



Fig. 2. Phases of the courtship display of a male American cockroach stimulated by a head of a male held between his antennae. (A) initial response, the male orients his abdomen toward the head and raises his wings slightly; (B and C) two forms of the complete display, (B) fluttering wings and arched abdomen, (C) extended abdomen and motionless outspread wings. The photographs were taken on a vertical surface.

attractant is produced by modified epidermal cells of abdominal sacs and diffuses through the layers of the cuticle to the outside<sup>10-12</sup>. Similarly, the trail pheromone of the termite *Zootermopsis nevadensis* (Hagen) also diffuses through differentiated epidermal cells to the outside<sup>13,14</sup>.

The sexual excitement elicited by males may explain why single males taken from groups display more readily than males kept isolated, and why males in groups sometimes display without apparent stimulus<sup>1</sup>. These males are exposed to the pheromone of other males and maintain a higher level of sexual excitement. ROTH and DATEO<sup>15</sup> found that extracts of males of 9 species of cockroaches (*Periplaneta americana* included) released sexual behavior in females of the cockroach *Nauphoeta cinerea* (Olivier); but these extracts were not assayed with males. The weak effectiveness of *Periplaneta americana* nymphs of both sexes as a releaser of the courtship display was not without precedent since male and female nymphs of the German cockroach, *Blattella germanica* (L.), release the courtship display in adult males of the same species<sup>1</sup>.

The pheromone of the American cockroach is not a sex attractant in the strict sense – an attractant and aphrodisiac produced by only one sex – but is a sexual stimulus released by both sexes. In low concentrations it may also be a social pheromone that attracts members of the same or possibly several species of cockroaches.<sup>16</sup>

**Zusammenfassung.** Das Vorkommen von Sexualpheromon wurde an dem Werbeverhalten von selektierten einzelnen Männchen getestet. Das Pheromon kommt in larvalen und adulten Insekten beiderlei Geschlechts vor, wird aber von geschlechtsreifen Weibchen in grösseren Mengen produziert. Es kommt hauptsächlich im Kopf vor und wird wahrscheinlich an Orten modifizierter Körperdecke abgesondert.

BRUNHILD STÜRKOW and W. G. BODENSTEIN

Entomology Research Division, Agricultural Research Service USDA, Beltsville (Maryland 20705, USA), August 8, 1966.

<sup>10</sup> S. M. HAMMAD and H. J. JARZYK, Bull. Soc. ent. Egypte 42, 253 (1958).

<sup>11</sup> R. A. STEINBRECHT and D. SCHNEIDER, Naturwissenschaften 51, 41 (1964).

<sup>12</sup> R. A. STEINBRECHT, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 64, 227 (1964).

<sup>13</sup> A. M. STUART, Proc. zool. Soc. London 143, 43 (1964).

<sup>14</sup> P. SATIR and A. M. STUART, J. Cell Biol. 24, 277 (1965).

<sup>15</sup> L. M. ROTH and G. P. DATEO, J. Insect Physiol. 12, 255 (1966).

<sup>16</sup> The statistical analyses and interpretations by Dr. W. F. KWOLEK, Biometrical Services, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Peoria, Illinois, are gratefully acknowledged.

#### PRO EXPERIMENTIS

#### Eine neue Methode zum schnellen Einfrieren von Geweben

Für Versuche, einzelne morphologische Zell- und Gewebebestandteile aus gefriergetrockneten Gewebepräparaten ohne Verwendung von Flüssigkeiten zu gewinnen, wurden größere Mengen Gewebepräparate benötigt. Die Hauptschwierigkeit bestand für uns im einwandfreien Einfrieren größerer Gewebemengen. Vor kurzem veröffentlichten wir eine Methode<sup>1</sup>, die eine hohe Einfriergeschwindigkeit erlaubt. Da diese Methode für unsere Zwecke zu umständlich war, suchten wir nach einem anderen Weg. 1952 ga-

ben wir ein Verfahren<sup>2</sup> an, bei dem das Gewebe gemeinsam mit fester Kohlensäure in einem Starmix zerkleinert wird. Wir fanden nun, daß sich die Kohlensäure unter gewissen Bedingungen durch flüssigen Stickstoff ersetzen läßt.

