by C. L. Prosser. Am. Physiol. Soc., Washington, DC, 50–78.
- 1960a. Über den Umkehrpunkt von Atmungskurven bei hohen Temperaturen. 1. Versuche mit Muskelgewebe des Grasfrosches. *Z. wiss. Zool.* **164**, 354–363.
- 1960b. Temperaturanpassungen bei wechselwarmen Tieren. *Zool. Anz.* (Suppl. Bd) **24** (1961), 38–60.
- 1964. Anpassungen wechselwarmer Tiere im normalen Temperaturbereich und ihre Ursachen. *Naturwiss. Rdsch., Stuttg.* **17**, 438–442.
- 1964a. Gibt es biologische „Langzeituhren“ bei wechselwarmen Tieren? Einige Versuche zum Problem der Beendigung von Diapausen bei Insekten. *Zool. Anz.* **172**, 87–95.
- 1964b. Über das Problem der Kopplung verschiedener Anpassungen mit der Entwicklungshemmung bei diapausierenden Insekten. Versuche mit adulten Schmalwanzen (*Ischnodemus sabuleti* FALL.). *Zool. Anz.* **172**, 306–318.
- & CHRISTOPHERSEN, J., 1965. Temperaturadaptation des Cilienepithels isolierter Kiemen und Fühlerspitzen von Mollusken. *Z. wiss. Zool.* **171**, 197–209.
- PROSSER, C. L., PRECHT, H. & JANKOWSKY, H. D., 1965. Nervous control of metabolism during temperature acclimation of fish. *Naturwissenschaften* **52**, 168–169.
- QUAY, W. B., 1963. Cytologic and metabolic parameters of pineal-inhibition by continuous light in the rat (*Rattus norvegicus*). *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **60**, 479–490.
- 1965. Photic relations and experimental dissociation of the circadian rhythm in pineal composition and running activity in rats. *Photochem. Photobiol.* **4**, 425–432.
- REEDER, W. G., 1964. The digestive system. In: *Physiology of the amphibia.* Ed. by J. A. Moore. Acad. pr., New York, 99–149.
- REMMERT, H., 1965. Biologische Periodik. In: *Handbuch der Biologie.* Hrsg. von F. Gessner. Akad. Verl. Ges. Athenaion, Frankfurt a. M., **5**, 335–411.
- RIECH, F., 1925. Epiphyse und Paraphyse im Lebenscyclus der Anuren. *Z. vergl. Physiol.* **2**, 524–570.
- RIECK, A. F., 1960. Oxygen consumption of the whole animals and tissues in temperature acclimated amphibians. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **103**, 436–439.
- RODEWALD, W., 1935. Die Wirkung des Lichtes auf die Hypophyse von *Rana temporaria* L. *Z. vergl. Physiol.* **21**, 767–800.
- ROGGEN, D., 1962a. Diencephalic neurosecretion and diurnal rhythm. *Naturwissenschaften* **49**, 210–211.
- 1962b. A diurnal rhythm in the melanophores of *Rana temporaria*. *Naturwissenschaften* **49**, 478.
- SAYDER, S. H. & AXELROD, J., 1965. Circadian rhythm in pineal serotonin: Effect of monoamine oxidase inhibition and reserpine. *Science, N. Y.* **149** (3683), 542–544.
- STEGLITZ, G., 1951. Über hormonale und nervöse Regulation des Farbwechsels beim Frosch (*Rana temporaria* L.). *Z. vergl. Physiol.* **33**, 99–124.
- SKLOWER, A., 1925. Das incretorische System im Lebenscyclus der Frösche (*Rana temporaria* L.). *Z. vergl. Physiol.* **2**, 474–523.

- STANGENBERG, G., 1955. Der Temperatureinfluß auf Lebensprozesse und den Cytochrom-c-Gehalt beim Wasserfrosch. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **260** (1955), 320-332.
- TASHIAN, R. E. & RAY, C., 1957. The relation of oxygen consumption to temperature in some tropical, temperate, and boreal anuran amphibians. *Zoologica, N. Y.* **42**, 63-68.
- VERNBERG, F. J., 1952. The oxygen consumption of two species of salamanders at different seasons of the year. *Physiol. Zool.* **25**, 243-249.
- VINEGAR, A. & HUTCHISON, V. H., 1965. Pulmonary and cutaneous gasexchange in the green-frog *Rana clamitans*. *Zoologica, N. Y.* **50**, 47-53.
- VOITKEVIČ, A. A., ZUBKOVA, E. H. & GRIGORIEVA, I. I., 1960. The effect of the temperature on the neurosecretion taking place in the preoptic nucleus of the frog. *Dokl. Akad. Nauk SSSR (Biol. Sci. Sect.)* **130**, 940-943.
- WHITFORD, W. G. & HUTCHISON, V. H.: Effect of photoperiod on pulmonary and cutaneous respiration in the spotted salamander (*Ambystoma maculata*). *Copeia* **1965**, 53-58.
- WURTMAN, R. J. & AXELROD, J., 1965. The pineal gland. *Scient. Am.* **213** (1), 50-60.