

Orientierungsbeobachtung zufolge erscheint selbst der prinzipielle Verlauf der Reaktionskurve (Figur 1b) nur als ein erster Teil einer weiteren Schwingung von 30–40 min Dauer (Figur 2a). Dies lässt ein überraschend langes Anhalten grundsätzlicher Handlungsbereitschaft des Tieres bei anhaltender olfaktorischer Reizung erkennen, womit die besondere Bedeutung jener Reizmodalität zum Beuteerwerb bei dieser Anurenart unterstrichen wird. Die jeweils aktuelle Reaktionshöhe wechselt dabei durch die Überlagerung verschiedener Schwingungsvorgänge in starkem Masse. So ist auch in der Abfolge der innerhalb einer Minute ablaufenden Raffbewegungsreihen eine weitere Schwingung festzustellen (Figur 2b).

Die entsprechende Reaktion wurde ausser mit Mehlkäferlarvenkonzentrat sowie mit Rinderblut und Milch auch – allerdings in insgesamt schwächerem Masse – bei Verwendung von Histidin, Ölsäure, Saccharose und Glukose (Aminosäure, ungesättigte Fettsäure, Mono- und Oligosaccharid) als Reizsubstanzen erhalten. Histidin löste sie zwar nicht am stärksten, so doch aber am sichersten unter allen getesteten Stoffen aus. Die Prüfung verschiedener Konzentrationen stark verdünnter Glukoselösung zeigte eine Reiz-Reaktionsabhängigkeit in Form einer Optimumskurve. Damit erklärt sich ein bei lokalem Einspritzen einer Reizstofflösung in das Wasser

zu beobachtender rascher Abfall der anfänglichen Reaktionsgrösse als Effekt der im Zeitverlauf verringerten lokalen Konzentration. Die Schwingungsdauer der RQ-Kurve erscheint hingegen unabhängig von der Art und der Konzentration des Reizstoffes; desgleichen lässt sich keine Konzentrationsabhängigkeit der Amplitude dieser Kurve nachweisen. Damit ist auf von der Spezifität des olfaktorischen Reizes unabhängige endogene Oszillatoren zu schliessen, die den durch weitere endogene Faktoren, wie z.B. Hunger, bestimmten Pegel der Nahrungserwerbs-Handlungsbereitschaft rhythmisch verändern.

*Summary.* The behavioural response of *Xenopus laevis* to olfactory cues shows different rhythmical oscillations which do not depend on the chemical nature and the concentration of the stimulus itself. Habituation to such cues occurs very slowly, pointing to their special importance in the feeding behaviour of this species.

H. HEMMER und SIBYLLE KÖHLER

*Institut für Zoologie der Universität, Postfach 3980,  
D-65 Mainz (Bundesrepublik Deutschland, BRD),  
8. Oktober 1974.*

## Nachweis von Reflex-Bluten bei Lampyriden (Coleoptera) mit Hilfe der «Tracer»-Methode

### Demonstration of Reflex-Bleeding in Fire-Flies (Coleoptera) by Help of Radioactive Tracers

Eine Reihe von Insekten stossen bei Berührung an verschiedenen Stellen ihrer Cuticular-Oberfläche kleine Flüssigkeitstropfen aus. Dies trifft auch für imaginale Leuchtkäferchen («fire-flies») zu, welche diese Tröpfchen vor allem auf der Dorsalseite an der Basis der Elytren und Alae sowie durch einen Porus in der Mitte des Metathorakalgertigen austreten lassen. Auf der Ventralseite können solche Tröpfchen an der Basis und besonders auf der Innenseite des dritten Coxenpaares beobachtet werden. Nach WILLIAMS<sup>1</sup> und LLOYD<sup>2</sup> soll die abgegebene Flüssigkeit wahrscheinlich zum Zwecke der Abwehr toxische oder frassabschreckende Inhaltsstoffe enthalten. In diesem Zusammenhang ist es eine wichtige Frage, ob es sich um den Austritt von Haemolymph oder um das Sekret von Dermaldrüsen handelt.

