

'Spontaneous' action potentials were occasionally observed, although the general lack of 'spontaneous' discharge may reflect an inactivity of these cells during daylight hours, a fact which has been observed from extracellular recordings (unpublished data). The 'spontaneous' action potentials reached 70 mV in height, with a positive overshoot of 10–20 mV and an undershoot of about 8 mV (figure 2). Spike duration is very long even for insect neurosecretory cells (7–20 ms at 50% spike height) and in this respect they again resemble molluscan neurosecretory cells<sup>10</sup>. The smallness of the overshoot as well as the long duration of the spike may be due in part to the unusual ionic content of the haemolymph found in these phytophagous insects<sup>7</sup> and this is at present under investigation.

A contrast to these properties of LNNs was obtained with intracellular recordings from non-neurosecretory multipolar neurons which occur on peripheral nerves in the stick insect<sup>3,4</sup>. These 'peripheral nerve stretch receptors'<sup>3</sup> are 'spontaneously' active and when penetrated the cell bodies revealed resting potentials of about 40 mV, with small action potentials of between 1 and 10 mV in height occurring with a frequency of 2–3 sec<sup>-1</sup> (figure 3). The action potentials never show overshoot, and are of 2–3 ms in duration (at 50% spike height). We consider that they are remnants of action potentials initiated in the axon which have electrotonically invaded the cell body. The cell bodies of these multipolar neurons are therefore electrically inexcitable, in contrast to LNNs. Long depolarizing pulses cause an increase in the frequency of these action potentials (figure 3b), which increases proportionally with higher depolarizing pulses.

Hyperpolarizing pulses lower or inhibit the firing of these cells. These multipolar neurons then act as typical stretch receptor neurons with the dc levels of the cell body affecting the frequency of initiation of the action potentials at some point distant from the cell body. The majority of cell bodies of central neurons in insects are inexcitable<sup>4</sup>. Exceptions to this have been shown for protocerebral neurosecretory cells<sup>11</sup> and a group of dorsally situated cell bodies in the ventral ganglia<sup>5,6</sup>. One cell of the group of dorsal cells in the thoracic ganglia has been demonstrated to be neurosecretory<sup>5</sup>. The LNN is an example of a clearly defined insect neurosecretory cell which has an electrically excitable cell body. The close relationship between the metabolic state of a nerve cell and its electrical properties has been previously demonstrated<sup>12</sup>. Neurosecretory cells are clearly metabolically different from 'ordinary' nerve cells and this seems to be reflected in the excitable nature of the cell body. The advantages conveyed to the LNNs in having an electrically excitable cell body are presumably ones of co-ordination of release. The LNNs are multipolar neurons with each process capable of propagating centrifugal action potentials<sup>4</sup>. An electrically excitable cell body would be an efficient means of ensuring that the spike initiation site caused a concomitant action potential in each of the processes, thus causing simultaneous release of neurosecretory material from the terminals.

10 P. R. Benjamin and N. V. Swindale, *Nature* 258, 622 (1975).

11 D. J. Cook and J. V. Milligan, *J. Insect. Physiol.* 18, 1197 (1972).

12 R. M. Pitman, *J. Physiol.* 247, 511 (1975).

## Häutungen von Insekten ohne Häutungsdrüse: Befunde mit Larven von *Periplaneta americana*

### Moultung of insects without moulting gland: Results with larvae of *Periplaneta americana*

M. Gersch<sup>1,2</sup>

*Sektion Biologie der Friedrich-Schiller-Universität, Erbertstrasse 1, DDR-69 Jena  
(Deutsche Demokratische Republik), 19 Juli 1976*

**Summary.** The course of moulting of *Periplaneta americana* larvae of which the prothoracic glands were extirpated, was investigated in 2 succeeding series. It could be proved that all animals underwent 1 or 2 moulting processes inspite of the absence of the moulting gland. These results demonstrate that the generally accepted classical schema of the endocrine control of the insect moulting must be renewed.

