

# Untersuchungen zur Wirkung von injiziertem $\beta$ -Ecdyson auf die Strandkrabbe *Carcinus maenas* L.

Investigations on the Effects of Injected Ecdysone upon the Green Shore Crab *Carcinus maenas* L.

F. Buchholz und D. Adelung

Institut für Meereskunde, Universität Kiel, Abteilung Marine Zoologie, Düsternbrooker Weg 20, D-2300 Kiel

Z. Naturforsch. **34 c**, 608 – 611 (1979); received September 26, 1978/April 27, 1979

Ecdysone, Y-Organ, Molt Inhibiting Hormone

In order to accelerate and artificially induce molting, unoperated crabs, crabs without eyestalks, Y-organ ectomized and Y-organ- and eyestalkless animals were injected with multiple doses of  $\beta$ -ecdysone. Molting itself was not induced in any case, whereas in double operated animals, both destalked and Y-organless, an acceleration of longer duration of molt preparatory processes was achieved. In all other crabs premolt processes were observed to a much lesser extent, and were only short termed.

These findings lead to the conclusion that the Molt Inhibiting Hormone, which is produced in the eyestalks, might not inhibit the action of the Y-organ alone, but acts also onto the peripheral tissues.

Furtheron it is concluded that phases of increased susceptibility to the injected hormone might not exist.

Nach neueren Ergebnissen stellt sich die hormonale Kontrolle der Häutung dekapoder Krebse so dar, daß das häutungshemmende Hormon (MIH) der Sinusdrüse direkt auf die Häutungsdrüse, das Y-Organ einwirkt und hier die Bildung von  $\alpha$ -Ecdyson verhindert. Die Abgabe des MIH seinerseits wird durch das Zentralnervensystem gesteuert. Um eine Häutung auszulösen, wird zunächst die Ausschüttung des MIH durch das ZNS gestoppt [1, 2]. Infolge davon kann das Y-Organ  $\alpha$ -Ecdyson ausschütten, das an anderer Stelle im Tier in  $\beta$ -Ecdyson umgewandelt wird, und dann auf die Erfolgsorgane der Häutung, wie z. B. die Epidermis einwirkt und die häutungsvorbereitenden Prozesse auslöst [3]. Zu diesen Vorgängen gehört u. a. die Regeneration verlorengegangener Extremitäten. Die Regenerate entwickeln sich im Verlauf der Vorbereitungsprozesse zur Häutung kontinuierlich. Ihre jeweilige Größe kann daher als Maß für den Fortschritt des Häutungsprozesses genommen werden [4, 5]. Daß dieses oben dargestellte, schlüssig erscheinende Steuerungsschema noch vervollständigt werden muß, zeigen insbesondere Injektionsexperimente mit  $\alpha$ - und  $\beta$ -Ecdyson verschiedener Autoren. Nur in den wenigsten Fällen gelang es, und dann nur mit unphysiologisch hohen Dosierungen, die Häutung zu be-

schleunigen und vereinzelt vollständig auszulösen (Literatur bei Willig [6]). Meistens kam es jedoch entweder nur zu einer kurzfristigen Beschleunigung der Häutungsvorgänge, oder aber zu keinen bzw. gelegentlich zu hemmenden Effekten auf die Injektion von Häutungshormon hin.

Um dieses Problem zu klären, wurden von uns erste Injektionsexperimente mit physiologischen Hormondosierungen von  $\beta$ -Ecdyson an intakten und operierten Tieren mit dem Ziel durchgeführt, den Häutungsvorgang zu beschleunigen bzw. eine komplette Häutung auszulösen.

