

Untersuchungen zur Häutungsphysiologie der dekapoden Krebse am Beispiel der Strandkrabbe *Carcinus maenas**

D. ADELUNG

Abteilung für Biologie der Universität Ulm; Ulm, Bundesrepublik Deutschland

ABSTRACT: Studies on the moulting physiology of decapod crustaceans as exemplified by the shore crab *Carcinus maenas*. Under constant laboratory conditions, juvenile shore crabs moult at fixed intervals which depend upon their body size. During one moult every crab exhibits increases of the same relative amounts, independent of its absolute size. Basing on the predictable duration of the intermoult period, the morphological changes in the structure of the cuticle and the development of limb-buds, the intermoult period could be divided into 21 different stages. After studying the moulting rhythm in constant milieu, the influence of the following exogenous and endogenous factors upon the moulting rhythm and growth of normal and of eye-stalkless individuals was investigated: temperature, photoperiod, loss of pereopods, feeding, and presence of larger specimens. From these investigations it became evident that the moulting rhythm is regulated by growth. The crabs are able to moult only after achieving a minimum of tissue growth. So long as this minimum growth is not achieved, a moult-inhibiting hormone is secreted and moulting is prevented. If the moult-inhibiting hormone is absent, moulting hormone is secreted and initiates a moult. Under dangerous conditions, the crabs are able to delay the next moult. Under unfavourable conditions they consume less food than normal. Therefore, the amount of tissue growth which is the necessary prerequisite for moulting is delayed, and continued release of moult-inhibiting hormone prevents the moult. Under conditions favourable for moulting, or demanding moult (e.g. after loss of many pereopods) the crabs accelerate the moult. Temperature influences the moulting rhythm by indirect effects on the metabolic rate. During further investigations, the variation of the following parameters were determined quantitatively: content of moulting hormone in whole crabs; content of aminoacids, protein, glucose, Na^+ , K^+ , Mg^{++} and Ca^{++} in the hemolymph; pH and osmotic pressure in the hemolymph; and Ca^{++} content in skeleton and whole crabs. All parameters mentioned – excepting pH and K^+ content of the hemolymph – vary characteristically during the intermoult period. The titre of moulting hormone has 4 different maxima. Of all parameters, only the content of aminoacids and protein in the hemolymph vary in the same way as the titre of the hormone. From these results the following conclusions are drawn: The moulting hormone not only initiates the moulting process, but controls it at several stages. Only protein metabolism seems to be under direct control of the moulting hormone which stimulates protein-synthesis. Chitin formation, regeneration, apolysis and ecdysis are indirectly controlled by the moulting hormone through protein metabolism. As in most of the other processes mentioned, the calcification of the new cuticle is not under the direct influence of the moulting hormone. The conclusion of DIGBY (1966) that calcification in crabs is an electrochemical process, is confirmed.

* Habilitationsschrift zur Erlangung der *venia legendi* für Zoologie an der Universität Gießen.

EINLEITUNG

Um wachsen zu können, müssen sich die Krebse ebenso wie die Insekten häuten. Das starre oder nur wenig dehnbare Außenskelett wird von Zeit zu Zeit abgeworfen und durch ein neues weiteres ersetzt. Das eigentliche Abstreifen der alten Kutikula, die Häutung im engeren Sinne, nimmt nur wenig Zeit (je nach Art fünf Minuten bis 24 Stunden) in Anspruch. Dagegen dauert die Häutung im weiteren Sinne mehrere Tage oder Wochen. Sie umfaßt sämtliche Vorgänge, die in irgendeiner Weise mit der Häutung zu tun haben, wie zum Beispiel die Ablösung der alten Kutikula von der Epidermis, die als Apolyse bezeichnet wird, die Sekretion einer neuen Kutikula und die Erhärtung dieser zunächst noch weichen Kutikula nach der Häutung. Alle diese Vorgänge werden durch Hormone gesteuert und sind mit zahlreichen Stoffwechselveränderungen verbunden. Entsprechend der Mechanik des Häutungsvorganges, bei der die Aufnahme von Wasser in das Körpergewebe eine große Rolle spielt, und der chemischen Zusammensetzung des Krebspanzers handelt es sich in erster Linie um Veränderungen des Mineral- und Wasserhaushaltes sowie des Kohlenhydratstoffwechsels. Die Häutung im weiteren Sinne ist ein vielfältig verflochtenes System von Veränderungen der physiologischen Abläufe im Körper, das die spezielle Bezeichnung Häutungsphysiologie rechtfertigt.

Die eingehenden Untersuchungen in den letzten 30 Jahren vor allem an dekapoden Krebsen haben einige häutungsphysiologische Prinzipien aufgeklärt, so die Auslösung der Häutungen durch das Häutungshormon und die Steuerung durch das häutungshemmende Hormon. Unklar ist dagegen, wie diese beiden Hormone zusammenwirken, ob das häutungshemmende Hormon nur die Ausschüttung des Häutungshormons verhindert, die Häutung also indirekt beeinflusst, oder ob es nicht vielmehr direkt in die Häutungsprozesse eingreift. Unklar ist weiterhin, auf welchem Wege die Ausschüttung des häutungshemmenden Hormons selber gesteuert wird, und welche Faktoren letztlich dafür verantwortlich sind. Schließlich gibt es nur vorläufige und unvollständige Angaben und Vermutungen über die Natur der stoffwechselphysiologischen Veränderungen, welche die Häutungen ermöglichen oder bedingen, und es ist ganz unbekannt, ob auch sie durch die erwähnten Hormone gesteuert werden.

In all diesen Punkten widersprechen die bisherigen Ergebnisse einander sehr häufig. Dieses rührt wahrscheinlich vor allem daher, daß verschiedene Probleme an verschiedenen Krebsarten untersucht wurden. Gerade bei Krebsen dürfen offensichtlich Befunde, die an einer Art gewonnen wurden, nicht ohne Berücksichtigung der besonderen Lebensweise auf andere Arten übertragen werden. Je nach ihrer Lebensweise verfügen die Krebse über besondere Mechanismen, welche Häutungen in für sie ungünstigen Bedingungen verhindern (vgl. BLISS 1956). Auch die Stoffwechselprozesse müssen zum Teil an extreme Umweltbedingungen angepaßt sein und dadurch die Veränderungen bei der Häutung noch mehr komplizieren. So müssen z. B. die Süßwasserkrebse über eine besonders leistungsfähige Osmoregulation verfügen, die Landkrebse gegen Wasserverlust geschützt sein und beide müssen Mineralien, die oft nur in Spuren vorhanden sind, absorbieren und in ihrem Körper anreichern und festhalten. In dieser sekundären Komplikation eignen sich also gerade diese biologischen Gruppen nicht als

Modellobjekte zur Untersuchung der Häutungsphysiologie, obwohl sie wegen ihrer größeren Widerstandsfähigkeit als Laborobjekte geeignet sind.

Bei den Meerestieren treten die bekannten Schwierigkeiten ihrer Haltung und Zucht im Binnenland auf. Sie sind empfindlich gegen Veränderungen in der Zusammensetzung ihres Milieus und gegen Temperaturänderungen und durchlaufen Larvenstadien, deren vollständige Aufzucht noch nicht im Binnenlabor gelungen ist.

Glücklicherweise gelang es in einer typischen marinen Küstenform, die eine vorübergehende Aussüßung des Wassers oder Trockenheit verträgt, der Strandkrabbe *Carcinus maenas* L., ein geeignetes, relativ widerstandsfähiges Objekt zu finden, dessen Aufzucht über viele Häutungen hinweg im Binnenlandlabor unter kontrollierten konstanten Bedingungen gelang (ADELUNG 1964).

Um Irrtümer durch Übertragung von an verschiedenen Arten gewonnenen Ergebnissen auszuschalten, sollten die oben angeschnittenen Fragen alle an diesem einen ausgewählten Modellobjekt untersucht und durch die an demselben Objekt gewonnenen früheren Ergebnisse ergänzt werden.

Während bei den Insekten im Verlauf der Häutungen zugleich die Metamorphose der Larve zur Imago erfolgt, die Häutungsphysiologie also zugleich durch die physiologische Steuerung der Metamorphose kompliziert ist, erfolgt bei *Carcinus maenas* wie bei allen marinen Dekapoden die Metamorphose auf einem sehr frühen Stadium, und es folgt eine lange Jugendperiode bis zur Geschlechtsreife, bei welcher die Häutungen und die mit ihr verbundenen morphologischen Veränderungen ebenfalls wieder durch überlagerte Vorgänge, die mit der Fortpflanzung zusammenhängen, kompliziert werden. Während dieser juvenilen Periode zwischen der Metamorphose und der Geschlechtsreife erfolgen bei *Carcinus maenas* zahlreiche Häutungen ohne weitere morphologische oder physiologische Veränderungen. Diese Häutungen erwiesen sich als der geeignete Angriffspunkt zur Analyse der Häutungsphysiologie (ADELUNG 1964).

Der äußere Verlauf der Häutungen von *Carcinus maenas* wurde von DRACH (1939) beschrieben, der die zyklische Natur dieser Vorgänge erkannte. Jeder Krebs durchläuft bei jeder Häutung den gleichen Zyklus morphologisch und physiologisch unterscheidbarer Phasen. Die einzelnen Häutungszyklen können direkt aufeinander folgen; dann durchläuft der Krebs den Zustand der sogenannten Diecdysis, oder die Häutungszyklen sind durch eine mehr oder weniger lang andauernde häutungsphysiologisch inaktive Phase voneinander getrennt, durch den Zustand der sogenannten Anecdysis. Wann es zu einer Anecdysis kommt, und wann diese beendet wird, hängt offensichtlich bei den verschiedenen Arten in verschiedener Weise von Umweltfaktoren ab (BLISS 1956, KNOWLES & CARLISLE 1956). Für die Juvenilhäutungen von *Carcinus maenas* wurde diese Abhängigkeit eingehend analysiert (BÜCKMANN & ADELUNG 1964).

Unter günstigen Umweltbedingungen wird die Anecdysis stark verkürzt, oder sie fällt ganz zugunsten einer vorübergehenden Diecdysis weg: Es kommt sofort nach Beendigung des einen Häutungszyklus zur Auslösung des nächsten. Wahrscheinlich steuert das Zentralnervensystem das auslösende System der Hormone: Das häutungshemmende Hormon wird in den neurosekretorischen Gehirnzellen gebildet, die den sogenannten X-Organ-Sinusdrüsenkomplex bilden (HANSTRÖM 1939; PASSANO 1951a, b; 1953, 1960, CARLISLE 1954, 1957). Es wirkt spezifisch auf die Häutungsdrüse, das

sogenannte Y-Organ, und hindert diese daran, das die Häutung auslösende Hormon Crustecdyson zu bilden oder auszuschütten. Zu einer Häutung kommt es erst, nachdem der Spiegel des häutungshemmenden Hormons in der Hämolymphe weit genug abgesunken ist, daß das Y-Organ sein Hormon ausschütten kann. Nach Ansicht der meisten Autoren hat das häutungshemmende Hormon allein die Aufgabe, das Y-Organ zu hemmen. Neuere Befunde von AIKEN (1969) deuten allerdings darauf hin, daß es auch direkt auf die Erfolgsorgane wirkt.

Die Häutungen werden jedenfalls nach den histologischen Untersuchungen und Verpflanzungsexperimenten von GABE (1953, 1956) und ECHALIER (1954, 1955) allein durch das vom Y-Organ produzierte Häutungshormon ausgelöst. Erst vor kurzem konnte die chemische Natur des Häutungshormons und seine Struktur aufgeklärt werden (KARLSON 1956b, HAMPSHIRE & HORN 1966). Es handelt sich um ein Steroidhormon, das dem Insektenhormon Ecdyson nahe verwandt ist, um das 20-Hydroxyecdyson. Das Crustecdyson kommt in geringen Mengen auch bei den Insekten vor und ist dort etwa dreimal so wirksam wie das Insektenhäutungshormon Ecdyson. Umgekehrt wird injiziertes Ecdyson von den Krebsen *in vivo* in Crustecdyson umgewandelt (KING & SIDALL 1969). Möglicherweise stellt es eine Vorstufe für das Crustecdyson dar.

Es wird allgemein angenommen, daß das Häutungshormon direkt auf die Erfolgsorgane bei der Häutung, also vor allem auf die Epidermis wirkt. Welches allerdings seine primären Wirkungen in der Epidermis sind, ist noch unklar. Ebenso war es bisher noch unklar, welche weiteren Organe von dem Häutungshormon direkt oder indirekt beeinflusst werden, welche Stoffwechselveränderungen es direkt oder indirekt auslöst, und ob es nur einmal, den ganzen Ablauf auslösend, oder mehrfach steuernd in den Häutungsprozeß eingreift.

Bisher ist über diesen Prozeß folgendes bekannt: Als einer der ersten klar erkennbaren Häutungsvorgänge löst sich die Kutikula von der Epidermis ab, und die Epidermis scheidet eine neue, zunächst sehr dünne Kutikula ab. Nach dieser Apolyse werden organische und anorganische Substanzen aus der alten Kutikula resorbiert und Reservestoffe aus der Mitteldarmdrüse mobilisiert.

Gleichzeitig bilden solche Krebse, die vor der Häutung Extremitäten verloren hatten, an der Wundstelle Regenerate aus, welche später bei der Häutung im engeren Sinne als neue funktionsfähige Extremitäten frei werden.

Kurz vor der Häutung stellen die Tiere die Nahrungsaufnahme ein, und schließlich kommt es unmittelbar vor der Häutung erneut zu starken Resorptionen an vorbestimmten Stellen der alten Kutikula. Gleichzeitig nehmen die Tiere größere Mengen von Seewasser durch den Magen auf, welches in die Hämolymphe und in die Gewebe gelangt. Dadurch wird ein starker Innendruck erzeugt, der die alte Kutikula an den stark resorbierten, präformierten Stellen aufsprengt, so daß sich das Tier aus der alten Kutikula befreien kann. Unmittelbar nach dieser Häutung im engeren Sinne ist die neue Kutikula völlig weich, und das Tier nimmt weiter Wasser auf und vergrößert dadurch sein Volumen.

Die Härtung der neuen Kutikula setzt erst nach einiger Zeit ein, verläuft dann aber sehr rasch. Der Panzer erstarrt in seiner neuen, größeren Form. Danach beginnt das Tier wieder Nahrung aufzunehmen. Im weiteren Verlauf wird das bei der Häu-

tung aufgenommene Wasser allmählich durch neugebildetes Gewebe ersetzt. Bei der eigentlichen Häutung findet also nur eine reine Volumenvergrößerung, aber kein echtes Wachstum statt. Dieses setzt erst später nach der Häutung ein. Die Dauer der geschilderten Vorgänge war bisher noch nicht festgestellt worden. Sie variiert mit der Körpergröße der Versuchstiere.