Das Prinzip ist folgendes: Ein Schlagmesser rotiert mit hoher Geschwindigkeit (20 000 U/min) in flüssigen Stick-

<sup>1</sup> M. BEHRENS, W. NEU und R. THALACKER, Experientia 22, 265 (1966).

<sup>2</sup> M. BEHRENS, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 291, 245 (1952).

stoff. Die Gewebe werden in bohnen- bis kirschengroßen Stücken eingebracht. Durch die sofortige Zerkleinerung wird das Einfrieren wesentlich beschleunigt. Es resultiert ein für die Gefriertrocknung sehr geeignetes pulverförmiges Material von großer Oberfläche. Auf den Mahlbecher einer hochtourigen Laboratoriumsschlagmühle (IKA)<sup>3</sup> wird statt des Deckels ein Plastikgefäß mit quadratischem Querschnitt (von ca. 750 cm<sup>3</sup> Inhalt) montiert. Der Plastikbecher hat abgerundete Kanten und eine Höhe von ca. 150 mm. Das untere Ende geht in einen Zylinder von 30 mm Höhe und 50 mm Durchmesser über. Das Gefäß hat oben eine runde Öffnung von ca. 50 mm Durchmesser. Das Schlagmesser hat rechteckige Form (Länge 55 mm, Breite 10 mm, Dicke 1,5 mm). Die Enden des Rechteckes sind leicht verjüngt und hochgebogen. Das Messer ist dem Mahlbecher so angepaßt, daß zwischen der Wandung und dem Messerende ca. 1 mm Zwischenraum bleibt.

Die Apparatur wird mit wenig flüssigem Stickstoff vorgekühlt. Nach Anstellen der Mühle wird Stickstoff nachgefüllt. Die Gewebestücke werden einzeln eingeworfen und der verdampfte Stickstoff durch Nachgießen ersetzt. Die Menge des Stickstoffs ist so zu wählen, daß der zentrale Wirbel bis zum Messer herunter reicht. Befindet sich zuviel Stickstoff in dem Mahlbecher, schwimmen die eingeworfenen Gewebestücke im Stickstoff, ohne von dem Messer erfaßt zu werden. Die richtige Dosierung des Stickstoffs bildet keine besondere Schwierigkeit, da

durch die obere Öffnung der Mahlvorgang leicht zu beobachten ist. Die Gefahr des Herausspritzens des Stickstoffs besteht nur beim Anlaufen der Mühle. Es läßt sich durch Auflegen eines Mulltupfers auf die obere Öffnung leicht verhindern. Ist der Mahlvorgang beendet, gießt man den Inhalt des Mahlbeckers unter Nachspülen mit frischem Stickstoff quantitativ in ein kleines Dewargefäß. Nach Absitzen des gefrorenen Gewebepulvers dekantiert man den überstehenden klaren Stickstoff und bringt das Pulver mit dem Dewargefäß in die Gefriertrocknungsanlage<sup>4</sup>.

*Summary.* A new unit for the rapid freezing of tissues in liquid nitrogen is described.

M. BEHRENS, H. HAHN und W. NEU

Abteilung für Zell- und Gewebechemie am Physiologisch-chemischen Institut der Justus Liebig-Universität, Giessen (Deutschland), 28. Juni 1966.

<sup>3</sup> Janke und Kunkel K.G., 7813 Staufen i.Br., Deutschland.

<sup>4</sup> Dem Verband der Chemischen Industrie und der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Bereitstellung der Mittel.