Es besteht weitgehend unangefochten die Auffassung, dass die Prothoracaldrüse der Insekten der Produktionsort des Häutungshormons und damit eine für die Häutungsprozesse unbedingt erforderliche Voraussetzung darstellt. Diese Auffassung wurde auch durch einige andersartige Feststellungen an *Galleria mellonella*<sup>3</sup> sowie an *Periplaneta americana*<sup>4–6</sup> kaum ernsthaft berührt, geschweige erschüttert. Zweifel an der Allgemeingültigkeit der konventionellen Vorstellungen musste allerdings auch der Nachweis der Synthese von Ecdyson und Ecdysteron ohne Beteiligung der Prothoracaldrüsen hervorrufen, wie das einerseits in den Abdomina der Saateule *Mamestra brassicae* nach Applikation von <sup>3</sup>H-Cholesterin<sup>7</sup> und andererseits bei *Bombyx mori*<sup>8</sup> sowie neuerdings in den isolierten Abdomina des Kartoffelkäfers gefunden wurden<sup>9</sup>.

Aus In-vitro-Experimenten mit Beinregeneraten von *Blabera craniifer* wurde ebenfalls geschlossen, dass das Häutungshormon in Geweben des Metathorax und des

Abdomens gebildet wird und dass das klassische Schema der Funktion der Prothoracaldrüse mit diesen Ergebnissen nicht im Einklang steht. In unmittelbarem Gegensatz dazu konnte allerdings bei verschiedenen Insekten nach-

1 Für die wertvolle technische Unterstützung mit der sorgfältigen Präparation der Prothoracaldrüsen sowie der gewissenhaften Kontrolle und Betreuung der Versuchsserien bin ich Frau R. Winkler zu grossem Dank verpflichtet.