In der vorliegenden Arbeit wird der Gesamt Ablauf der Häutung im weiteren Sinne in drei Abschnitten untersucht, die sich aus dem natürlichen Verlauf ergeben:

Der erste Abschnitt befaßt sich mit den exogenen und endogenen Faktoren, die zur Auslösung der Häutungen führen. Dabei kann, auf die früheren Untersuchungen über die normale Häutungsfolge bei bekannten konstanten Bedingungen aufbauend, auch der Einfluß sinnesphysiologischer Faktoren auf die Häutungen erfaßt werden. Als methodische Grundlage zur Erfassung der die äußeren Veränderungen bedingenden hormonellen Änderungen im Körper war zur Bestimmung der Häutungshormonkonzentration, eine neue empfindliche Testmethode, der *Musca*-Test, entwickelt worden, der eine Hormonbestimmung auch bei Einzeltieren ermöglicht (ADELUNG & KARLSON 1969).

Im zweiten Abschnitt werden die stoffwechselphysiologischen Veränderungen während des Häutungsintervalles untersucht. Hierbei geht es vor allen Dingen um die Veränderungen im Wasser- und Mineralhaushalt, den Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsel. Als wichtige Vorgänge, die offensichtlich in enger Beziehung zur Häutungsphysiologie stehen, erweisen sich die Veränderungen in der Osmolalität und des pH-Wertes der Hämolymphe.

Der dritte Abschnitt befaßt sich mit der Kalzifizierung des Panzers nach der Häutung.

Die beiden letztgenannten Abschnitte führen zu unerwarteten Ergebnissen über die Beziehung zwischen dem pH-Wert des äußeren und des inneren Mediums und den Häutungsvorgängen.

MATERIAL UND METHODE

Hälterung der Tiere im Laboratorium

Die Hälterung der Strandkrabbe *Carcinus maenas* im Binnenlandlabor gelingt nach früheren Vorarbeiten (ADELUNG 1964) gut, und die Tiere erweisen sich als relativ widerstandsfähig.

Als Versuchstiere dienen Jungtiere von 10–20 mm Carapaxbreite, die im Freiland (schleswig-holsteinische Westküste) eingesammelt werden. Sie werden dann in großen Seewasserbehältern individuell in voneinander isolierten kubischen Behältern gehalten, die eine Kantenlänge von $7 \times 7 \times 7$ cm haben. In jeweils 100 l Seewasser werden 50–90 junge Krebse gehalten. Das Seewasser wird zur Reinigung ständig durch ein Kies-Aktivkohlefilter geleitet und dann gut belüftet durch eine Kreiselpumpe in die Aquarien zurückgepumpt. Wenn nicht anders angegeben, wurden die Tiere bei einer konstanten Versuchstemperatur von $25 \pm 1^\circ \text{C}$ gehalten. Bei dieser für

marine Tiere relativ hohen Temperatur entwickeln sich die Krebse sehr gut, ohne irgendwelche Anzeichen von Schädigungen zu zeigen. Allerdings muß stets eine maximale Belüftung gewährleistet sein. Vorteilhaft gegenüber niedrigeren Temperaturen ist die erhebliche Beschleunigung des Häutungsrythmus der Tiere.

Um eine möglichst gleichartige Ernährung zu gewährleisten, bekommen alle Tiere das gleiche Futter, nämlich das herauspräparierte Mantelfleisch lebender Miesmuscheln (*Mytilus edulis*). Wenn es die Versuchsbedingungen zulassen, zeigen die Tiere auch nach einer einjährigen Hälterung keinerlei Folgeerscheinungen einer einseitigen Ernährung. Die Tiere werden täglich einmal gefüttert und zweimal auf ihre Häutungen hin kontrolliert. Die tägliche Futtermenge wird so bemessen, daß jeder Krebs tagsüber noch Futter in seinem Kasten findet. Bei denjenigen Versuchen, bei welchen die Tiere bei Dunkelheit gehalten wurden, wurde die Fütterung und Kontrolle der Tiere bei schwachem Rotlicht durchgeführt.

Die Tiere werden nicht nur bei konstanter Temperatur und gleichmäßiger Ernährung, sondern auch unter gleichmäßigen Lichtbedingungen gehalten. Eine Hauptbeleuchtung wurde im Kurztagsrythmus (6 Std Licht; 18 Std Dunkelheit) automatisch ein- und ausgeschaltet. Während der Dunkelphase wurde der Zuchtraum nur von einer seitlich in Aquarienhöhe angebrachten Neonlampe schwach erhellt.

pH-Veränderungen des Seewassers

Der pH-Wert des natürlichen Seewassers liegt zwischen 8,0 und 8,6. Während die Versuchstiere bei einem pH-Wert des Seewassers von 8,0 bis 8,4 (im Mittel 8,2) gehalten werden, wurde in einigen Versuchen der pH-Wert des Seewassers auf 7,5 bzw. 6,4 eingestellt. Um die natürliche Alkalität des Seewassers aufzuheben, wurde dem Seewasser täglich eine geringe Menge 0,1 n HCl so lange zugegeben, bis der gewünschte pH-Wert eingestellt war. Der pH-Wert des eingestellten Seewassers wurde dann täglich zweimal überprüft und gegebenenfalls durch entsprechende Mengen 0,1 n Salzsäure bzw. 0,1 n Natronlauge korrigiert. Auch das natürliche unveränderte Seewasser mußte mehrmals wöchentlich in dieser Weise korrigiert werden, wenn die Aquarien mit sehr vielen Krebsen besetzt waren. Die Krebse überstanden sowohl einen schrittweisen als auch einen plötzlichen pH-Wechsel des Außenmediums ohne erkennbare Schäden.

Quantitative Extraktion und Bestimmung des Häutungshormons

Die Extraktions- und Bestimmungsmethoden für das Häutungshormon sind bereits an anderer Stelle ausführlich beschrieben worden (ADELUNG 1966, 1969b, ADELUNG & KARLSON 1969). Es liegt ihnen folgendes Prinzip zugrunde: Zur Extraktion des Häutungshormones werden die Versuchstiere einzeln homogenisiert und aus dem wäßrigen Überstand des Homogenates, das vorher enteiweißt worden ist, das Hormon mit n-Butanol ausgezogen. Dieser Extraktionsprozeß wird viermal wiederholt und an-

schließend werden die vereinigten Butanol-Fractionen durch Vakuum-Destillation schonend zur Trockene gebracht. Der dann meist nur noch geringfügig verunreinigte Hormonextrakt kann in Wasser gelöst und zur quantitativen Hormonbestimmung verwendet werden.

Der zur Zeit empfindlichste quantitative Test für Häutungshormon ist der biologische Test mit *Musca domestica* (ADELUNG & KARLSON 1969). Mit diesem Test können noch 10 ng reines Hormon sicher quantitativ bestimmt werden. Die Testlösung wird in die Abdomina verpuppungsbereiter Maden der Stubenfliege injiziert, deren eigene Hormondrüse vorher durch Abschnürung des Vorderkörpers ausgeschaltet worden ist. Entsprechend der Aktivität der Testlösungen verpuppen sich die Testtiere entweder überhaupt nicht, teilweise oder ganz. Nach dem Grad der Verpuppung läßt sich mit Hilfe einer Eichkurve die Aktivität der zu prüfenden Substanz ermitteln und in die entsprechende Menge reinen Hormons umrechnen.

Bestimmung des Frischgewichtes und des Trockengewichtes der Krebse

Zur Bestimmung des Frischgewichtes wurden die Krebse ungefähr eine halbe Stunde vor der Wägung aus dem Wasser genommen und in trockene Petrischalen gesetzt. Unmittelbar vor der Wägung wurden die Tiere mit einem Handtuch abgetrocknet und auf einer Feinwaage ($1/10$ mg Meßgenauigkeit) gewogen. Dieser Messung haftet ein relativ großer methodischer Fehler an, weil die Tiere in ihrem Kiemenraum, auch nach dem Abtrocknen, eine unbekannte aber relativ große Wassermenge behalten.

Wesentlich genauer ist die Trockengewichts-Bestimmung. Dazu wurden die vorher durch einen Kälteschock getöteten Tiere für 24 Std in einem Thermostaten bei 100° C getrocknet. Zur Trocknung wurden die Tiere auf den Rücken gekehrt, um ein Auslaufen der Körperflüssigkeit zu verhindern. Die trockenen Tiere wurden dann in der gleichen Weise wie vorher gewogen.

Quantitative Bestimmung von Eiweiß, Reststickstoff und Glucose in der Hämolymphe

Zur Bestimmung des Proteins und Rest-N-Gehaltes wurde eine bestimmte Menge Hämolymphe (100–150 μ l) entnommen und mit 1 ml 10 % Trichloressigsäure zur Denaturierung des Proteins vermischt. Dann wurde voneinander getrennt der Stickstoffgehalt des abzentrifugierten ausgefällten Proteins und des Überstandes nach dem üblichen Kjeldahl-Verfahren in einer Mikroapparatur bestimmt. Als Vorlage diente Borsäure und zur Rücktitration wurde 0,1 n Schwefelsäure verwendet. Aus dem Stickstoffgehalt wurde dann der Proteingehalt pro Liter berechnet.

Zur Blutzuckerbestimmung wurde den Versuchstieren jeweils 100 μ l Hämolymphe entnommen und mit 1,0 ml einer 0,3 % Uranylacetatlösung zur Enteiweißung vermischt. Bei jeweils 0,2 ml des Überstandes wurde dann mit Hilfe eines Testsatzes

der Fa. MERCK der Glucosegehalt der Hämolymphe bestimmt. Die Bestimmung beruht darauf, daß das zugesetzte Enzym Glucoseoxydase die in der Lösung vorhandene Glucose oxydiert. Dabei wird H_2O_2 freigesetzt, das durch Reduktion des Farbstoffes Dianisidin eine Farbänderung der Lösung hervorruft. Die damit verbundene Extinktionsveränderung wurde in einem ZEISS-Photometer gemessen. Durch Vergleich mit einer Glucose-Standard-Lösung wurde der Glucosegehalt der Probe berechnet.

Bestimmung des Na-, K-, Ca- und Mg-Gehaltes der Hämolymphe

Die Natrium-, Kalium- und Calcium-Bestimmungen wurden mit einem Flammenphotometer der Fa. NETHELER & HINZ an Proben von jeweils 20 bis 80 μ l Hämolymphe durchgeführt. Für die Kalium- und Calcium-Bestimmungen wurde die Hämolymphe mit destilliertem Wasser auf 2 ml, für die Natrium-Bestimmung auf 25 ml aufgefüllt. Zum Vergleich wurden stets Standard-Lösungen mitgemessen. Als Brenngas diente Acetylen, das für die Kalium- und Natrium-Bestimmungen auf einen niedrigeren Brenndruck eingestellt wurde.

Der Magnesium-Gehalt der Hämolymphe wurde mit einem Testsatz der Fa. MERCK durchgeführt (Mercko-Test Nr. 3338). Die Reaktion beruht auf einem Farbumschlag, der in einem festen Verhältnis zu der in der Probe enthaltenen Menge Magnesium steht. Aus der Extinktion der Probelösung und einer Standard-Vergleichslösung, die in einem Eppendorf-Photometer gemessen wurden, kann der Magnesium-Gehalt der zu untersuchenden Lösung berechnet werden. Für die Magnesium-Bestimmungen wurden jeweils 80 μ l Hämolymphe verwendet.

Es wurde versucht, möglichst viele der beschriebenen serologischen Bestimmungen an der Probe aus einem Tier durchzuführen. Leider war dies wegen der geringen Menge Hämolymphe, die aus den Tieren entnommen werden konnte, nur bei sehr großen Tieren möglich.

Bestimmung des Gesamt-Ca-Gehaltes der Tiere und des Ca-Gehaltes der Kutikula und der Exuvie

Um den Calcium-Gehalt der Tiere insgesamt zu bestimmen, wurden die getöteten Tiere, nachdem ihr Trockengewicht bestimmt worden war, in möglichst wenig, heißer konzentrierter Salzsäure aufgelöst. Die Lösung wurde dann mit Natronlauge neutralisiert und eine Probe dieser Lösung zur flammenphotometrischen Calcium-Bestimmung verwendet.

Um den Calcium-Gehalt der Kutikula zu bestimmen, wurden die Tiere, nachdem vorher ihr Trockengewicht bestimmt worden war, mit heißer 5%o-Kalilauge so lange behandelt, bis das Skelett völlig von Geweberesten befreit war. Das Skelett wurde dann mit dest. Wasser ab gespült, bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und anschließend gewogen. Danach wurde das Skelett in wenig konzentrierter Salzsäure

aufgelöst, die Lösung anschließend mit Natronlauge neutralisiert und mit destilliertem Wasser zur flammenphotometrischen Calcium-Bestimmung verdünnt.

Die von den Tieren abgeworfenen Exuvien wurden bei 100° C getrocknet, gewogen und anschließend in der gleichen Weise wie die von Geweberesten befreite Kutikula zur Calcium-Bestimmung behandelt.

Bestimmung des pH-Wertes der Hämolymphe

Eine direkte pH-Bestimmung der Hämolymphe am lebenden Tier ist aus technischen Gründen nicht möglich. Daher wurde den Tieren jeweils 100–150 μ l Hämolymphe mit einer Glasspritze entzogen. Die Probe wurde sofort direkt, ohne mit Luft in Berührung zu kommen, in eine auf Durchlauf eingerichtete Mikro-Elektrode der Fa. BECKMANN langsam injiziert und der pH-Wert auf einem angeschlossenen pH-Meter abgelesen.

Bestimmung der Osmolalität der Hämolymphe

Die Bestimmung der osmotischen Wirksamkeit der Hämolymphe wurde mit einem Osmometer der Fa. KNAUER durchgeführt. Verwendet wurden Mikro-Meßbecher, die für eine maximale Füllung von 150 μ l vorgesehen sind. Die Hämolymphe wurde in der oben beschriebenen Weise aus den Versuchstieren gewonnen und 50 μ l davon in das Reaktionsgefäß eingeführt und mit 50 μ l bidestilliertem Wasser vermischt. Die Verdünnung der Hämolymphe ist aus zwei Gründen erforderlich: (1) kann die unverdünnte Hämolymphe wegen ihres hohen osmotischen Wertes nur in einem Bereich gemessen werden, in dem die Zahlenablesung sehr ungenau ist, und (2) wird durch den relativ hohen Eiweißgehalt der unverdünnten Hämolymphe oft das Gefrieren verhindert. Bei der angegebenen Verdünnung konnte dagegen regelmäßig ein Gefrieren ausgelöst werden. Vorversuche haben gezeigt, daß die Verdünnung den osmotischen Wert der Hämolymphe nicht in meßbarem Maße verändert.

Mit Ausnahme der pH-Messungen wurden für alle anderen hier besprochenen Bestimmungen für jeden Meßpunkt mindestens 10 Einzelmessungen an verschiedenen Tieren durchgeführt. Zur statistischen Sicherung der Meßpunkte gegeneinander wurde der t-Test verwendet. Wegen des einheitlichen Ergebnisses wurden bei der pH-Messung jeweils nur fünf Werte pro Meßpunkt bestimmt.