## Über die Spezifität der «TEE-Methode» zur quantitativen Bestimmung von Ascorbinsäure und Gesamt-Vitamin-C im frischen Pflanzenmaterial<sup>1</sup>

Für pflanzen- sowie ernährungsphysiologische Untersuchungen über das System Ascorbinsäure (AS) und Dehydroascorbinsäure (DAS) oder über den Vitamin-C-Wert (Vitamin C = AS + DAS) des frischen Pflanzenmaterials muss die angewendete Bestimmungsmethode (1) eine gute Stabilisierungsmöglichkeit erlauben, so dass die Gefahr der Oxydation von AS zu DAS während der Aufarbeitung und der Bestimmung weitgehend ausgeschaltet werden kann, (2) eine hohe Empfindlichkeit und Spezifität aufweisen, (3) für Routine- und Serienbestimmungen geeignet sein. Im Rahmen früherer Untersuchungen über die AS und das Vitamin C<sup>2,3</sup> haben wir mehrere Methoden studiert und einige experimentell überprüft. Die sogenannte «TEE-Methode» nach TILLMANS<sup>4</sup> und EMMERIE und VAN ECKELEN<sup>5</sup>, die von FRANKE<sup>6</sup> beschrieben wurde, erwies sich für unsere Zwecke als besonders geeignet (Titration mit 2,6-Dichlorphenolindophenol [DIP]). Es wurde vielfach behauptet, dass die Bestimmung von AS mittels DIP unspezifisch wäre, da andere reduzierende Stoffe, deren Redoxpotentiale innerhalb des Bereiches von AS (-0,081 V) und DIP (+0,217 V) liegen, miterfasst werden könnten. Zu diesen Stoffen, die im frischen Pflanzenmaterial vorkommen können, gehören Redukton, Glutathion, Cystein, Pyrogallol, Brenzatechin, Hydrochinon, Gerbstoffe (Tannin) und reduzierende Zucker. Obwohl SEYBOLD und MEHNER<sup>7</sup> und andere (Literatur bei FRANKE<sup>6</sup>) die Spezifität der Methode wiederholt geprüft haben, führten wir erneut eine Prüfung durch, um die Einwände

Titration verschiedener reduzierender Stoffe mit DIP

	Verbrauchte n/1000 DIP/10 ml (z 4-6 Werte)			
	Konzentration A		Konzentration B	
	10 mg Reinsubstanz/10 ml (10 <sup>-3</sup> )	— PE      + PE	1 mg Reinsubstanz/10 ml (10 <sup>-4</sup> )	— PE      + PE
PE (10 ml)		0,59		0,34
Glutathion	0,03	0,58	0,05	0,35
Cystein	—	0,63	0,05	0,35
Pyrogallol	—	0,60	0,32 <sup>b</sup>	0,35
Brenzatechin	0,03	0,58	0,03	0,34
Hydrochinon	1,06	0,78	0,32 <sup>c</sup>	0,35
Tannin	0,03	0,58	0,02	0,34
Glucose	0,02	0,58	0,02	0,34
Fructose	0,01	0,59	0,02	0,34
AS			11,24 <sup>d</sup>	11,70

<sup>a</sup> Mit 2%iger HPO<sub>3</sub> Lösung hergestellt. Titrationswert für die Konzentration 10<sup>-5</sup>: <sup>b</sup> 0,02, <sup>c</sup> 0,03, <sup>d</sup> 1,13.

<sup>1</sup> Ein Teil der vorliegenden Untersuchungen wurde im Rahmen einer grösseren Arbeit<sup>2</sup> durchgeführt.

<sup>2</sup> M. M. EL-FOULY, Dissertation München (1963).

<sup>3</sup> A. AMBERGER und M. M. EL-FOULY, Z. Pfl-Ernähr. Düng., Bodenk. 105, 37 (1964).

<sup>4</sup> J. TILLMANS, Z. Lebensmittelunters. u. Forsch. 54, 33 (1927).

<sup>5</sup> A. EMMERIE und M. VAN ECKELEN, Z. Vitaminforsch. 6, 150 (1937).

<sup>6</sup> W. FRANKE, in *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse* (Ed. K. PAECH und M. U. TRACY; Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1965), Bd. II, p. 95.

<sup>7</sup> A. SEYBOLD und H. MEHNER, Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss., Math.-Naturw. Kl. (Springer-Verlag, Heidelberg 1948).