2 Durchgeführt mit Unterstützung durch die Sächsische Akademie der Wissenschaften zu Leipzig.

3 H. Piepho, *Naturwissenschaften* 35, 94 (1948).

4 L. E. Chadwick, *Science* 121, 435 (1955).

5 L. E. Chadwick, *J. exp. Zool.* 131, 291 (1956).

6 W. L. Nutting, *Science* 122, 30 (1955).

7 M. Gersch und J. Stürzebecher, *Experientia* 27, 1475 (1971).

8 K. Nakanishi, H. Moriyama, T. Okauchi, S. Fujioka und M. Koreeda, *Science* 176, 51 (1972).

9 T. H. Hsiao, T. Hsiao und J. de Wilde, *Nature* 255, 727 (1975).

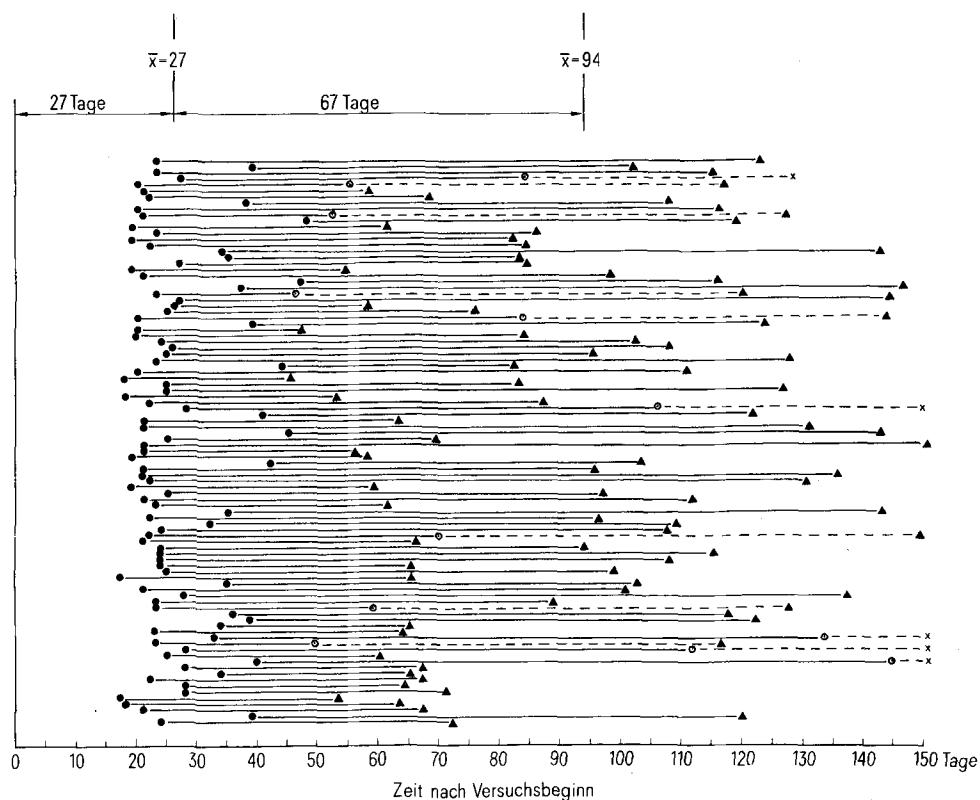


Fig. 1. Häutungsverlauf der in Tabelle 1 zusammengefassten Serie individuell für diejenigen Larven, die im Verlaufe der ersten 60 Tage des laufenden Versuches eine Larvenhäutung und anschliessend noch weitere Häutungen durchliefen. Unberücksichtigt geblieben sind dabei diejenigen Larven, die sich innerhalb dieser Frist unmittelbar zur Imago häuteten und daher aus dem weiteren Versuch ausgeschieden wurden (siehe Tabelle 1). In diesem Diagramm sind aber auch nicht die Larven erfasst, die während der ersten 60 Tage keine Häutung zeigten und deshalb für weitere Versuchszwecke ebenfalls aus der Versuchsserie herausgenommen wurden. Man beachte die verschiedenen langen Zwischenhäutungszeiten, die einerseits zwischen 2 Larvenhäutungen bei einem Mittelwert von 27 Tagen, andererseits bei Adulthäutungen bei einem Mittelwert von etwa 94 Tagen liegen. Zeichenerklärung: ● 1. Larvenhäutung, ○ 2. Larvenhäutung, ▲ Imaginalhäutung, ★ Präparation zur Kontrolle am Ende der Versuchsserie.

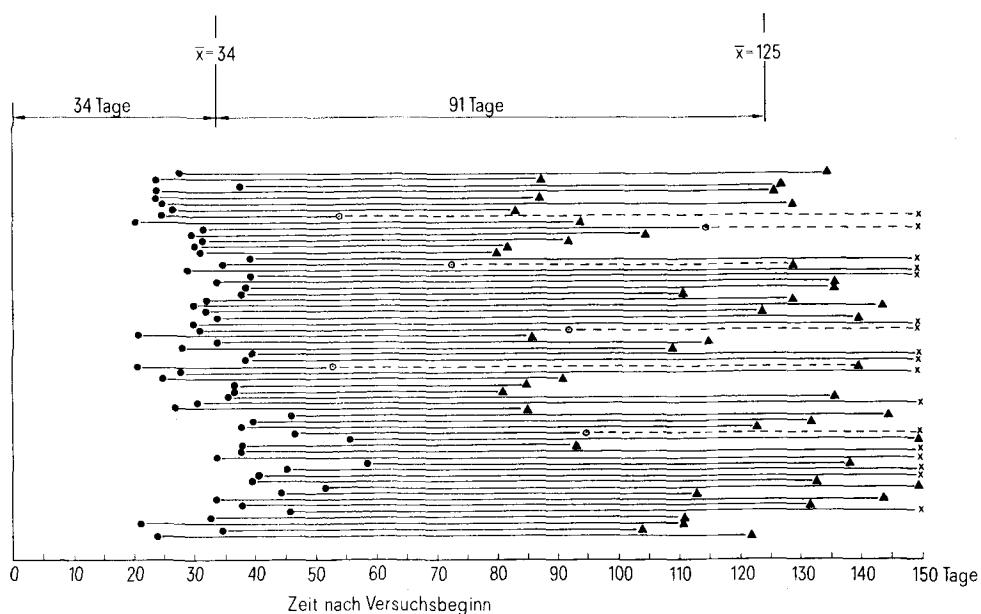


Fig. 2. Häutungsverlauf der in der Tabelle 2 zusammengefassten zweiten Serie von Larven nach Exstirpation der Prothoracaldrüsen. Die weiteren Angaben entsprechen denen von Figur 1.

gewiesen werden, dass die Prothoracaldrüsen *in vitro* Ecdyson synthetisieren<sup>10-14</sup>.