ERGEBNISSE

Die Auslösung von Häutungen

Morphologische Veränderungen während eines Häutungszyklus

Physiologisch betrachtet beginnt jedes Häutungsintervall mit der Auslösung der Häutung und endet unmittelbar vor der Auslösung der nächsten Häutung. Da aber die Häutungsauslösung selbst durch kein sichtbares Merkmal gekennzeichnet ist, ist es

für das praktische Arbeiten günstiger, das Häutungsintervall mit oder unmittelbar nach dem markanten Ereignis der Häutung im engeren Sinne beginnen zu lassen. In dem Häutungsintervall lassen sich verschiedene Phasen unterscheiden, die bei den einzelnen Arten verschieden stark ausgeprägt sind. Daher ist es notwendig, für jede Art die verschiedenen Phasen besonders zu beschreiben.

Bei der Strandkrabbe *Carcinus maenas* ist das Skelett unmittelbar nach der Häutung völlig weich. Das Tier kann sich deshalb nur im Wasser fortbewegen. Während dieser Zeit nimmt der Krebs ständig über den Magen Wasser in sein Körperinneres auf (DRACH 1939). Eigene Beobachtungen zeigten, daß diese Phase je nach Größe der Tiere 1–2 Std dauert. Dann wird die Wasseraufnahme eingestellt und die Kutikula beginnt sich zu härten. Dieser Sklerotisierungsprozeß dauert 1–2 Tage und läuft in den verschiedenen Körperregionen verschieden schnell ab. Daher kann das Fortschreiten der Härtung gut als Einteilungsprinzip für die Stadien in diesem Abschnitt des Häutungsintervalles verwendet werden. Erst wenn das Außenskelett wieder eine gewisse Festigkeit erreicht hat, nimmt das Tier erstmals seit Beginn der Häutung wieder Nahrung zu sich. In der folgenden Zeit wird die Kutikula durch Einlagerung neuer Chitinschichten verstärkt. Damit sind alle Prozesse abgeschlossen, die mit der vorangegangenen Häutung in direktem Zusammenhang stehen. Dieser Abschluß ist äußerlich nicht erkennbar. Seine Beendigung ist mit Hilfe der Regenerate amputierter Gliedmaßen möglich. Es hängt von der Größe der Tiere und der Temperatur ab, wann dieser Abschluß erfolgt. Bei 25° C ist er 4–7 Tage nach der Häutung erreicht. Bei normalen Tieren vergeht dann ein mehr oder weniger langer Zeitraum ohne irgendwelche äußerlichen Veränderungen. Erst unmittelbar vor der nächsten Häutung lassen sich wieder morphologische Veränderungen feststellen. Bei solchen Tieren aber, die kurze Zeit nach der letzten Häutung ein oder mehrere Extremitäten verloren haben, beginnen unmittelbar nach dem Ende des beschriebenen Häutungsprozesses Regenerate auszukeimen. Da die Regeneratbildung, wie spätere Messungen zeigten, synchron mit den physiologischen Prozessen der Häutungsvorbereitung verläuft und die Regenerate charakteristische Entwicklungsstadien durchlaufen, können diese als gutes Einteilungsprinzip für die Stadien des Zwischenhäutungsintervalles während derjenigen Zeit dienen, in der sonst an den Tieren keine morphologischen Veränderungen zu erkennen sind.

Unter unseren Versuchsbedingungen setzt je nach Größe der Tiere die Regeneratbildung 4–7 Tage nach der letzten Häutung ein. Sie beginnt damit, daß sich an den Abbruchflächen der verbliebenen Präcoxen kleine Hügel emporwölben. Diese wachsen dann in der folgenden Zeit rasch heran. Die Regenerate werden in den häutigen Regeneratsäckchen sofort gegliedert angelegt. Nachdem sie ca. 80% ihrer endgültigen Größe erreicht haben, beginnen sich die bis dahin farblosen Regenerate zu pigmentieren. Zunächst treten nur vereinzelt grüne Chromatophoren auf. Sie nehmen aber schnell an Zahl zu. Die Regenerate sehen während dieser Zeit grün aus. Danach werden schwarze Chromatophoren ausgebildet und rufen eine dunkelgrüne bis schwarze Färbung hervor. Im Anschluß daran, unmittelbar vor der Häutung, verändert sich das Aussehen der Regenerate erneut. Sie bekommen eine gelbbraune Farbe. Das beruht darauf, daß die nach außen durchscheinende, normalerweise farblose Hämolymphe sich plötzlich gelbrot umfärbt.

Dieser Farbwechsel erfolgt $\frac{1}{2}$ –1 Tag vor der folgenden Häutung. Gleichzeitig bekommt der Carapax ein anderes Aussehen. Seine normalerweise kräftig dunkelgrüne Färbung wird stumpf und grau. Spätestens zu diesem Zeitpunkt hören die Tiere auf zu fressen. Etwa 12 Std später beginnen die Pleuralnähte auseinanderzuklaffen. Dieses beruht darauf, daß hier besonders starke Resorptionen stattfinden. In dem Spalt wird die neue Kutikula sichtbar. Wenig später hören die Tiere auf, sich zu bewegen, und sie beginnen, große Mengen Seewasser durch den Magen in das Körperinnere aufzunehmen. Der dadurch bedingte Überdruck führt zu einer Aufblähung des gesamten Körpers. Der alte Panzer springt mit Ausnahme eines scharnierartigen Verschlusses in der Mundregion entlang der Pleuralnähte auseinander, und das Tier zieht sich unter rhythmischen Muskelkontraktionen der Gliedmaßen nach hinten aus der alten Haut heraus. Dieser eigentliche Prozeß, die Häutung im engeren Sinne, dauert nur 5–30 min.

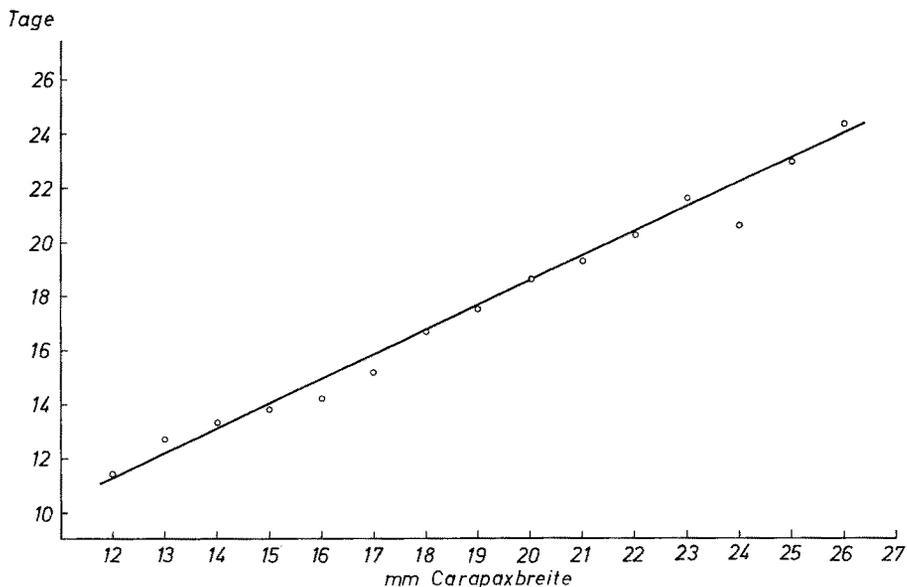


Abb. 1: Die Häutungsintervalldauer beinloser Individuen von *Carcinus maenas* im Kurztag bei 25° C. Jeder Punkt stellt den Mittelwert von 12–44 Einzelwerten dar. Die Abweichung des mittleren Fehlers vom Mittelwert beträgt maximal 5 %

Der Häutungsrythmus unter konstanten Umweltbedingungen

Eigene frühere Untersuchungen des Häutungsrythmus (ADELUNG 1964, BÜCKMANN & ADELUNG 1965) haben gezeigt, daß sich die Krebse unter konstanten Umweltbedingungen, gleichmäßiger Ernährung, einem festen Tag- und Nachtwechsel und konstanter Temperatur in bestimmten Zeitintervallen häuten. Diese Intervalle verlängern sich mit zunehmender Größe der Tiere in regelmäßiger Weise. Damit ist es mög-

lich, unter konstanten Umweltbedingungen den nächsten Häutungstermin der Tiere auf ± 4 Tage genau vorherzusagen, wenn ihre Größe und ihr letzter Häutungstermin bekannt sind. So häutet sich beispielsweise ein 10 mm breites Tier bei 30° C durchschnittlich 12 Tage nach der letzten Häutung erneut, ein 20 mm breites Tier dagegen erst nach 21 Tagen. Dieser Häutungsrythmus ist unabhängig vom Geschlecht der Tiere oder etwaigen endogen bedingten periodischen Rhythmen.

Neue Untersuchungen mit beinamputierten Tieren, die wie erwähnt eine gute Stadieneinteilung des Häutungsintervalles ermöglichen, und bei denen der Häutungsrythmus besonders einheitlich ist, bestätigen diese Gesetzmäßigkeiten. Abbildung 1 zeigt die bei ihnen gefundene Abhängigkeit der Intervalldauer von der Körpergröße.

Während bei den normalen Tieren unter konstanten Umweltbedingungen die Häutungsintervalle mit der Körpergröße zunehmen, bleibt der relative Größenzuwachs, den sie bei jeder Häutung erfahren, unabhängig von der Körpergröße gleich. Normalerweise nimmt die Carapaxbreite unter unseren Versuchsbedingungen bei jeder Häutung um 27–29 % zu. Unter optimalen Bedingungen beträgt der Größenzuwachs 30–31 % und unter sehr ungünstigen Umweltbedingungen nicht mehr als 20 bis 23 %. Neuerdings konnten mehrfach bei kranken oder geschädigten Tieren Häutungen mit noch kleinerem Größenzuwachs beobachtet werden. Diese Tiere sterben aber regelmäßig kurze Zeit nach der Häutung.

Diese Befunde zeigen, daß normalerweise die Tiere sich immer dann häuten, wenn ein bestimmter Wachstumszustand erreicht ist, der einen bestimmten Größenzuwachs garantiert. Der wichtigste „Schrittmacher“ für den Häutungsrythmus sind demnach Wachstumsvorgänge.

Der Einfluß endogener und exogener Faktoren auf die Häutungsauslösung

Aufbauend auf diesen Ergebnissen über den Häutungsrythmus unter konstanten Bedingungen, wurde durch Variation der einzelnen Außenfaktoren ihr Einfluß auf die Auslösung der Häutungen untersucht. Wie erwähnt, scheint gerade der Einfluß von Außenfaktoren bei den verschiedenen Arten je nach ihrer Lebensweise sehr verschieden zu sein (BLISS 1954a, 1956, PASSANO 1960). Wir prüften folgende Faktoren daraufhin, ob sie eine Häutungsauslösung fördern oder hemmen und über welche Mechanismen sie ihren Einfluß ausüben (ADELUNG & BÜCKMANN 1964, BÜCKMANN & ADELUNG 1965, ADELUNG 1964, 1969a).

Aus den damaligen Ergebnissen geht folgendes hervor: Die Temperatur beeinflusst die Dauer der Häutungsintervalle, nicht dagegen den Größenzuwachs bei der Häutung. Wir haben den Häutungsrythmus unserer Strandkrabben bei 10° C, 20° C und 30° C geprüft. Bei 10° C häuten sich z. B. 15 mm breite Tiere nur im Abstand von Monaten. Bei 20° C beträgt das durchschnittliche Häutungsintervall für ein gleich großes Tier 20 Tage und bei 30° C nur noch 17 Tage. Durch die Temperatur wird aber nicht nur die Länge des Häutungsintervalles beeinflusst. Je kälter es ist, desto geringer ist die Bewegungsaktivität und die Nahrungsaufnahme der Krebse.

Dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß die Temperatur den Häutungsrythmus dadurch beeinflusst, daß sie ganz allgemein den Stoffwechsel und damit das Gewebe-

wachstum beschleunigt oder verlangsamt. Offensichtlich muß unabhängig von der Temperatur stets der gleiche Wachstumsbetrag erreicht sein, bevor eine Häutung ausgelöst wird.

Das **L i c h t** beeinflusst den Häutungsrythmus nur geringfügig. Am stärksten wirkt sich Dauerbeleuchtung aus. Sie verzögert den Häutungsrythmus besonders bei größeren Tieren mit über 18 mm Carapaxbreite. Gegenüber Tieren dieser Größe, die im Kurztag gehalten werden, beträgt die Verzögerung eine Woche und mehr. Außerdem streut die individuelle Häutungsintervalldauer der Tiere bei Dauerlicht erheblich.

Dagegen häuten sich die Tiere am einheitlichsten und auch in den kürzesten Zeitabständen, wenn sie unter Kurztagsbedingungen gehalten werden, d. h. einem Licht-Dunkel-Wechsel von 8 zu 16 Std.

Tiere, die bei Dauerdunkel, einem 12:12-Stunden-Tag oder Langtag (Licht-Dunkel-Wechsel 16:8 Std.) gehalten werden, haben eine etwas längere Häutungsintervalldauer und eine etwas größere individuelle Streubreite als solche, die bei Kurztag gehalten werden.

Interessanterweise unterscheiden sich die bei verschiedenen Lichtbedingungen gehaltenen Tiere auch in ihrem Größenzuwachs voneinander, und zwar stets in der Weise, daß die Tiere mit dem längeren Häutungsintervall den kleineren Größenzuwachs erfahren. Während die bei Dauerlicht gehaltenen Tiere nur durchschnittlich 26 % an linearer Größe bei der Häutung zunehmen, liegt der Größenzuwachs bei den Normal- und den Langtagtieren bei 28 % und bei den unter Kurztagsbedingungen gehaltenen Tieren bei 30 %. Diese Unterschiede sind statistisch signifikant.

Nach diesen Befunden ist der Kurztag die optimale Lichtbedingung für die Entwicklung der Strandkrabbe. Diese Tiere weisen den schnellsten Häutungsrythmus, den stärksten Größenzuwachs und die geringste individuelle Streuung auf. Deshalb wurden in den weiteren Versuchen, wenn nicht anders erwähnt, die Tiere stets unter Kurztagsbedingungen gehalten.

Auch die **E r n ä h r u n g** beeinflusst wie die bisher besprochenen abiotischen Faktoren die Häutungsintervalldauer erheblich, den Größenzuwachs bei jeder Häutung aber nur geringfügig. Versuchstiere, welche täglich nur die halbe Nahrungsmenge erhielten, die sie normalerweise aufnehmen können, häuten sich in wesentlich größeren Zeitintervallen als voll ernährte Tiere. So häuten sich z. B. 15 mm breite Tiere, die nur mit der halben normalen Nahrungsmenge ernährt wurden, bei 30° C erst nach durchschnittlich 28 Tagen, die gleich großen voll ernährten Tiere dagegen schon nach 17 Tagen. Der lineare Größenzuwachs vermindert sich aber nur von 28 % auf 25 %.