## Material und Methoden

Als Versuchstier diente die Strandkrabbe *Carcinus maenas*, die in der Gezeitenzone bei Nordstrand (Nordsee) gesammelt wurde. Zur Eingewöhnung wurden die Tiere in einem geschlossenen Kreislaufsystem unter konstanten Licht- (täglich 8 Stunden Licht) und Temperaturbedingungen (25 °C) über ein Häutungsintervall gehalten, bevor sie in den Versuch genommen wurden. Als Nahrung erhielten sie täglich ein vollsynthetisches Futter [7]. Zur Kontrolle des Häutungszustandes wurde in regelmäßigen Abständen die Regeneratentwicklung des zuvor unmittelbar nach jeder Häutung amputierten ersten Schreitbeinpaares nach Adelung [5] untersucht und der Wachstumsfortschritt protokolliert. Das Längen-

Sonderdruckanforderungen an F. Buchholz.  
0341-0382/79/0700-0608 \$ 01.00/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

wachstum der Regenerate wurde in 8 Stufen unterteilt.

Das häutungshemmende Hormon wurde durch Entfernung der Augensterne, dem Sitz der Sinusdrüse ausgeschaltet. Die Extirpation des Y-Organs erfolgte nach der Lagebeschreibung von Echalié [8].

Zur Injektion wurden wäßrige Lösungen von  $\beta$ -Ecdyson in einer Dosierung von  $5 \mu\text{g}/10 \mu\text{l}$  verwendet. Um unphysiologisch hohe Einmaldosierungen zu vermeiden, wurde das Hormon in Abständen von 12 bis 72 Stundenintervallen 3 bis 5 Mal im Verlauf der ersten Hälfte des Häutungszyklus verwendet. Der Häutungszyklus wurde nach den Kriterien von Drach [9] und Adelung [5, 10] eingeteilt.

## Ergebnisse

Zunächst wurde die Wirkung von  $\beta$ -Ecdyson auf unbehandelte Tiere untersucht. Hierzu wurden Mehrfachinjektionen in Zeitabständen von jeweils 12, 24, 48 und 72 Stunden während der ersten Hälfte des Häutungszyklus an insgesamt 42 Tieren durchgeführt. In allen vier Versuchsgruppen bewirkten die Mehrfachinjektionen eine kurzfristige Beschleunigung des Regeneratwachstums von einer Stufe zur nächsten.

Diese beschleunigte Entwicklung wurde später aber durch eine entsprechende Verzögerung kompensiert, da im Vergleich mit den Kontrolltieren in keinem Fall eine vorzeitige Häutung erreicht werden konnte (s. Tab. I).

In der nächsten Serie wurden die Experimente in gleicher Weise an 24 Tieren wiederholt, bei denen jedoch das häutungshemmende Hormon vorher durch Ablation der Augensterne ausgeschaltet worden war. Das Versuchsergebnis unterscheidet sich nicht von dem vorherigen (Tab. I).

In der dritten Versuchsserie wurden 12 Tiere verwendet, denen zuvor im ersten Drittel des Häutungszyklus die Y-Organe entfernt worden waren und die infolgedessen keinerlei weitere Häutungsaktivitäten und somit auch keinen Fortschritt in der Regeneratbildung mehr zeigten. Eine Injektion von  $\beta$ -Ecdyson nach dem gleichen Injektionsplan wie vorher, bewirkte lediglich bei 47% der Y-organektomierten Tiere eine beginnende Regeneration aber keine weitere Häutungsentwicklung (Tab. I).

In der letzten Versuchsserie wurden Tiere verwendet, denen kurz nach der Y-Organ-Ektomie zusätzlich die Augensterne entfernt worden waren. Aufgrund dieses Eingriffes zeigten auch diese Tiere keinerlei weitere endogen induzierte Häutungsaktivitäten (Tab. I). Wurden bei solchen Tieren in gleicher Weise wie vorher Mehrfachinjektionen mit  $\beta$ -Ecdyson durchgeführt, so reagierten diese zu 95% mit Regeneratbildung. 20 dieser insgesamt 42 Tiere befanden sich zu Versuchsbeginn im Regeneratstadium 0, die anderen 22 Tiere im Stadium 2 bis 3 (vergl. Abb. 1). Bei allen diesen Tieren wurde ein Regeneratwachstum über mehrere Stufen erreicht, wobei die Injektionswirkung bis zu 20 Tage anhielt. Drei der zu Beginn des Versuches im Regeneratstadium 2 stehenden Tiere erreichten aufgrund der Injektion