Diese widersprüchsvollen Resultate fordern geradezu eine Klärung der Verhältnisse heraus. Hier steht die Feststellung zur Diskussion, nach der eine oder auch mehrere Häutungen trotz vorausgegangener Exstirpation der Prothoracaldrüsen erfolgen können. Summarische Ergebnisse einer früheren Nachuntersuchung wurden bereits kurz mitgeteilt<sup>7</sup>. In der vorliegenden Arbeit wurden die auftretenden Häutungen in ihrem zeitlichen Ablauf an Larven von *Periplaneta americana* nach Exstirpation der Prothoracaldrüsen in zwei getrennten umfassenden Versuchsserien verfolgt, um damit eine exakte Grundlage für die Beurteilung dieses Phänomens zu gewinnen.

Tabelle 1. Zusammengefasste Übersicht über den Ablauf nach Exstirpation der Prothoracaldrüsen von *Periplaneta americana* während der Versuchsdauer von 150 Tagen (Sommerserie)

|                              |  |
|------------------------------|--|
| Versuchsbeginn               | 221 Larven nach Exstirpation der Prothoracaldrüse<br>(davon dann 103 Larvenhäutungen)<br>(sämtliche erste Larvenhäutungen) |
|                              | 25 ausgeschieden nach Imaginalhäutung  |
|                              | 60 Larven für Versuchszwecke entnommen   |
| 40 Tage nach Versuchsbeginn  | 136 Larven   |
|                              | (davon dann 17 Larvenhäutungen)<br>(12 erste Larvenhäutungen; 5 zweite Larvenhäutungen)                                    |
|                              | 29 ausgeschieden nach Imaginalhäutung<br>(18 Adulthäutungen; 11 Adulthäutungen nach vorangegangener Larvenhäutung)         |
|                              | 17 Larven für Versuchszwecke ausgeschieden   |
| 60 Tage nach Versuchsbeginn  | 90 Larven  |
|                              | 13 Larven mit zweiten Larvenhäutungen  |
|                              | 77 Imaginalhäutungen<br>(sämtliche nach vorangegangener Larvenhäutung)   |
| 150 Tage nach Versuchsbeginn | Alle Tiere gehäutet  |

Tabelle 2. Zusammengefasste Übersicht über den Ablauf nach Exstirpation der Prothoracaldrüsen von *Periplaneta americana* während der Versuchsdauer von 150 Tagen (Herbstserie)

|                              |   |
|------------------------------|---|
| Versuchsbeginn               | 147 Larven nach Exstirpation der Prothoracaldrüse<br>(davon dann 52 Larvenhäutungen)<br>(sämtliche erste Larvenhäutungen) |
|                              | 3 ausgeschieden nach Imaginalhäutung  |
|                              | 55 Larven für Versuchszwecke ausgeschieden  |
| 40 Tage nach Versuchsbeginn  | 89 Larven   |
|                              | (davon dann 9 Larvenhäutungen)<br>(7 erste Larvenhäutungen, 2 zweite Larvenhäutungen)                                     |
|                              | 6 ausgeschieden nach Imaginalhäutung  |
|                              | 22 Larven für Versuchszwecke ausgeschieden  |
| 60 Tage nach Versuchsbeginn  | 61 Larven   |
|                              | (davon 4 Larven mit zweiter Larvenhäutung)  |
|                              | 45 Imaginalhäutungen<br>(sämtliche nach vorausgegangener Larvenhäutung)   |
| 150 Tage nach Versuchsbeginn | 16 Larven bei Versuchsende präpariert<br>Ergebnis: Keinerlei Rudimente bzw. Regenerate der Prothoracaldrüsen              |