Dieses Ergebnis bestärkt die Annahme, daß die Tiere sich immer erst dann häuten können, wenn vor der Häutung ein bestimmter Wachstumsbetrag erreicht worden ist, der eine bestimmte Größenzunahme bei der Häutung erlaubt. Da die Tiere zu diesem Wachstum eine bestimmte Nahrungsmenge aufnehmen müssen, ist es natürlich, daß weniger gut ernährte Tiere diesen Betrag entsprechend später erreichen.

Dieser Hypothese entspricht, daß sich die Tiere bei völligem Nahrungsentzug überhaupt nicht häuten. Bei 20° C Zuchttemperatur sterben die Tiere durchschnittlich 32 Tage nach Beginn des Nahrungsentzuges.

Wenn die Krebse mit Artgenossen auf einem engen Raum, im vorliegenden Fall in einem Zuchtbehälter zusammengehalten werden, so beeinflussen die Partner gegen-

seitig ihren Häutungsrythmus je nach ihrer Größe verschieden. Werden zwei Tiere in einem Zuchtbehälter zusammengesetzt, von denen das eine wesentlich größer als das andere ist, so häutet sich das größere Tier mit normalen Häutungsintervallen. Das kleinere Tier zeigt dagegen einen deutlich verzögerten Häutungsrythmus. Häutet sich dann das kleinere Tier schließlich, so wird es in sehr vielen Fällen von dem größeren Partner angefallen, da die Krabse auch unter optimalen Ernährungsbedingungen zum Kannibalismus neigen. Sie können aber offenbar den Artgenossen nur dann anfallen, wenn dieser nach der Häutung völlig weich und damit schutz- und wehrlos ist. Auch der Größenzuwachs der kleinen Partner ist mit 22 %–23 % signifikant kleiner, als derjenige entsprechender Kontrolltiere, bei denen er 28 % beträgt.

Niemals konnte beobachtet werden, daß ein größeres Tier von einem kleineren Artgenossen bei der Häutung angefallen wird. Für den größeren Partner ist es offensichtlich nicht gefährlich, sich in Anwesenheit kleinerer Artgenossen zu häuten.

Werden zwei gleich große Tiere zusammengehalten, so tritt nur gelegentlich eine Verzögerung auf. Dem entspricht es, daß für diese Tiere die Gefahr, vom Partner angefallen zu werden, wesentlich geringer ist. Der Einfluß der Artgenossen auf den Eintritt der Häutung entspricht also der tatsächlichen Gefährdung.

Der Größenzuwachs bei den Häutungen von gemeinsam gehaltenen gleich großen Tieren unterscheidet sich nicht von demjenigen isoliert gehaltener Tiere. Der Größenzuwachs größerer Partner liegt merkwürdigerweise sogar über der durchschnittlichen Größenzunahme isoliert gehaltener Tiere.

Ein deutlicher Effekt der Artgenossen auf den Häutungsrythmus ist also nur bei den jeweils kleineren Tieren zu finden. Um festzustellen, auf welche Weise die Krabse einander wahrnehmen und ihre gegenseitige Größe abschätzen, wurden kleine und große Tiere zusammen bei völliger Dunkelheit gehalten. Auch hier war in den meisten Fällen die Häutung der kleineren Tiere verzögert. In einem anderen Experiment wurden die kleinen und großen Tiere zwar isoliert gehalten, aber ihre benachbarten Zuchtbehälter hatten Glaswände, und die Tiere konnten sich sehen. Auch bei diesem Versuch zeigten einige der kleinen Tiere eine deutliche Häutungsverzögerung. Von 41 gemessenen Häutungsintervallen waren neun statistisch signifikant länger als diejenigen der Tiere, die unter gleichen Bedingungen gehalten wurden, aber ihre Nachbarn nicht sehen konnten. Das bedeutet, daß für rund 25 % der Tiere bereits der Anblick eines größeren Artgenossen genügt, um ihre Häutung zu verzögern.

Während bei den kleinen Krebsen, die ihre größeren Partner nur sehen bzw. fühlen können, die Häutungsauslösung nicht regelmäßig verzögert wird, ist dies regelmäßig der Fall, wenn beide Faktoren zusammenwirken. Diese Experimente beweisen, daß Umweltfaktoren die Entwicklung auf dem Wege über Sinneswahrnehmungen steuern können.

Der Verlust mehrerer Gliedmaßen beeinflusst den Häutungsrythmus in mehrfacher Hinsicht. In Übereinstimmung mit den Befunden von BLISS (1954, 1956) an *Gecarcinus lateralis* sind auch bei der Strandkrabbe die Häutungsintervalle verkürzt, wenn sie kurze Zeit nach der letzten Häutung mehrere Beine verloren hat. Die Beschleunigung der Häutungen kommt aber nur zur Geltung, wenn die Tiere mehr als fünf ihrer acht Schreitbeine verloren haben, also deutlich in ihrer Bewegungsfreiheit eingeschränkt sind. In unseren Experimenten wurden den Tieren sieben der acht

Schreitbeine amputiert. Diese Tiere werden im folgenden als „beinlose“ Tiere bezeichnet. Der Effekt besteht nicht nur darin, daß sich die Tiere wesentlich schneller häuten (vgl. Abb. 1), sondern auch darin, daß die Streuung der individuellen Häutungsdauer wesentlich geringer ist. Sie beträgt nur noch 50 % derjenigen von Tieren, die alle Beine haben.

Bei den bisher geschilderten Befunden nahmen die Tiere nach einem kürzeren Häutungsintervall stärker an Größe zu als entsprechende Tiere mit einem längeren Häutungsintervall. Im Gegensatz dazu ist bei den beinlosen Tieren der Größenzuwachs trotz der verkürzten Häutungsintervalle wesentlich geringer als bei den normalen Tieren. Der Zuwachs betrug im Mittel nur 22 %. Man muß daher annehmen, daß die beinlosen Tiere sich „vorzeitig“ häuten, d. h. bevor sie das normalerweise zur Häutung erforderliche Wachstum erreicht haben. Das hat für die Krebse den Vorteil, daß sie schneller ihre Bewegungsfreiheit wiedererlangen, da die Regenerate bei der Häutung wieder funktionsfähig werden.

Das Ergebnis zeigt, daß die Abhängigkeit der Häutung vom erreichten Größenzuwachs, die sich in allen bisherigen Versuchsserien bestätigt hatte, nicht unter allen Umständen streng gilt. Offensichtlich gibt es einen Mechanismus, der in bestimmten Notlagen eine Häutung unabhängig vom Wachstumsstand auslösen kann.

Da die verkürzte Häutungsintervalldauer und die geringe Streubreite für das Arbeiten mit den Tieren von wesentlichem Vorteil ist, wurden die stoffwechselphysiologischen Untersuchungen nur an „beinlosen“ Tieren durchgeführt.

Die hormonale Steuerung der Häutung

Das häutungshemmende Hormon

Wie bereits erwähnt, wird der Häutungsrythmus der dekapoden Krebse offenbar von zwei Hormonen bestimmt, dem häutungshemmenden Hormon und dem Häutungshormon. Das häutungshemmende Hormon wird in dem sogenannten X-Organ-Sinusdrüsen-Komplex gebildet, der bei *Carcinus maenas* wie bei den meisten anderen Augentiele tragenden Krebsen in den Augentielen liegt. Nach allgemeiner Ansicht besteht die Aufgabe des häutungshemmenden Hormones vor allem darin, die Produktion von Häutungshormon zu verhindern.

Wie eben gezeigt wurde, beeinflussen mehrere Außenfaktoren den Häutungsrythmus von *Carcinus maenas*, die wenigstens zum Teil durch spezifische Sinnesorgane wahrgenommen werden und damit über das Zentralnervensystem wirken. Dieses beeinflußt wiederum die Tätigkeit des Hormonsystems. In welcher Weise das geschehen könnte, darüber geben Ausschaltungsexperimente einen gewissen Aufschluß. Der Sinusdrüsen-X-Organ-Komplex und damit das häutungshemmende Hormon wird durch Abschneiden der Augentiele ausgeschaltet (ADELUNG 1964). Die Operation hat zur Folge, daß alle Krebse sich völlig unabhängig von ihrer Größe in gleichen Abständen häuten. Dies beweist, daß der Einfluß der Körpergröße auf die Häutungsintervalldauer vom Zentralnervensystem über die Abgabe des häutungshemmenden Hormones gesteuert wird. Sie ist also eine spezifische Folge eines komplizierten zentralnervösen

Mechanismus und keineswegs eine rein mechanische Folge irgendwelcher Materialanreicherung.

In bezug auf den Größenzuwachs bei der Häutung kommt es zu einem Nebeneffekt der Operation, bei der auch ein den Wasserhaushalt regulierendes Hormon ausgeschaltet wird. Das Fehlen dieses Hormones führt dazu, daß die Krebse bei der Häutung übermäßig Wasser aufnehmen und ihren frisch gehäuteten weichen Körper anormal stark aufblähen, so daß ein Zuwachs von 40% erreicht wird. Nur der Einfluß der Temperatur wird durch die Ausschaltung des häutungshemmenden Hormones nicht aufgehoben. Zwar häuten sich jetzt alle Tiere unabhängig von ihrer Körpergröße bei gleicher Temperatur gleich schnell, aber die Verlangsamung des Häutungsrythmus durch eine niedrigere Temperatur ist genauso vorhanden wie bei nicht operierten Tieren. Dies bestätigt die Annahme, daß die Temperatur nicht die Häutungsauslösung speziell beeinflusst, sondern auf den ganzen Stoffwechsel und damit auch auf die Häutungsintervalldauer wirkt.

Die Annahme, daß bei den normalen Tieren immer erst ein bestimmter Wachstumsbetrag erreicht sein muß, bevor sich die Tiere häuten können, wird durch den Hungerversuch auch bei augenstiellosten Tieren bestätigt. Bei den normalen Tieren verlängert sich, wie erwähnt, die Häutungsintervalldauer bei geringerer Ernährung beträchtlich. Dafür wird immer der gleiche Größenzuwachs bei der Häutung erreicht. Die augenstiellosten Tiere häuten sich dagegen, wenn sie täglich nur die halbe optimale Futtermenge erhalten, in annähernd der gleichen Zeit wie die voll ernährten Tiere. Dafür ist ihr Größenzuwachs um rund 22% geringer als derjenige der voll ernährten Vergleichstiere. In diesem Fall bleibt also die Häutungsintervalldauer konstant und der Größenzuwachs bei der Häutung wird geringer.

Wie bei dem Gliedmaßenverlust – nur in noch viel ausgeprägterem Maße – wird bei den augenstiellosten Tieren deutlich, daß sie sich nicht unter allen Umständen häuten müssen, wenn ein bestimmter Wachstumsbetrag erreicht ist. Daraus geht abermals hervor, daß bei den normalen Tieren die Häutungsauslösung durch das Wachstum keine mechanische Folge, sondern eine komplizierte Regulationsleistung des Zentralnervensystems ist.

Das Häutungshormon

Die Untersuchungen von ECHALIER (1954, 1956b) an *Carcinus maenas* haben gezeigt, daß die eigentliche Häutung durch das Hormon der Y-Organen ausgelöst wird. Die Y-Organen haben keine Innervierung und werden nur von einem kleinen Nerv tangiert, dessen Durchschneidung keinen Einfluß auf die Auslösung von Häutungen hat. Dies spricht dafür, daß die Hormonproduktion im Y-Organ hormonell gesteuert wird. Nimmt man den Strandkrabben die Y-Organen heraus, bevor eine neue Häutung eingeleitet worden ist, so häuten sich die Tiere nicht mehr. Dieser Häutungsstopp kann aber aufgehoben werden, wenn man den Tieren Y-Organen aus anderen Tieren implantiert (ECHALIER 1955).

Solche Tiere, bei denen die Y-Organen erst nach der Auslösung einer Häutung entnommen werden, führen die bereits eingeleitete Häutung zu Ende, häuten sich

dann aber nicht wieder. Diese Versuche beweisen, daß die Y-Organen die Häutungsdrüsen von *Carcinus maenas* sind.

Neuerdings gelang es, das Häutungshormon aus *Carcinus maenas* zu isolieren (ADELUNG 1967). In seiner Aktivität stimmt es mit dem einzigen bisher aus Krebsen isolierten und in seiner Struktur aufgeklärten Häutungshormon Crustecdyson überein (KARLSON 1956a, HAMPSHIRE & HORN 1966). Die isolierten Substanzmengen reichten für eine chemische Identifizierung nicht aus. Auf Grund der Übereinstimmung in seiner Aktivität, Löslichkeit und seines Verhaltens bei der Extraktion ist es wahrscheinlich, daß es sich bei der isolierten Substanz aus *Carcinus maenas* ebenfalls um Crustecdyson handelt.

Aus den erwähnten Ex- und Implantationsexperimenten von ECHALIER ergibt sich die Frage, ob das Häutungshormon nur einmal zur Auslösung der Häutungen oder mehrfach steuernd in den gesamten Häutungsprozeß eingreift. Um diese Frage zu klären, haben wir versucht, den Sekretionsrhythmus des Häutungshormones während eines Häutungsintervalles zu bestimmen.

Die Stadien des Häutungsintervalles

Um überhaupt Veränderungen während eines Häutungszyklus messen zu können, muß man stets die gleichen Stadien des Häutungsintervalles erfassen können. Es muß daher ein Einteilungsprinzip geschaffen werden, um das Häutungsintervall in möglichst viele morphologisch und physiologisch gut voneinander unterscheidbare Stadien einzuteilen. Allerdings zeigen gerade die brachyuren Krebse normalerweise nur wenige morphologische Veränderungen während eines Häutungsintervalles. Deshalb konnte die Stadieneinteilung, die DRACH (1939) vorwiegend auf Grund einer Beschreibung der morphologischen Veränderungen der Häutungsintervalle verschiedener dekapoder Krebse aufstellte, nicht verwendet werden. Wesentlich für die physiologischen Untersuchungen ist, nicht nur den morphologischen Zustand der Tiere, sondern auch die Zeit, die ein Krebs für die verschiedenen Phasen eines Häutungsintervalles benötigt, zu berücksichtigen. Es ist leicht einzusehen, daß Tiere, die für ein bestimmtes Stadium die doppelte Zeit wie gleich große Artgenossen benötigen, sich physiologisch von diesen unterscheiden müssen.

Wir haben deshalb für die Häutungsintervalle von *Carcinus maenas* ein neues Einteilungsschema aufgestellt. Dies berücksichtigt sowohl die bereits beschriebenen morphologischen Veränderungen des Panzers als auch die Dauer des Häutungsintervalles und den Entwicklungszustand der Regenerate, der sich besonders gut für eine Stadieneinteilung eignet. Als weitere Einteilungskriterien werden die Wasseraufnahme der Tiere vor der Häutung und außerdem die Einstellung und der Wiederbeginn der Nahrungsaufnahme herangezogen. Um die Häutungsintervalldauer möglichst gut vorhersagen zu können, wurden für die folgenden Versuche, wie bereits erwähnt, nur „beinlose“ Tiere verwendet.