Zur Klärung dieser Frage benutzten wir die Injektion von radioaktiven Isotopen in die Blutbahn der adulten Käfer. *Photuris* 'D'<sup>3</sup> und *Photinus consanguineus* Le C<sup>4</sup> wurden auf Pappstreifen mit Hilfe von Tesafilm («masking tape») montiert. Wir probierten verschiedene Positionen aus und fanden am günstigsten eine Montage in normaler Haltung, wobei die gespreizten Flügel und Extremitäten mit Klebestreifen fixiert waren. Auf diese Weise waren das Abdomen für die Injektion sowie die Thorakalgerte für Reizung und Abnahme der Flüssigkeitströpfchen frei zugänglich. Unter CO<sub>2</sub>-Narkose wurden den Käfern dorsolateral durch die Intersegmental-Haut des 4. Abdominalsegmentes mit einer Agla-Mikrometerspritze 0,4–1,0 µl einer Radiophosphatlösung vorsichtig unter Vermeidung von Rückfluss injiziert. Die Lösung enthielt H<sub>3</sub><sup>32</sup>PO<sub>4</sub> trägerfrei («carrier free») in 0,02 N HCl mit einer spezifischen Aktivität von 0,2–1,5 mCi/ml. Die absolute Aktivität pro Injektion lag somit zwischen 0,2–1,5 µCi. Nach der Injektion wurden die auf der Pappstreifen montierten Käfer unter einem G. M.-Zählrohr, das an ein Berthold-Frieseke-Zählgerät angeschlossen war, auf erfolgreiche Injektion kontrolliert. Nur Tiere mit vergleichbaren

Injektionsmengen (Impulszahlen) wurden für die weiteren Versuche verwendet.

Mittels einer Filterpapierspitze (deren Leerwert zuvor gemessen wurde) sind die weiterhin montierten und bei 26–28 °C aufbewahrten Käfer mechanisch leicht auf dem Meso- oder Metathorakalgertigen, zum Teil auch an der Basis der Elytren gereizt worden. Ausfliessende Tröpfchen wurden mit der Filterpapierspitze aufgesaugt. Letztere wurde daraufhin nach Trocknen unter der vorgenannten Zählordnung auf mit dem Flüssigkeitstropfen ausgeschiedene Radioaktivität kontrolliert. Bei insgesamt 22 montierten und injizierten Leuchtkäferchen ergab sich bei den 5–28 min post injectionem gereizten Tieren in 20 Fällen die Abscheidung von Radioaktivitätsmengen, die einwandfrei vom Nullwert («background») zu trennen waren. In einigen Fällen (und zwar bereits 5–6 min post injectionem) enthielt das durch den präformierten Porus des Metathorakalgertigen ausgeschiedene Tröpfchen ca. 10% der in der Ganzkörpermessung festgestellten Radioaktivität. 28–30 min nach der Injektion war die Aktivität bereits stärker im Gesamtorganismus verteilt und «verdünnt»<sup>5</sup>, die messbaren Aktivitäten wurden dann nämlich wesentlich geringer.

Als Ergebnis lässt sich mit Sicherheit sagen, dass die ausserordentlich kurze Zeit zwischen Injektion und Ausfliessen von radioaktiver Flüssigkeit (5–9 min) mit Sicherheit den Vorgang als Reflexbluten, d.h. die Abgabe von Haemolymph durch präformierte Stellen, erweist. Dies

<sup>1</sup> F. X. WILLIAMS, J. New York ent. Soc. 25, 11 (1917).

<sup>2</sup> J. E. LLOYD, The Coleopterists Bull. 27, 91 (1973).

<sup>3</sup> J. E. LLOYD, bei Gainesville/Florida, 15.5.1972. Die Benennung in dieser Form erfolgt bis zur definitiven Klärung.

<sup>4</sup> J. E. LLOYD, 30.8.1972, bei Gainesville/Florida.