**Material und Technik.** Die Exstirpation erfolgte an nicht-narkotisierten Larven von *Periplaneta americana* beiderlei Geschlechts in Dorsallage. Lediglich das erste Extremitätenpaar war mit Minuten fixiert. Feine Schnitte wurden beidseitig einmal in der Halsgegend und zum anderen an der Innenseite der Ansätze der Extremitäten des Prothorax in der dünnen Haut angebracht, wodurch zugleich die Prothoracaldrüse von den sie haltenden Bindegewebsbändern getrennt wurde. Sie konnte daraufhin an der Einschnittsstelle am linken Vorderbein samt den Haltebändern herausgezogen werden. Anschliessend wurde in jedem Falle im Stereomikroskop geprüft, ob eine Drüse unverletzt als Ganzes entfernt worden war. Nur solche Tiere blieben in der Versuchsserie. Es wurde erreicht, dass die Sterberate der operierten Tiere weniger als 5% betrug. Die Operation der Drüsen erfolgte stets 2-4 Tage nach einer vorausgegangenen Häutung der betreffenden Larven.

**Ergebnisse.** In der ersten Versuchsserie wurden im Zeitraum vom 18. August 1975 bis 30. September 1975 221 Larven von *Periplaneta americana* jeweils 2, 3 bzw. 4 Tage nach der vorausgegangenen Häutung die Prothoracaldrüse exstirpiert. Eine Übersicht über das Schicksal der 221 Tiere vermittelt Tabelle 1.

Daraus geht hervor, dass, abgesehen von den für Versuchszwecke vorzeitig entnommenen Individuen, alle Tiere eine oder mehrere Häutungen im Laufe der 150-tägigen Beobachtungszeit durchlaufen haben.

Figur 1 gibt den individuellen Häutungsablauf der in Tabelle 1 zusammengefassten Befunde wieder, und zwar für diejenigen Larven, die sich im Laufe der ersten 60 Tage einmal zu Larven gehäutet hatten und im anschliessenden Versuchsverlauf weitere Häutungen durchliefen. Hieraus ist zu erkennen, dass sich alle Tiere häuteten und dass jeweils die erste Häutung wesentlich rascher (Mittelwert 29 Tage) als die zweite Häutung (Mittelwert 90 Tage) erfolgte. Eine zweite Versuchsserie erbrachte prinzipiell gleiche Ergebnisse. Tabelle 2 gibt wiederum eine Übersicht über das Schicksal der Tiere, Figur 2 über den individuellen Häutungsablauf der Larven. Die Exstirpation der Prothoracaldrüsen erfolgte hier in der Zeit vom 10. Oktober 1975 bis 23. Dezember 1975. Die Verlängerung der Zeiten zwischen 2 Häutungen in dieser Serie ist möglicherweise auf jahreszeitliche Einflüsse (Rhythmus?) zurückzuführen.

Die Ergebnisse beider Serien zeigen zweifelsfrei, dass Häutungen nach Entfernung der Häutungsdrüse weiterhin ablaufen. Mit diesen Befunden steht jedoch die klassische Vorstellung der endokrinen Steuerung der Insektenhäutung durch die Prothoracaldrüse im Widerspruch. Die Forderung nach experimenteller Klärung dieser Situation ist somit erhoben. Erste Hinweise auf eine mögliche Erklärungsweise bieten einige der erwähnten Literaturangaben<sup>7-9, 15</sup>.

- 10 D. W. Borst und J. D. O'Connor, *Science* 178, 418 (1972).
- 11 H. Chino, S. Saurai, T. Ohtaki, N. Ikekawa, H. Miyazaki, M. Ishibashi und H. Abuki, *Science* 183, 529 (1974).
- 12 D. S. King, W. E. Bollenbacher, D. W. Borst, W. V. Vedecki, J. D. O'Connor, P. I. Ittycheriah und L. I. Gilbert, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71, 793 (1974).
- 13 D. S. King und E. P. Marks, *Life Sci.* 15, 147 (1974).
- 14 F. Romer, H. Emmerich und J. Nowock, *J. Insect. Physiol.* 20, 1975 (1974).
- 15 M. D. Bullière und F. Bullière, *C. r. Acad. Sci. Paris* 278, 377 (1974).