Das Häutungsintervall wurde zunächst in zehn Stadien gleicher Dauer eingeteilt. Diese Stadien wurden mit römischen Zahlen bezeichnet. Die Verwendung der anderen eben erwähnten Kriterien hat aber zu einer Verschiebung der Stadien und einer Unterteilung in Unterstadien, die mit Indexbuchstaben bezeichnet werden, geführt. Auf

Tabelle 1

Einteilung des Häutungsintervalls von *Carcinus maenas* in 21 Stadien

Stadien	Stadien nach DRACH (1939)	Dauer der Stadien in % der Gesamtdauer	Dauer des Zwischenhäutungsintervalls in % der Gesamtdauer	Länge der Regenerate in % der Endgröße	Farbe der Regenerate	Zustand der Kutikula	Wasseraufnahme	Nahrungsaufnahme
Ia	A ₁	0,5	0,5	—	—	völlig weich	++	—
Ib	A ₂	1,0	2,0	—	—	pergamentartig	+	—
IIa	B ₁₊₂	2,0	5,0	—	—	überall biegsam	—	—
IIb	C ₁	4,0	8,0	—	—	Carapax dorsal stellenweise biegsam	—	(+)
IIIa	C ₂	4,0	12,0	—	—	Carapax fest	—	+
IIIb	C ₃	7,0	19,0	—	—	Carapax fest und verdickt	—	++
IIIc	C ₄ D ₀ ?	fällt bei „beinlosen“ Tieren aus		—	—	Carapax fest und verdickt	—	++
IVa	D ₀ ?	1,5	23,0	0,5	farblos	Carapax fest und verdickt	—	++
IVb		5,0	29,0	2	farblos	Carapax fest und verdickt	—	++
Va		5,0	34,0	3	farblos	Carapax fest und verdickt	—	++
Vb		5,0	39,0	4	farblos	Carapax fest und verdickt	—	++
VIa		5,0	44,0	12	farblos	Carapax fest und verdickt	—	++
VIb		7,0	51,0	25	farblos	Carapax fest und verdickt	—	++
VII		11,0	63,0	28	farblos	Carapax fest und verdickt	—	++
VIII	D ₁	7,0	68,0	53	farblos	Carapax fest und verdickt	—	++
IXa	D ₂	6,0	73,0	85	hellgrün	Carapax fest und verdickt	—	++
IXb	bis	12,0	85,0	91	grün	Resorption	—	+
IXc	D ₃	5,0	90,0	96	dunkelgrün bis schwarz	Resorption	—	(+)
Xa		4,0	94,0	100	gelbbraun	Resorption	—	—
Xb		3,0		100	gelbbraun	Pleuralnähte springen auf	+	—
Xc	D ₄	2,0	97,0	100	gelbbraun	Pleuralnähte klaffen	++	—

diese Weise war es möglich, das gesamte Häutungsintervall in 21 gut unterscheidbare Stadien einzuteilen. Die Stadien und ihre Merkmale sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Zum Vergleich sind auch die Stadien von DRACH (1939) an den entsprechenden Abschnitten des Häutungsintervalles angeführt.

Der Häutungshormontiter während eines Häutungsintervalles

Mit Hilfe der beschriebenen Extraktions- und Testmethoden wurde das Häutungshormon in den verschiedenen Stadien quantitativ bestimmt (ADELUNG 1969a, b). Das Ergebnis ist in Tabelle 2 und Abbildung 2 dargestellt. Sie lassen starke Veränderungen im Häutungshormongehalt während eines Zwischenhäutungsintervalles erkennen. Aus der Tabelle ersieht man, daß die Genauigkeit der Hormonbestimmung in den

Tabelle 2

Der Häutungshormongehalt von *Carcinus maenas* während eines Häutungsintervalls

Stadium	Häutungshormon (ng/g Frischgewicht)	Mittlerer Fehler ±	Zahl der Einzelbestimmungen
Ia	12,1	3,1	13
IIa	24,0	12,2	11
b	16,1	4,9	13
IIIa	15,8	7,0	10
b	14,6	5,6	10
c	4,9	1,5	14
IVa	31,0	10,4	14
b	8,4	3,3	10
Va	18,3	5,0	11
b	23,5	7,2	11
VIa	27,5	6,2	11
b	40,4	18,8	12
VII	35,1	9,8	14
VIII	79,3	16,2	11
IXa	63,3	14,5	12
b	29,2	8,7	15
Xa	85,0	21,3	11
b	71,0	5,2	16
b-c	109,9	41,6	12
c	30,8	5,5	22

verschiedenen Stadien sehr unterschiedlich ist. Letzteres ist nicht auf die Methodik zurückzuführen, da der methodische Fehler bei der Extraktion und quantitativen Hormonbestimmung relativ klein und in allen Fällen gleich ist (ADELUNG 1969b). Vielmehr muß die erhebliche Streuung als ein Zeichen dafür gewertet werden, daß der Hormonspiegel in den betreffenden Stadien sich sehr rasch verändert, so daß bei den einzelnen Individuen unterschiedliche Konzentrationen erfaßt wurden. Fast während des gesamten Häutungszyklus ist in den Tieren Häutungshormon zu finden. Dies ist verständlich, weil es sich bei den Versuchstieren um beinlose Tiere handelt, die zwischen den einzelnen Häutungszyklen keine häutungsinaktive Pause (Anecdysis) einlegen.

Ausgeprägte und statistisch signifikante Maxima erreicht der Häutungshormongehalt während der Stadien IVa, VIII und IXa bis Xc und ein weniger gut ausgeprägtes, nicht signifikantes Maximum im Stadium IIa. In den Stadien IIIc und Vb findet man praktisch kein Hormon.

Wie aus Abbildung 2 hervorgeht, fällt der Hormonspiegel bereits während der Häutung von seinem höchsten Stand steil ab und bleibt unmittelbar nach der Häutung

während der Nachhäutungsprozesse auf einem wesentlich niedrigerem Niveau stehen. Möglicherweise steigt er während dieser Zeit sogar wieder etwas an. Dieser Anstieg ist nicht signifikant. Er wird deutlicher, wenn man den Verdünnungseffekt berücksichtigt, den die Hämolymphe und die gesamten Gewebe des Tieres bei der Häutung durch das aufgenommene Seewasser erfahren. In diese Zeit fällt vor allem die Härtung der Kutikula, die auf der Bildung neuer Chitinschichten und der Einlagerung von Proteinen

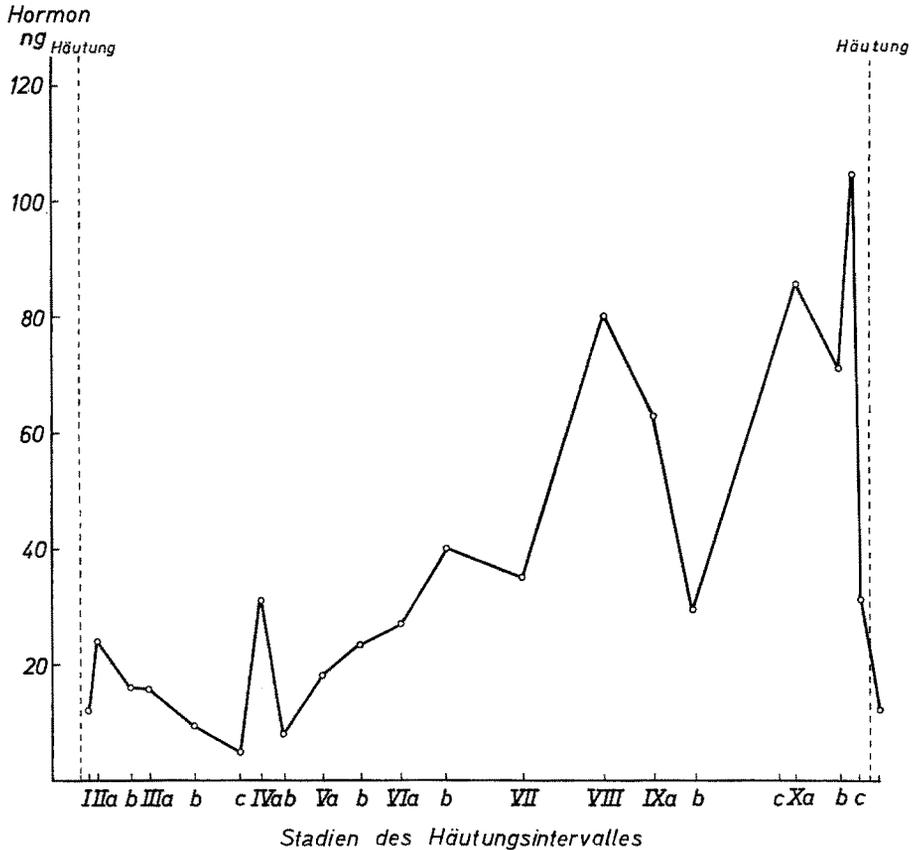


Abb. 2: Der Häutungshormontiter während eines Häutungsintervalls von *Carcinus maenas*. Jeder Punkt stellt den Mittelwert von mindestens 10 Einzelwerten dar. (Weitere Einzelheiten vgl. Tab. 2. Verändert nach ADELUNG 1970)

und von größeren Mengen Calciumkarbonat beruht. Mit der Beendigung dieser Prozesse fällt der Hormonspiegel praktisch auf Null ab. Er steigt dann bei unseren Versuchstieren im Stadium IVa kurzfristig an, um ebenso schnell wieder abzufallen. Während dieser Zeit beginnen die Regenerate auszukeimen. Ob diese Hormonausschüttung am Ende des einen oder am Beginn des folgenden Häutungszyklus liegt, kann noch nicht entschieden werden. Danach steigt der Hormonspiegel zunächst kontinuierlich und dann rasch bis zu einem Maximum im Stadium VIII an.

Während dieser Zeit wachsen die Regenerate heran. Im Stadium VIII erreichen sie etwa 80 % ihrer Endgröße. Von da an beginnen sich die Regenerate zu pigmentieren und werden nur noch langsam größer. Unmittelbar nach dem Stadium VIII liegt, wie unsere histologischen Untersuchungen ergeben haben (ADELUNG 1969b), der häutungsphysiologisch besonders wichtige Vorgang der Apolyse: die alte Kutikula löst sich von der Epidermis ab, und die Epidermis beginnt eine neue Kutikula auszuscheiden. In den folgenden Stadien, die vor allem durch die Auspigmentierung der Regenerate gekennzeichnet sind, fällt der Hormonspiegel wieder etwas ab, um dann plötzlich während der Stadien IXc bis Xb steil auf seinen höchsten Wert anzusteigen. Dieses Stadium ist äußerlich am deutlichsten an dem Farbwechsel der Hämolymphe nach gelb-rot zu erkennen. Dieser Farbwechsel kann als Ausdruck intensiver stoffwechselphysiologischer Veränderungen gewertet werden.

Stoffwechselphysiologische Veränderungen während eines Häutungsintervalles

Zahlreiche Befunde haben bereits gezeigt (DRACH 1939, WATERMAN 1960, ANDREWS 1967), daß im Zusammenhang mit den Häutungen tiefgreifende Veränderungen im Eiweiß-, Lipoid-, Kohlenhydrat- und Mineralstoffwechsel stattfinden. Allerdings sind diese Untersuchungen in den meisten Fällen nur an Tieren durchgeführt worden, deren häutungsphysiologischer Zustand nicht exakt definiert war und oft auch an verschiedenen, nur schwer miteinander vergleichbaren Tieren. Im folgenden sollen daher verschiedene Stoffwechselparameter erfaßt, ihre allgemeine Bedeutung im Zusammenhang mit der Häutung geprüft und untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen den Stoffwechselveränderungen und dem Häutungshormon besteht. Diese Untersuchungen wurden vorerst auf die Hämolymphe und die Kutikula beschränkt. Da die Hämolymphe der Krebse vor allem als Transportmedium für die Stoffwechselprodukte zwischen den verschiedenen Organen dient, dürften hier am ehesten Stoffwechselveränderungen, die irgendwo im Tier ablaufen, durch entsprechende Veränderung des Blutspiegels erfaßt werden.

Das Trockengewicht

Um absolute Aussagen über die Menge der verschiedenen Stoffwechselprodukte im Gewebe und der Hämolymphe zu ermöglichen, müssen das Trockengewicht und das Frischgewicht der Tiere miteinander verglichen werden.

Insgesamt wurden die Trockengewichte von 125 Krebsen aus verschiedenen Stadien bestimmt. Um die verschieden großen und damit verschieden schweren Tiere miteinander vergleichen zu können, wurde das Trockengewicht auf das Frischgewicht der Tiere bezogen.

Das Ergebnis ist in Abbildung 3 dargestellt. Wie man daraus ersieht, beträgt das Trockengewicht der Tiere unmittelbar nach der Häutung nur 12–13 % des Frischgewichtes. Es nimmt dann rasch zu. Das hängt offenbar mit der Bildung der neuen En-

Während eines Häutungsintervalles verändert sich also das Trockengewicht der Tiere erheblich. Dies beruht vor allem auf zwei Dingen: Einmal wird bei der Häutung der gesamte schwere Panzer der Tiere abgeworfen, der rund 70 % des Trockengewichtes ausmacht. Zum anderen nehmen die Tiere unmittelbar nach der Häutung erhebliche Mengen Wasser in sich auf, so daß das Trockengewicht bezogen auf das Frischgewicht der Tiere nach der Häutung noch weiter absinkt. Erst nach und nach wird durch Einlagerung von Mineralien und Bildung neuer Chitinschichten die neue Kutikula verstärkt und durch Gewebewachstum das bei der Häutung aufgenommene Wasser nach und nach verdrängt. Die Folge ist eine ständige Zunahme des Trockengewichtes.

Der Eiweiß- und Rest-Stickstoffgehalt der Hämolymphe

Einige Untersuchungen an Krebsen und Insekten (SEKERIS & KARLSON 1964, KELLER & ADELUNG 1970) machen es wahrscheinlich, daß eine der ersten Wirkungen des Häutungshormons in der Stimulierung der Proteinsynthese besteht. Wir haben deshalb in allen Stadien den Rest-N-Gehalt und den Proteingehalt der Hämolymphe mit den beschriebenen Methoden bestimmt. Das Ergebnis ist in Abbildung 4 dargestellt. Daraus geht hervor, daß sich der Rest-N-Gehalt und der Proteingehalt während eines Häutungsintervalles in gleicher Weise verändern: Unmittelbar nach der Häutung sind sowohl der Rest-N-Gehalt als auch der Proteingehalt relativ gering. Während der Rest-N-Gehalt nach der Häutung im Stadium IIa kurzfristig ansteigt, bleibt der Proteingehalt noch niedrig. Er erreicht seinen niedrigsten Stand im Stadium IIIb. Von da ab steigt der Proteinspiegel und etwas später auch der Rest-N-Spiegel an. Der steile Abfall beider Parameter während der Häutung bis zum Stadium Ia erklärt sich zum großen Teil aus dem Verdünnungseffekt der Hämolymphe durch das aufgenommene Seewasser. Der geringe, aber signifikante Abfall im Stadium IIIb bzw. für Rest-N im Stadium IIIc ist nicht auf diese Weise zu erklären.