Tab. I.

| Eingriff                               |           | Effekt   |
|--|-----------|--|
| ---                                    | Injektion | kurzfristige Beschleunigung der Regeneration;<br>keine vorzeitigen Häutungen     |
| Augensterneablation                    | Injektion | kurzfristige Beschleunigung der Regeneration;<br>vereinzelt vorzeitige Häutungen |
| Y-Organektomie                         | ---       | keine Regeneration;<br>keine Häutungen   |
| Y-Organektomie                         | Injektion | kurzfristige Wiederaufnahme der Regeneration zu 47%;<br>keine Häutungen          |
| Augensterneablation und Y-Organektomie | ---       | keine Regeneration;<br>keine Häutungen   |
| Augensterneablation und Y-Organektomie | Injektion | intensive langfristige Wiederaufnahme der Regeneration zu 95%, keine Häutungen   |

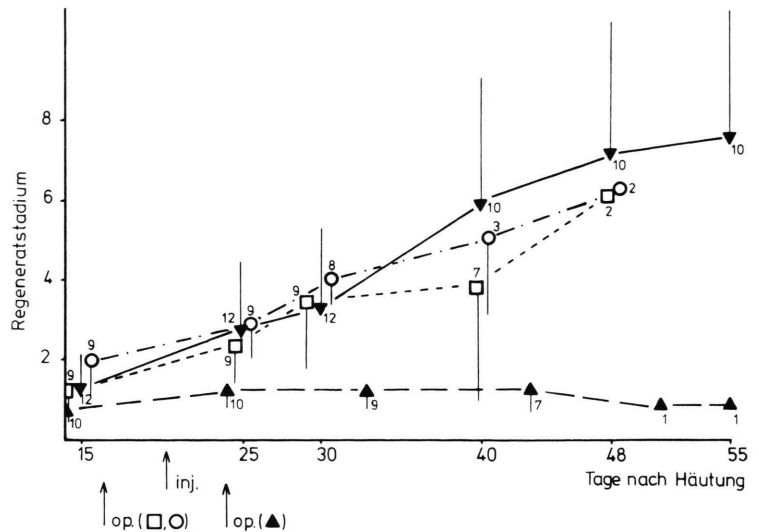
Abb. 1. Auslösung von Regeneratwachstum bei Krebsen ohne Y-Organ und Augensteile nach Injektion von  $\beta$ -Ecdyson

▼ — unbehandelte Tiere; ▲ — Augensteil/Y-organektomierte Tiere, nicht injiziert

□ — Augensteil/Y-organektomier-te Tiere,  $3 \times 5 \mu\text{g}$   $\beta$ -Ecdyson injiziert, je 12 Std.

○ — Augensteil/Y-organektomier-te Tiere,  $3 \times 5 \mu\text{g}$   $\beta$ -Ecdyson injiziert, je 48 Std.

op.: Zeitpunkt der Operation; inj.: Zeitpunkt der ersten Injektion. Symbole: Mittelwerte mit Angabe der Standardabweichung und der Anzahl der Tiere.



sogar das höchste Regeneratstadium. Keines der Tiere häutete sich jedoch.