<sup>5</sup> R. CRAIG and M. A. OLSON, Science 113, 648 (1951).

hatte LEYDIG (zit. bei WIGGLESWORTH<sup>6</sup>) schon im vorigen Jahrhundert für Käfer vermutet. Die Markierung von Sekretionen hypodermaler oder sonstiger Drüsen würde sehr viel mehr Zeit (mehrere Stunden bis zu einem

Tag)<sup>7-10</sup> in Anspruch nehmen, da der «Tracer» zunächst von den Drüsenzellen absorbiert, innerhalb derselben in die Sekrete eingebaut und mit diesen ausgeschieden werden müsste.

<sup>6</sup> V. B. WIGGLESWORTH, *The Principles of Insect Physiology*, 7th edn. (Chapman and Hall, London 1972).

<sup>7</sup> W. KLOFT und H. KUNKEL, Proc. XI. Int. Congr. Entomol., Wien 1960, (1961), vol. 1, p. 746.

<sup>8</sup> W. KLOFT und P. EHRHARDT, Proc. Symposium 'Radioisotopes and Radiation in Entomology', Bombay 1960 (IAEA Wien, 1962), p. 181.

<sup>9</sup> H. NAARMANN, *Experientia* 19, 412 (1963).

<sup>10</sup> K. P. LAMB, P. EHRHARDT, V. MOERICKE, *Nature*, Lond. 124, 602 (1967).

<sup>11</sup> Institut für Angewandte Zoologie der Universität Bonn. Die Untersuchungen wurden 1972 während eines Aufenthaltes von W. J. KLOFT als Visiting Professor an der University of Florida durchgeführt.

<sup>12</sup> Department of Entomology and Nematology, University of Florida, Gainesville (Florida, USA).

**Summary.** The very short time (5–9 min) between injection of radiophosphorous into the hemolymph of adult fireflies (Lampyridae) and outflow of radioactive droplets after irritation demonstrates with certainty that reflex-bleeding is involved. Labelling the secretions of dermal glands would require much more time (several h or even 1 day).

W. J. KLOFT<sup>11</sup>, J. E. LLOYD<sup>12</sup> and A. P. BHATKAR<sup>12</sup>

*Institut für Angewandte Zoologie der Universität,  
An der Immenburg, D-53 Bonn  
(Bundesrepublik Deutschland, BRD), und  
Department of Entomology and Nematology,  
University of Florida, Gainesville (Florida, USA),  
18. September 1974.*

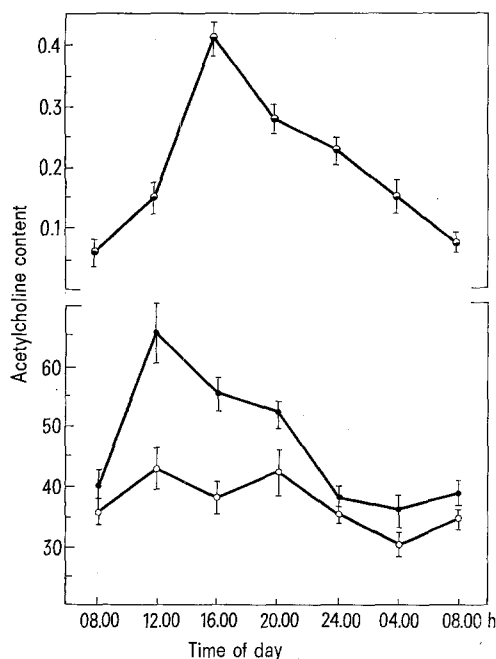
### On the Acetylcholine Content in the Scorpion, *Heterometrus fulvipes* C. Koch

Quantitative estimations of acetylcholine (ACh) content in the nervous and non-nervous tissues are carried out in several arthropods<sup>1-5</sup>, and there is sufficient evidence to suggest its neurohumoral function<sup>6</sup>. Amongst the arachnids, ACh is detected in the nervous system of *Limulus polyphemus*<sup>6-8</sup> and the ganglia of the spider, *Heteropoda regis* and 2 species of scorpions, *Buthus europaeus* and *Heterometrus maurus*<sup>9</sup>.