Im Stadium Vb erreicht der Proteinspiegel vorübergehend ein Maximum und der Rest-N-Spiegel im Stadium VIb. Diesen Maxima folgt in beiden Fällen ein kurzfristiger Abfall. Darauf folgt ein neues Maximum während des Stadiums VIII–Xa, also zum Zeitpunkt der Apolyse. Diese Schwankungen fallen in den Abschnitt geringer äußerer Veränderungen zwischen den Häutungen. Während der Hauptpigmentierungsphase im Stadium IXb fallen der Proteinspiegel und der Rest-N-Spiegel wieder ab und erreichen schließlich im Stadium Xc, also wenn bereits die eigentliche Häutung eingesetzt hat, ihr größtes Maximum. Wie schon erwähnt, fällt dann während der Häutung der Proteinspiegel auf nahezu die Hälfte seines Maximalwertes ab. Dies entspricht der tatsächlich festgestellten Verdünnung der Hämolymphe um 100 %.

Interessant ist der weitgehend deckungsgleiche Verlauf des Protein- und Rest-N-Spiegels. Er beruht wahrscheinlich darauf, daß der größte Teil des Rest-N, also des nicht proteingebundenen Stickstoffes, von den Aminosäuren herrührt. Eine Untersuchung von DELAUNAY (1934) an Krebsen, die sich allerdings in der Anecdysis befanden, ergab, daß 32 % des Rest-N auf freie Aminosäuren entfällt. Ein anderer großer Teil des Rest-N dürfte von dem Chitinbaustein n-Acetyl-Glucosamin herrühren.

In den Stadien IVa, VIa, b und Xc ist der mittlere Fehler in der Proteinbestim-

Zwar ist bekannt, daß der Glucosespiegel unmittelbar vor einer Häutung ansteigt, aber eingehendere Messungen sind meines Wissens bisher noch nicht durchgeführt worden. Unsere Bestimmungen über den Glucosegehalt sind in Abbildung 5 dargestellt. Bereits auf den ersten Blick erkennt man, daß er im Verlauf des Häutungsintervalles erheblich schwankt. Auch innerhalb der einzelnen Stadien streuen die Werte erheblich. Bei genauerer Betrachtung erkennt man, daß sich in jeder Meßreihe Werte von verschiedenen Größenklassen unterscheiden lassen. In einer solchen Größenklasse

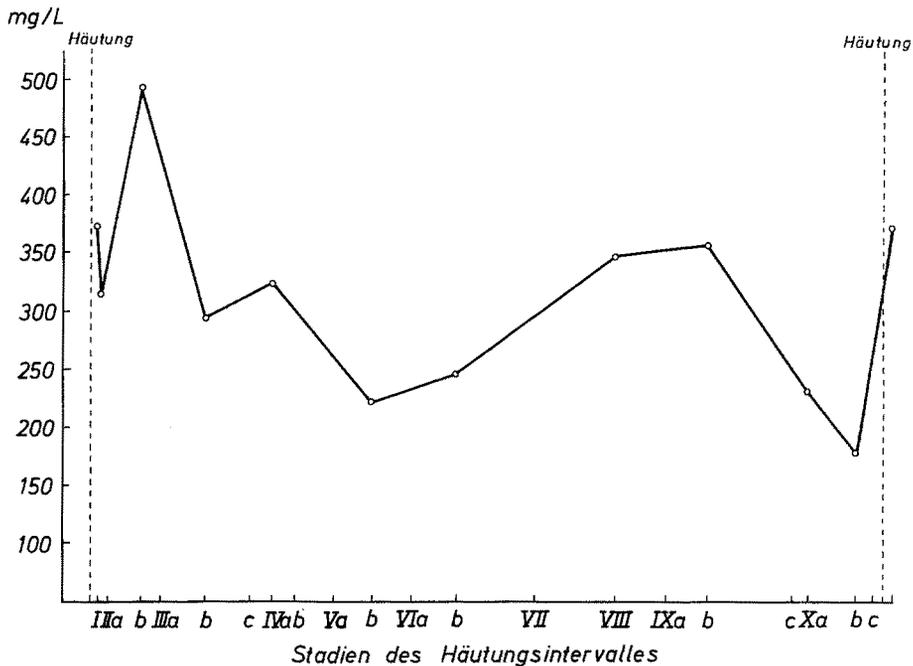


Abb. 5: Der Glucosegehalt der Hämolymphe von *Carcinus maenas* während eines Häutungsintervalls. Die Punkte stellen die Mittelwerte von 3–20 Einzelbestimmungen dar. Der mittlere Fehler weicht um 8–20 % von dem Mittelwert ab (vgl. Tab. 5)

ist die Streuung der Werte nur relativ gering. Da der methodische Fehler bei der angewendeten Bestimmungsmethode maximal zu einer Abweichung von 9 % führt, können die Streuungen nicht darauf zurückgeführt werden. Vielmehr müssen hierfür individuelle Schwankungen – oder wahrscheinlicher – schnelle Stoffwechselveränderungen verantwortlich gemacht werden. Für letzteres spricht auch, daß in einigen Stadien die Streuung nur gering, in anderen dagegen sehr groß ist.

Wie man aus Abbildung 5 ersieht, steigt der Glucosespiegel nach der Häutung steil an und erreicht im Stadium IIB mit durchschnittlich 2,7 mMol/l sein größtes Maximum. Während dieser Zeit findet, wie bereits erwähnt, die Bildung der Endokutikula statt (DRACH 1939, PASSANO 1960, DIGBY 1966). Für die Bildung der Chitinschichten müssen vom Stoffwechsel große Mengen Glucose als Grundbaustein des

Chitins bereitgestellt werden. Daher ist ein hoher Glucosespiegel zu dieser Zeit intensiver Chitinsynthese gut verständlich. Danach fällt der Glucosespiegel wieder ab und erreicht im Stadium Vb sein Minimum. In diesem Stadium ist die Chitinsynthese überall eingestellt (DIGBY 1966, 1967 und eigene unveröffentlichte Befunde). Dann steigt der Glucosespiegel langsam an und erreicht im Stadium VIII–IXa, also zur Zeit der Apolyse, ein neues Maximum. Da die Apolyse außer durch Ablösen der alten Kutikula auch durch den Beginn der Sekretion der neuen Endokutikula gekennzeichnet ist, wird auch hier der hohe Glucosespiegel durch eine intensive Chitinsynthese verständlich. Darauf fällt der Glucosespiegel erneut ab und erreicht kurz vor der Häutung im Stadium Xb ein Minimum mit nur 1,0 mMol Glucose/l. Im Gegensatz zu dem Proteinspiegel steigt aber der Glucosespiegel während des Häutungsprozesses steil an. Berücksichtigt man auch hier den Verdünnungseffekt in der Hämolymphe, so erhält man pro Tier noch wesentlich höhere Werte. Dieser Anstieg wird, wie erwähnt, auch nach der Häutung noch einige Zeit fortgesetzt.

Aus diesen Befunden ergibt sich, daß der Glucosespiegel in der Hämolymphe immer dann ein Maximum erreicht, wenn eine intensive Chitinsynthese stattfindet.

Vergleicht man den Glucosespiegel mit dem Hormontiter während eines Häutungsintervalles, so lassen sich keinerlei Übereinstimmungen im Kurvenverlauf feststellen. Es ist deshalb anzunehmen, daß kein direkter Zusammenhang zwischen dem Häutungshormon und dem Glucosegehalt der Hämolymphe besteht, daß also die Kutikulabildung nicht zu den von dem Häutungshormon gesteuerten Primärprozessen gehört.

Die ionale Zusammensetzung der Hämolymphe

Befunde verschiedener Autoren (vgl. WATERMAN 1960, ANDREWS 1967) zeigen, daß sich die Konzentration verschiedener Ionen in der Hämolymphe im Laufe eines Zwischenhäutungsintervalles ändert. Da die anorganischen Ionen die wichtigsten osmotisch wirksamen Substanzen der Hämolymphe sind, muß eine Konzentrationsänderung eines Ions auch eine Änderung im gesamten osmotischen Verhalten der Hämolymphe hervorrufen, wenn sie nicht durch die Konzentrationsänderung eines anderen Ions kompensiert wird. Daß solche Kompensierungen stattfinden, deuten die Arbeiten von BROEKHUYSEN (1936) an. Er konnte zeigen, daß die Hämolymphe von *Carcinus maenas* wie diejenige der meisten marinen Tiere zu dem umgebenden Seewasser isotonisch ist. *Carcinus maenas* vermag dank einer leistungsfähigen Osmoregulation auch erhebliche Schwankungen im Salzgehalt (4 ‰ bis 40 ‰) des Seewassers auszuhalten. Um alle Stoffwechselfunktionen aufrechtzuerhalten, muß man eine annähernd gleichmäßige Zusammensetzung der Ionen in der Hämolymphe annehmen. Andererseits stellten BAUMBERGER & OLMSTEDT (1928) fest, daß bei den brachyuren Krebsen der osmotische Wert der Hämolymphe unmittelbar vor der Häutung ansteigt. Hierfür kommen, wie bereits erwähnt, vor allem die anorganischen Ionen als verantwortliche Faktoren in Frage.

Natrium

Natrium ist für die meisten marinen Tiere im Überfluß im Außenmedium vorhanden. Untersuchungen von ROBERTSON (1949) haben ergeben, daß die Natrium-Ionen-Konzentration der Hämolymphe von *Carcinus maenas* über derjenigen des Meerwassers liegt. Dieser Befund konnte von uns nur teilweise bestätigt werden. Dies liegt wohl daran, daß ROBERTSON die Tiere ohne Rücksicht auf ihren häutung physiologischen Zustand untersucht hat. Während in unseren Experimenten das Seewasser einen Natriumgehalt von 501 mMol/l hat, schwankt die Natriumkonzentration in der Hämolymphe während des Häutungsintervalles von 440–540 mMol/l. Unsere

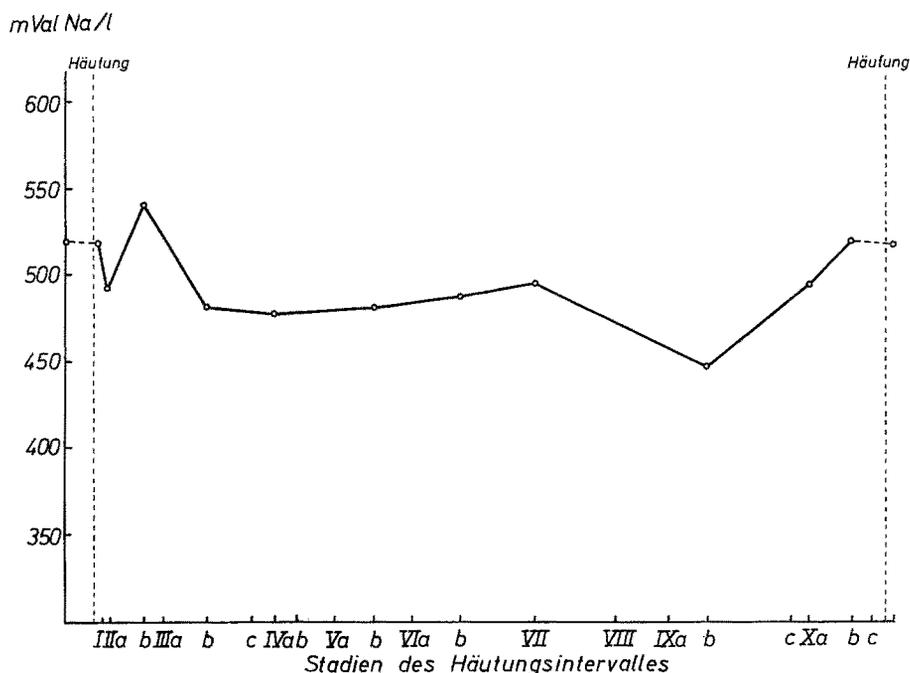


Abb. 6: Der Na⁺-Gehalt der Hämolymphe von *Carcinus maenas* während eines Häutungsintervalls. Die Punkte stellen Mittelwerte dar. (Streuung und Zahl der Einzelwerte vgl. Tab. 6)

Meßergebnisse sind in Abbildung 6 dargestellt. Die Meßwerte in den einzelnen Stadien streuen erheblich. Da der methodische Fehler bei der flammenphotometrischen Bestimmung unter 1 % liegt, ist für diese Streuung eine rasche Veränderung der Ionen-Konzentration in den Tieren, oder eine erhebliche individuelle Abweichung verantwortlich zu machen. Wie aus Abbildung 6 hervorgeht, findet man im Verlauf des Häutungsintervalles nur zwei Maxima. Das eine, das auch statistisch gesichert ist, liegt im Stadium IIB nach der Häutung. Dazwischen liegt ein deutlich ausgeprägtes Minimum während der Pigmentierungsphase im Stadium IXb. Auch dieses Minimum ist statistisch signifikant. Nur während der Maxima liegt die Natrium-Ionen-Konzentration

in der Hämolymphe über derjenigen des Seewassers. Abgesehen von diesen Veränderungen bleibt der Natriumspiegel während des ganzen Häutungsintervalles annähernd konstant.

Es ist zu vermuten, daß die Erhöhung des Natriumspiegels kurz vor und kurz nach der Häutung eine entsprechende Erhöhung des osmotischen Wertes der Hämolymphe bedingt. Auf diese Frage soll nach der Untersuchung der anderen Ionen-Konzentrationen näher eingegangen werden.

Ein Vergleich der Kurven für den Natriumspiegel und für den Häutungshormontiter zeigt auf den ersten Blick, daß keinerlei Übereinstimmung im Kurvenverlauf besteht und somit auch nicht mit einem Zusammenhang zwischen dem Häutungshormon und dem Natriumspiegel zu rechnen ist.

Kalium

Nach ROBERTSON (1957) liegt der Kalium-Gehalt der Hämolymphe von *Carcinus maenas* über demjenigen des Seewassers. Auch diese Angabe kann durch unsere Untersuchung nicht bestätigt werden. Das Ergebnis flammenphotometrischer Kalium-Bestimmungen ist in Abbildung 7 dargestellt. Wie man daraus ersieht, verändert sich der Kalium-Gehalt der Hämolymphe während eines Häutungsintervalles praktisch nicht. Auch die Streuung ist sehr klein. Der Kalium-Gehalt beträgt durchschnittlich 11 mMol/l, derjenige des Seewassers 11,6 mMol/l. Man kann daher sagen, daß der Kalium-Gehalt des Innen- und des Außenmediums praktisch gleich sind. Da der Kalium-Spiegel während des gesamten Häutungsintervalles konstant bleibt, darf man annehmen, daß er nicht durch das Häutungshormon beeinflusst wird.