## Diskussion

Wie die Ergebnisse zeigen, bewirken die Mehrfachinjektionen bei intakten und augensteielosen Tieren gemessen am Regeneratwachstum nur eine kurzfristige Beschleunigung der Häutungsvorbereitung. Diese wird dann sogar später durch eine entsprechende Verzögerung wieder kompensiert. Die Gründe für diesen geringen Effekt der Injektionen von Häutungshormon sind noch unklar. Denkbar ist, daß die Injektionen, obwohl in physiologischer Dosierung, einen zu massiven Eingriff in den Stoffwechsel des Krebses darstellen, oder aber, daß das Tier bestimmte hormonsensible Phasen durchläuft und die Injektionen deshalb nicht zum richtigen Zeitpunkt durchgeführt wurden, um wirksam zu werden. Dem widerspricht jedoch die Tatsache, daß bei Y-organ-augensteielosen Tieren die Injektionen zum gleichen Zeitpunkt einen signifikanten, größeren Erfolg hatten, wenn auch keine vollständige Häutung ausgelöst werden konnte. Da außerdem Y-organ-augensteielose Tiere die gleiche Wirkung zeigen, wenn sie zu einem späteren Zeitpunkt die Injektion erhielten, ist nicht anzunehmen, daß es bestimmte hormonsensible Phasen gibt. Allerdings rei-

chen die vorliegenden Befunde nicht aus, hierüber eine endgültige Feststellung zu treffen.

Bei lediglich Y-organ-ektomierten Tieren konnten durch Hormoninjektionen die vorbereitenden Häutungsprozesse nicht beschleunigt werden. Dies weist darauf hin, daß das häutungshemmende Hormon nicht nur sekretionshemmend auf das Y-Organ wirkt, sondern auch die Erfolgsorgane der Häutung beeinflusst. Dieser Befund unterstützt die Vermutung von Aiken [10], der aufgrund anderer Experimente zum gleichen Schluß kam.

Daß nach Injektion von  $\beta$ -Ecdyson in Y-organ-augensteielosen Tieren zwar eine deutliche und anhaltende Beschleunigung der Häutungsvorbereitungsprozesse einsetzt, aber niemals eine Häutung erreicht werden konnte, kann verschiedene Gründe haben: Einmal ist es möglich, daß die Hormondosierung nicht ausreichend war, zum anderen ist aber denkbar, daß für eine erfolgreiche Häutung noch ein anderes, bisher unbekanntes Prinzip wirksam werden muß. In diesem Fall könnte das  $\beta$ -Ecdyson bei den Krebsen nur für die häutungsvorbereitenden Prozesse allein verantwortlich sein. Möglich ist auch, daß die Häutung im engeren Sinne allein durch diesen anderen Faktor bewirkt wird und das Häutungshormon zu dieser Zeit andere Funktionen bei den Krebsen erfüllt, z. B. als Sexualpheromon [12]. Weitere umfangreiche Untersuchungen zur Klärung dieses Sachverhaltes sind notwendig.

- [1] L. M. Passano, *Am. Zoologist* **1**, 89–95 (1961).
- [2] L. M. Passano and S. Jyssum, *Comp. Biochem. Physiol.* **9**, 195–213 (1963).
- [3] E. S. Chang and J. D. O'Connor, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **74**, (2) 613–618 (1977).
- [4] D. E. Bliss, *Anat. Rec.* **120**, 742–743 (1954).
- [5] D. Adelung, *Helg. wiss. Meeresunters.* **22**, 66–119 (1971).
- [6] A. Willig, *Fortschr. Zool.* **22**, 18–24 (1974).
- [7] D. Adelung and A. Ponat, *Mar. Biol.* **44**, 287–292 (1977).
- [8] G. Echalié, *Ann. Sci. Nat. Ser.* **12**, Zool. Biol. Anim. I, 1–57 (1959).
- [9] P. Drach, *Ann. Inst. Océanogr. Monaco* **19**, 103–391 (1939).
- [10] K. D. Spindler, D. Adelung, and C. Tchernigovtzeff, *Z. Naturforsch.* **29 c**, 754–756 (1974).
- [11] D. E. Aiken, *Science* **164**, 149–155 (1969).
- [12] J. S. Kittredge and F. T. Takahashi, *J. Theor. Biol.* **35**, 467–471 (1972).