The central nervous system of the scorpions is shown to produce 2 different neurohormones out of phase with each other, and they seem to control the diurnal rhythmicity of the animal<sup>10-12</sup>. It was also suggested earlier that

ACh might act as a neurohumor in the scorpion<sup>13</sup>. If ACh is the neurohumoral substance involved in the diurnal rhythmicity, it would be natural to expect diurnal variations in its content also. The present investigation was carried out to test this hypothesis.

**Material and methods.** The South Indian scorpion, *Heterometrus fulvipes* C. Koch was used. Cephalothoracic nerve mass (CTNM), ventral nerve cord (VNC) and blood were isolated at various times of the day in cold conditions. The material from 6 animals was pooled to form 1 sample to obtain enough material for the assay. The material was kept in boiling water bath for 5 min to inactivate the enzyme AChE and to release bound ACh. The tissues were cooled and ACh was estimated by the method of Hestrin as given by AUGUSTINSSON<sup>14</sup>. The amount of ACh present in the sample was determined from the standard graph prepared using known amounts of ACh. 6 samples were analyzed at each time to get concordant values.



Acetylcholine content in the CTNM, VNC and blood of the scorpion estimated at various times of the day. The values are the averages of 6 observations  $\pm$  S.D. and are expressed as  $\mu\text{g}$  ACh/g wet weight for CTNM and VNC and as  $\mu\text{g}/\text{ml}$  in the case of blood.  $\bullet-\bullet$ , blood;  $\bullet-\bullet$ , CTNM;  $\circ-\circ$ , VNC.

<sup>1</sup> J. H. WELSH, *Physiology of Crustacea* (Ed. T. H. WATERMAN; Academic Press, New York, USA 1961), vol. 2, p. 281.

<sup>2</sup> F. HUBER, *Physiology of Insecta* (Ed. M. ROCKSTEIN; Academic Press, New York, USA 1965), vol. 2, p. 333.

<sup>3</sup> J. BOISTEL, *Advances in Insect Physiology* (Eds. J. W. L. BEAMENT, J. E. TREHERNE and V. B. WIGGLESWORTH; Academic Press, New York, USA 1968), vol. 5, p. 1.

<sup>4</sup> B. N. SMALLMAN and A. MANSINGH, *A. Rev. Ent.* 14, 387 (1969).

<sup>5</sup> R. M. PITMAN, *Comp. gen. Pharmac.* 2, 347 (1971).

<sup>6</sup> C. C. SMITH and D. GLICK, *Biol. Bull.* 77, 321 (1939).

<sup>7</sup> W. SCHALLEK, *J. cell. comp. Physiol.* 26, 15 (1945).

<sup>8</sup> E. FLOREY, *Neurochemistry* (Eds. K. A. C. ELLIOT, I. H. PAGE and J. H. QUASTEL; Springfield, Illinois, USA 1962), p. 673.

<sup>9</sup> E. CORTEGGIANI and A. SERFATY, *C. r. Soc. Biol., Paris* 131, 1124 (1939).

<sup>10</sup> K. P. RAO, *J. Anim. Morph. Physiol.* 11, 133 (1964).

<sup>11</sup> K. P. RAO and T. GOPALAKRISHNA REDDY, *Nature*, Lond. 213, 1047 (1967).

<sup>12</sup> S. A. T. VENKATACHARI, *Ind. J. exp. Biol.* 9, 338 (1971).

<sup>13</sup> S. A. T. VENKATACHARI and V. DEVARAJULU NAIDU, *Experientia* 25, 821 (1969).

<sup>14</sup> K. B. AUGUSTINSSON, *Methods of Biochemical Analysis* (Ed. D. GLICK; Interscience Publishers Inc., New York, USA 1957), vol. 5, p. 1.