Magnesium

Nach den Angaben von ROBERTSON liegt der Magnesium-Gehalt der Hämolymphe von *Carcinus maenas* rund 65 % unter demjenigen des Seewassers. Dem entsprechen auch unsere Ergebnisse. Der Magnesium-Gehalt der Hämolymphe schwankt zwischen 28 und 38 mMol/l. Der Magnesium-Gehalt des Seewassers beträgt dagegen durchschnittlich 80 mMol/l. Damit liegt der Magnesium-Gehalt der Hämolymphe nach unseren Messungen 50–65 % unter demjenigen des Seewassers.

Die Meßwerte innerhalb ein und desselben Stadiums streuen relativ stark. Da der methodische Fehler bei den Magnesium-Bestimmungen mit unter 1 % sehr niedrig ist, müssen die Streuungen entweder auf individuelle Unterschiede zwischen den Tieren oder auf rasch verlaufende physiologische Veränderungen in der Magnesium-Ionen-Konzentration zurückgeführt werden. Welche dieser beiden Möglichkeiten zutrifft, kann noch nicht klar entschieden werden. Allerdings spricht der relativ kontinuierliche Kurvenverlauf des Magnesiumspiegels (vgl. Abb. 7) in der Hämolymphe während eines Häutungsintervalles dafür, daß es sich hierbei vorwiegend um individuelle Abweichungen handelt. Nach der Häutung steigt der Magnesium-Spiegel von 28 mVal/l langsam bis zum Stadium VII auf 35,3 mVal/l an. Im Stadium IXa sinkt er geringfügig auf 33,7 mVal/l ab, steigt zur Häutung hin wieder an und er-

reicht in den Stadien Xa und b, also unmittelbar vor der Häutung, seinen höchsten Wert. Wie bei den Natrium-Ionen sollte auch hier die Konzentrationserhöhung vor der Häutung eine Erhöhung des osmotischen Wertes der Hämolymphe bewirken. Während der Häutung fällt der Magnesium-Spiegel wieder auf sein Ausgangsniveau unmittelbar nach der Häutung ab. In diesem Fall beruht der Abfall aber nicht auf einem Verdünnungseffekt durch das bei der Häutung aufgenommene Seewasser, da das Seewasser wesentlich mehr Magnesium enthält als die Hämolymphe der Krebse. Im Gegenteil wäre deshalb mit einer Zunahme des Magnesium-Gehaltes der Hämolymphe bei der Häutung zu rechnen. Vielmehr muß man annehmen, daß das Magnesium während der Häutung von den Krebsen aktiv aus der Hämolymphe entfernt wird.

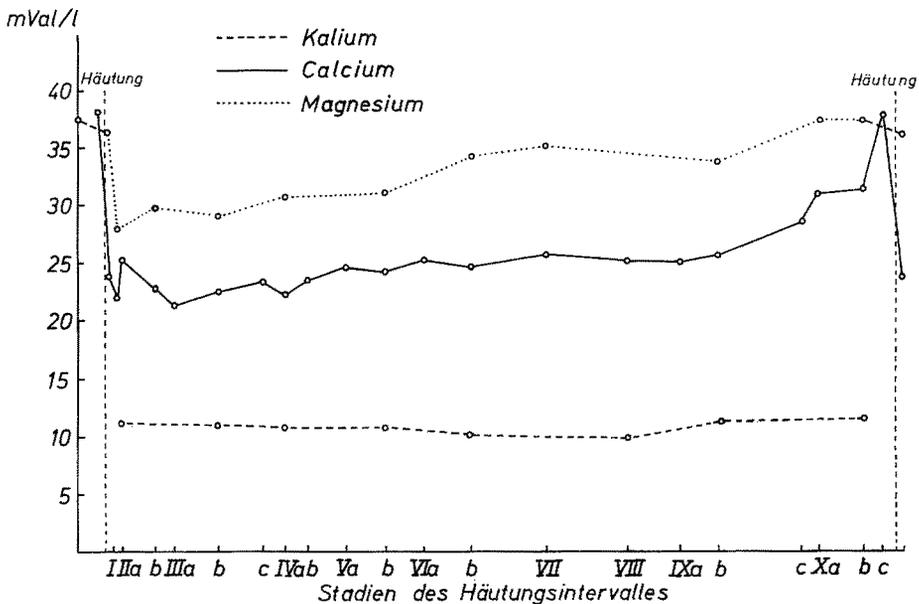


Abb. 7: Der K^{+} -, Ca^{++} - und Mg^{++} -Gehalt der Hämolymphe von *Carcinus maenas* während eines Häutungsintervalls. Die Punkte stellen Mittelwerte dar. (Zahl und Streuung der Einzelwerte vgl. Tab. 7. Verändert nach ADELUNG 1970)

Ein Vergleich der Veränderungen des Magnesium-Gehaltes während eines Häutungsintervalles mit der Hormontiterkurve läßt auf keinen direkten Zusammenhang zwischen dem Hormon- und dem Magnesium-Spiegel der Hämolymphe schließen. Zwar steigen beide Kurven zur Häutung hin an, aber der Magnesium-Kurve fehlen die anderen ausgeprägten Maxima und Minima der Hormontiterkurve.

Calcium

Calcium ist in Form von $CaCO_3$ das wichtigste Mineral für die Härtung der neuen Kutikula. Daher ist zu erwarten, daß der Calcium-Stoffwechsel in einem engen Zusammenhang mit den Häutungsvorgängen steht.

Während für die Süßwasserkrebse Calcium ein seltenes Mineral ist und ihr Calcium-Haushalt entsprechend darauf eingestellt ist, gibt es im Seewasser mit 30 mVal/l ausreichend Calcium für die Kalzifizierung der Kutikula.

Wie aus unseren Ergebnissen hervorgeht, ist der Calcium-Gehalt in der Hämolymphe der Krebse mit 42–76 mVal/l wesentlich höher als derjenige des Seewassers. Die Ergebnisse der Calcium-Bestimmungen in der Hämolymphe sind in Abbildung 7 zusammengefaßt. In den einzelnen Stadien stimmen die einzelnen Meßwerte gut miteinander überein. Die Abweichung des mittleren Fehlers vom Mittelwert beträgt maximal nur 3 %.

Wie aus Abbildung 7 hervorgeht, weist der Calcium-Gehalt in der Hämolymphe während eines Häutungsintervalles zwei Maxima und ein Minimum auf. Das erste kleinere Maximum liegt ungefähr 24 st nach der Häutung. Es kommt vermutlich dadurch zustande, daß nach der ersten raschen Kalzifizierung der bereits vor der Häutung angelegten Exokutikula die weitere Kalzifizierung nicht mehr so schnell erfolgt, und daß es deshalb zu einer vorübergehenden Anreicherung von Calcium in der Hämolymphe kommt. Danach sinkt gleichzeitig mit der Bildung und Kalzifizierung der Endokutikula der Calcium-Gehalt in der Hämolymphe auf ein geringes, aber statistisch signifikantes Minimum im Stadium IIIa ab. Danach steigt der Calcium-Gehalt in der Hämolymphe bis zum Stadium IVa an. Von diesem Stadium an bis zum Stadium IXb bleibt der Calcium-Spiegel in der Hämolymphe praktisch konstant bei 24–25 mVal/l. Erst kurz vor der Häutung steigt der Calcium-Gehalt wieder an und erreicht im Stadium Xc seinen höchsten Wert. Gegenüber dem niedrigsten Stand im Stadium IIIa hat sich der Calcium-Gehalt damit im Laufe des Häutungsintervalles praktisch verdoppelt. Während der Häutung selbst sinkt der Calcium-Gehalt rasch ab. Aus einer Überschlagsrechnung ergibt sich, daß rund 70 % des Abfalls auf der bereits erwähnten Verdünnung der Hämolymphe durch das bei der Häutung aufgenommene Seewasser, das etwa $\frac{1}{3}$ weniger Calcium als die Hämolymphe enthält, beruht. Die restlichen 30 % des Abfalls im Calcium-Spiegel können nur dadurch erklärt werden, daß bereits während der Häutung die Kalzifizierung der Exokutikula einsetzt, und daß das für diese Kalzifizierung benötigte Calcium der Hämolymphe entzogen wird. Weiterhin muß man annehmen, daß die Erhöhung der Ca-Ionen-Konzentration vor der Häutung zu einer Erhöhung des osmotischen Wertes der Hämolymphe führt.

Vergleicht man den Verlauf der Kurve für den Ca-Gehalt mit der Hormontiterkurve während eines Häutungsintervalles, so findet man nur für zwei Maxima der Hormontiterkurve eine Entsprechung in der Calcium-Kurve. Sonst bestehen keine Übereinstimmungen im Kurvenverlauf. Deshalb muß man annehmen, daß zwischen dem Häutungshormon und dem Calcium-Gehalt in der Hämolymphe kein direkter Zusammenhang besteht, obwohl der Calcium-Stoffwechsel eng mit der Häutung verbunden ist. Die Sklerotisierung der Kutikula ist also kein Primärprozeß des Häutungshormones.

Die Osmolalität der Hämolymphe

Wie bereits erwähnt, haben Untersuchungen an verschiedenen Krebsen gezeigt, daß der osmotische Wert der Hämolymphe vor der Häutung ansteigt. Vermutlich

dient die höhere Osmolalität der Hämolymphe dazu, die beträchtlichen Seewassermengen, die die Tiere bei der Häutung aufnehmen, in ihren Geweben und der Hämolymphe festhalten zu können. Zu Beginn der Häutung wird auf diese Weise der Binnendruck im Tier stark erhöht, der schließlich zum Aufplatzen der alten Kutikula an den präformierten Stellen führt. Nach dem Abstreifen der alten Kutikula führt die Wasseraufnahme dann zu einer Volumenvergrößerung der Tiere. Da die neue Kutikula zunächst noch weich ist, muß auch hier ein gewisser Binnendruck gegenüber dem Außenmedium aufrechterhalten werden. Erst nach dem Härten der neuen Kutikula darf der Binnendruck und damit auch der osmotische Wert der Hämolymphe absinken. In der folgenden Untersuchung sollte geprüft werden, ob diese Hypothese zutrifft. Zum anderen sollte untersucht werden, worauf die Erhöhung des osmotischen Wertes der Hämolymphe beruht. Dies war bisher noch unbekannt (ROBERTSON 1960).

Die Ergebnisse unserer Osmolalitäts-Bestimmungen sind in Tabelle 3 dargestellt. Da es für unsere Betrachtung wesentlich ist, die osmotische Wirksamkeit der Hämolymphe gegenüber dem Seewasser als Außenmedium zu kennen, haben wir die gemessenen Werte in Prozent der Seewasser-Osmolalität angegeben. Ein Wert von 100 % bedeutet also, daß die Hämolymphe der Krebse mit dem Seewasser isotonisch ist. Das von uns verwendete Seewasser hat eine Osmolalität von 1,403 Osmol. Da der methodische Fehler mit 6 % Abweichung des mittleren Fehlers vom Mittelwert relativ hoch ist, beruht die Streuung der Meßwerte innerhalb der einzelnen Stadien auf diesem methodisch bedingten Fehler. Trotzdem und obwohl oft nur einige Proben entnommen werden konnten, ergibt sich ein klares Bild über die Veränderungen des osmotischen Verhaltens der Hämolymphe während eines Häutungsintervalles. In Übereinstimmung mit den Befunden von ROBERTSON (1957) ergibt sich, daß die Hämolymphe von *Carcinus maenas* während des größten Teils des Häutungsintervalles (Stadium IIIb bis Stadium VIII) mit dem Seewasser isotonisch ist. Im Stadium IXb ist die Hämolymphe, wenn auch nur geringfügig, aber doch deutlich hypotonisch zu dem Seewasser. Unmittelbar vor der Häutung im Stadium Xb wird die Hämolymphe hypertonisch zu dem Seewasser. Zur selben Zeit bekommt die Hämolymphe eine gelbrote Färbung und der Natrium-, Magnesium-, Calcium-, Glucose- und Protein-Spiegel steigen steil an bzw. erreichen ihr Maximum. Nach der Häutung bleibt die Hämolymphe bis zum Stadium IIb leicht hypertonisch, also gerade bis zum Beginn der Sklerotisierung der neuen Kutikula. Dieser Befund stimmt gut mit unserer Annahme überein, daß ein höherer osmotischer Wert der Hämolymphe nicht nur vor der Häutung zur Erzeugung eines hohen Binnendruckes erforderlich ist, sondern auch nach der Häutung, um die zunächst noch weiche Kutikula durch einen gewissen Überdruck im Tier ausgespannt zu halten.

Während des Stadiums IXb ist die Hämolymphe zu dem Seewasser hypotonisch. Dem entspricht, daß alle untersuchten Ionen zu dieser Zeit ein Minimum aufweisen, das bei einigen allerdings nur angedeutet ist. In Übereinstimmung mit diesen Befunden steht folgende Beobachtung: Bei allen Blutentnahmen in dem Stadium IXb war es schwierig, genügende Mengen Blut (100–150 μ l) für die Untersuchung zu entnehmen. In vielen Fällen konnte nur die Hälfte der sonst üblichen Menge an Hämolymphe den Tieren entzogen werden. Es hatte den Anschein, daß die Krebse zu diesem Zeitpunkt weniger Körperflüssigkeit als vorher und nachher besitzen. Auf Grund unserer Unter-

Tabelle 3
Der osmotische Wert der Hämolymphe von *Carcinus maenas* während eines Häutungsintervalls

Stadien	Osmola- rität (m Osmol)	Mittlerer Fehler	Zahl der Einzel- werte	Osmola- rität (in ‰ See- wasser)	Molarität der osmotisch wirksamen Blutzucker	Na	K	Mg	Ca	Anionen	Total
Ia	1473	24	3	105	2,1	516		72,8	47,8		
b	1431	28	9	102	1,7	492			44,0		
IIa							11,1		50,8		
b	1431	18	8	102	2,7	540		59,6	45,8		
IIIa									42,4		
b	1368	11	11	99	1,6	483	10,9	58,2	43,0	595,1	1192
c									46,4		
IVa	1403	24	6	100	1,8	477	10,8	61,6	44,8	594,2	1190
b									47,2		
Va									49,4		
b	1403	41	3	100	1,2	482	10,7	62,2	48,8	603,7	1209
VIa									50,6		
b	1431	32	3	102	2,2	487	10,1	68,8	49,4	615,3	1233
VII									51,6		
VIII	1403	4	2	100	1,9	495	9,9	70,6	50,4		
IXa									50,2		
b	1374	14	13	98	1,4	447	11,2	67,4	51,2	576,8	1155
c									57,4		
Xa	1459	25	2	104	1,3	496		75,0	62,0		
b					1,0	520	11,3	75,0	63,0	669,5	1340

suchungen ist es durchaus möglich, daß ein Teil der im Körper befindlichen Flüssigkeit während dieser Zeit nach außen abgegeben wird. Eine solche Abgabe wird dadurch möglich, daß die Hämolymphe zu dieser Zeit gegenüber dem Seewasser hypotonisch ist. Dies wiederum könnte auf dem Absinken der Ionen-Konzentration in der Hämolymphe beruhen.

Um zu prüfen, ob tatsächlich die Ionen die Osmolalität der Hämolymphe entscheidend beeinflussen, haben wir die Molarität der einzelnen von uns untersuchten Komponenten der Hämolymphe berechnet, die als osmotisch wirksame Substanzen in Frage kommen. Das Ergebnis ist in Tabelle 3 zusammengefaßt. Nur in den Stadien IIIb, IVa, Vb, VIb, IXb und Xb konnte für alle untersuchten Teilkomponenten die Molarität berechnet werden. Durch Summation dieser Molaritäten ergibt sich die Gesamtmolarität, die ungefähr der Osmolalität entspricht. Da von uns nur die Kationen quantitativ bestimmt worden sind, waren wir auf eine Schätzung der Molarität der Anionen angewiesen. Wie im folgenden Kapitel besprochen wird, liegt der pH-Wert der Hämolymphe nur wenig über dem Neutralpunkt. Deshalb darf man annehmen, daß die Zahl der Kationen ungefähr derjenigen der Anionen entspricht. Dabei haben wir angenommen, daß den zweiwertigen Kationen eine gleiche Anzahl zweiwertiger Anionen entspricht. Nach Untersuchungen von ROBERTSON (1937, 1957) kann der damit begangene Fehler vernachlässigt werden.

Ein Vergleich der auf diese Weise berechneten Osmolalität mit der tatsächlich gemessenen zeigt eine gute Annäherung und eine gleichsinnige Veränderung der berechneten und gemessenen Werte während des Häutungsintervalles. So sind die berechneten und die gemessenen Werte im Stadium VIb und Xb die höchsten und im Stadium IXb die niedrigsten. Durch diese Übereinstimmung bestätigen die auf verschiedenem Wege durchgeführten Messungen und Berechnungen einander. Die von uns untersuchten Komponenten sind also tatsächlich die für die Änderung des osmotischen Verhaltens der Hämolymphe entscheidenden Faktoren.

Aus dem Vergleich geht weiter hervor, daß rund 85 % der tatsächlich in der Hämolymphe osmotisch wirksamen Substanzen durch unsere Untersuchungen erfaßt worden sind. Wahrscheinlich entfallen die restlichen 15 % auf verschiedene Stoffwechselprodukte, die jeder für sich nur sehr wenig wirksam sind und daher die Veränderung der Osmolalität der Hämolymphe nicht entscheidend beeinflussen. Zu diesen nicht gemessenen oder nicht berücksichtigten Substanzen gehören z. B. die bekanntlich osmotisch wenig wirksamen Eiweiße, die Aminosäuren, deren Konzentration nach unseren Berechnungen unter 1mMol liegt, sowie Harnstoff, Ammoniak und anderes mehr.

Es erhebt sich nun die Frage, welche der untersuchten Komponenten osmotisch am wirksamsten sind. Wie man aus Tabelle 3 ersieht, ist die Konzentration der Na-Ionen rund eine Größenordnung höher als diejenige der anderen Ionen. Sie sind deshalb die osmotisch wichtigsten Ionen. Dies gilt nicht nur in bezug auf die Gesamtmenge, sondern auch auf die Veränderung des osmotischen Wertes während des Häutungsintervalles. An zweiter Stelle liegen die Mg- und Ca-Ionen, deren Konzentrationsänderung, besonders vor der Häutung, ebenfalls zur Änderung des osmotischen Wertes beiträgt. Von geringerer Bedeutung sind die Kalium-Ionen, die nur allgemein den osmotischen Wert der Hämolymphe heben, die aber, da sie in der Konzentration praktisch konstant bleiben, nicht für die Änderungen der Osmolalität in der Hämolymphe

verantwortlich gemacht werden können. Praktisch keinen Einfluß auf die Osmolalität hat der Glucose-Gehalt der Hämolymphe mit einer Konzentration von nur 1–2 mMol/l.

Der pH-Wert der Hämolymphe

Die Konstanz des pH-Wertes der Körperflüssigkeit ist die Voraussetzung für einen normalen Ablauf aller enzymatischen Stoffwechselprozesse. Entsprechende Untersuchungen wurden bisher vorwiegend an Wirbeltieren durchgeführt. Nach unseren Untersuchungen an *Carcinus maenas*, die zum Teil recht drastische Veränderungen in der Ionen-Konzentration der Hämolymphe aufgezeigt haben, mußte damit gerechnet werden, daß diese Veränderungen nicht mehr durch die Proteine als wichtigste Puffer-substanzen der Hämolymphe abgefangen werden können. Daher haben wir den pH-Wert der Hämolymphe in verschiedenen Stadien des Häutungsintervalls bestimmt.

Tabelle 4

pH-Werte der Hämolymphe von *Carcinus maenas* während eines Häutungsintervalls

Stadien	pH-Werte Seewasser pH 8,2	Mittlerer Fehler	Zahl der Einzel- werte	pH-Werte Seewasser pH 6,4	Mittlerer Fehler	Zahl der Einzel- werte
Ib	7,58	0,05	5			
IIb	7,64	0,03	5			
IIIb	7,76	0,05	5	7,46	0,04	6
IVa	7,60	0,05	5	7,60	0,10	2
b				7,55	0,02	6
Va				7,49	0,07	2
VIa	7,60	0,06	5			
b	7,55	0,05	5	7,68	—	1
VII	7,55	0,05	5			
IXb	7,63	0,03	5	7,60	0,02	2

Da die Abweichung des mittleren Fehlers vom Mittelwert mit maximal 0,8 % sehr gering ist, haben wir in jedem Stadium nur fünf Messungen durchgeführt. Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, bleibt der pH-Wert mit einer Ausnahme während des Häutungsintervalls in den untersuchten Stadien konstant. Leider konnten im Stadium Xb, wo die drastischsten Ionen-Konzentrationsveränderungen zu finden sind, aus Materialmangel bisher keine Untersuchungen durchgeführt werden. Da dieses Stadium zeitlich sehr eng begrenzt ist, war es schwierig, die entsprechenden Tiere rechtzeitig zu untersuchen. Interessanterweise ist im Stadium IIIb der pH-Wert zwar geringfügig, aber statistisch signifikant erhöht. Welche Bedeutung dieser Abweichung zukommt, kann zur Zeit noch nicht gesagt werden.

Nach den bisher durchgeführten Untersuchungen bleibt also der pH-Wert der Hämolymphe während des ganzen Häutungsintervalls praktisch konstant.

Die Kalzifizierung der Kutikula

Calciumcarbonat ist das wichtigste anorganische Mineral zur Härtung des Außenskelettes der Krebse. Nach der Häutung ist das Skelett völlig weich und kann seine Stützfunktion nicht ausüben. Da außerdem der harte Panzer als Schutz gegen Feinde dient, ist eine rasche Sklerotisierung der Kutikula nach der Häutung sehr wichtig. Bereits zahlreiche Autoren haben darauf hingewiesen (HECHT 1914, NUMANOI 1937, DRACH 1939, ROBERTSON 1960, ANDREWS 1967), daß der Calcium-Stoffwechsel der Krebse eng mit den Häutungsvorgängen verbunden ist. So finden vor der Häutung Resorptionen von Mineralstoffen aus der alten Kutikula statt, die z. B. zur Erhöhung des Calcium-Gehaltes der Hämolymphe und der Speicherung von Calcium in der Mitteldarmdrüse führen. Bei verschiedenen Süßwasserkrebsen wird das Calcium vor der Häutung in Form von Gastrolithen gespeichert. Nach der Häutung werden diese Calciumreserven wieder aufgelöst.

Die Kalzifizierung der neuen Kutikula beginnt erst nach der Häutung (DIGBY 1966, 1967). Dabei wird das Calciumcarbonat zuerst in Form kleiner Plättchen um die Porenkanälchen und Protuberanzen der Kutikula abgelagert. Erst nach und nach wachsen diese kristallinen Gebilde nach der Seite hin zusammen bzw. entlang den Porenkanälen in die Tiefe. Auch die neugebildeten Endokutikulaschichten werden in der gleichen Weise kalzifiziert, so daß es schließlich zu einer einheitlich verkalkten Endokutikula kommt.

Der Mechanismus der Calcium-Einlagerung in die Kutikula war bisher noch unklar. Zwar wurde in Analogie zu den Kalzifizierungsprozessen in den Wirbeltierknochen angenommen, daß das Calcium auf Grund enzymatischer Reaktionen eingelagert wird, aber es fehlten hierfür entsprechende Untersuchungen. Inzwischen konnte DIGBY (1966, 1967) zeigen, daß die Kalzifizierung bei *Carcinus maenas* und wohl bei allen marinen Krebsen auf elektrochemischen Vorgängen beruht.

Im folgenden sollen zunächst die Veränderungen des Calcium-Gehaltes der Tiere während eines Häutungsintervalles und danach der Mechanismus der Kalzifizierung untersucht werden.

Die Veränderungen des Calcium-Gehaltes während eines Häutungsintervalles

Gesamt-Ca-Gehalt

Der Calcium-Gehalt hängt in erster Linie von der Größe der Tiere und ihrem Häutungsstadium ab. Um vergleichbare Werte zu erhalten, haben wir den Calcium-Gehalt verschieden großer Tiere, von dem Trockengewicht ausgehend so umgerechnet, daß er sich auf ein Tier von 1 g Frischgewicht bezieht.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt. Bei diesen Berechnungen geht neben dem methodischen Fehler der Calcium-Bestimmung auch der Fehler der Trockengewichts-Bestimmung ein. Deshalb ist der gesamte methodische Fehler relativ hoch. Dort wo nur wenige Messungen durchgeführt wurden, beträgt die Abweichung des mittleren Fehlers bis zu 10 % vom Mittelwert. Deshalb müssen die Absolutwerte mit

Tabelle 5

Der Gesamtcalciumgehalt von *Carcinus maenas* während eines Häutungsintervalls

Stadium	Gesamt-Ca-Gehalt (mg/T [*])	Zahl der Einzelwerte	Kutikula (mg/g T [*])	Zahl der Einzelwerte	Hämolymphhe (mg Ca/T [*])	Zahl der Einzelwerte
Ia	4,0	2			0,20	11
b	10,0	1			0,20	12
IIa	12,5	2			0,21	10
b	29,6	1	18,8	2	0,19	12
IIIa	34,0	5	27,2	4	0,16	10
b	43,1	10	37,6	1	0,19	10
c	48,0	1	44,0	1	0,15	11
IVa	54,7	3	48,0	3	0,13	16
b	50,2	7	47,0	3	0,14	12
Va	50,8	3	44,0	3	0,16	11
b	53,1	7	44,0	2	0,16	14
VIa			48,0	3	0,16	11
b	55,1	4	48,2	2	0,16	10
VII	53,5	4	52,0	1	0,17	11
VIII	53,4	9	48,0	4	0,17	13
IXa	44,0	2	48,0	3	0,17	12
b	53,2	25	43,4	4	0,17	17
c	42,0	3	42,0	2	0,18	11
Xa	45,3	4	44,4	1	0,20	12
b	52,3	4			0,20	12
c	44,0	4			0,25	14

* Die Werte geben den Calciumgehalt eines Tieres von 1,0 g Frischgewicht an.

einer gewissen Vorsicht betrachtet werden. Trotzdem ergibt sich ein klares Bild: Unmittelbar nach der Häutung, wenn das Tier noch völlig weich ist, ist der Calcium-Gehalt sehr niedrig. Er nimmt dann rasch zu und erreicht im Stadium IIIc bis IVa seinen Endwert. Das bedeutet, daß bis zu diesem Stadium, dem Beginn der Regeneratbildung, die Kalzifizierung der Kutikula anhält. Sie erfolgt allerdings vom Stadium IIIb ab nicht mehr so intensiv wie vorher. Vom Stadium IVa bis zum Stadium Xb bleibt der Calcium-Gehalt unverändert und fällt erst während der Häutung, aber noch vor dem Abwerfen des alten Panzers, geringfügig ab. Dieser Abfall wird wahrscheinlich dadurch vorgetäuscht, daß die Tiere Seewasser in sich aufnehmen, das selbst einen geringeren Calcium-Gehalt hat. Auf diese Weise wird das Frischgewicht, aber nicht das Trockengewicht der Tiere erheblich erhöht.

Unmittelbar nach der Häutung ist der Calcium-Gehalt auf ungefähr 10 % des Vorhäutungswertes abgefallen. Das bedeutet, daß 90 % und mehr des Calciums in der Kutikula festgelegt sind und bei der Häutung mit der alten Exuvie verlorengehen. Dies wird durch die Bestimmung des Calcium-Gehaltes der Kutikula und der Exuvie bestätigt.

Der Ca-Gehalt der Kutikula und der Exuvie

Das Ergebnis der Calcium-Bestimmungen der Kutikula und der abgeworfenen Exuvien ist in Tabelle 5 zusammengefaßt. Die Meßwerte wurden in der gleichen Weise wie vorher auf ein Tier von 1 g Frischgewicht bezogen.

Leider konnten in den Stadien unmittelbar nach der Häutung bisher keine Bestimmungen durchgeführt werden. In dem Stadium IIb, dem ersten, in dem Bestimmungen nach der Häutung durchgeführt wurden, enthält die Kutikula nur halb soviel Calcium wie in den späteren Stadien. Erst in den Stadien IIIc bis IVa ist der Endwert erreicht, also zur gleichen Zeit wie bei dem Gesamt-Ca-Gehalt.

Das deutet darauf hin, daß das Calcium, das die Tiere aufnehmen, sofort in die Kutikula eingelagert wird.

Interessant ist, daß der Calcium-Gehalt der Kutikula nach der Apolyse vom Stadium Xa an um 10–20 % absinkt. Offenbar wird aus der von der Epidermis abgelösten Kutikula eine bestimmte Menge Calcium resorbiert oder herausgelöst. Der Rest des in der Kutikula enthaltenen Calciums geht mit der Exuvie verloren. Dies wurde durch die Bestimmungen des Ca-Gehaltes zahlreicher Exuvien bestätigt.

Der Ca-Gehalt der Kutikula unterscheidet sich von demjenigen des gesamten Tieres um ca. 10 %. Der überwiegende Teil des Calciums der Krebse ist also in der Kutikula lokalisiert.

Der Ca-Gehalt der Hämolymphe

Die Veränderungen des Ca-Gehaltes in der Hämolymphe sind bereits weiter oben beschrieben worden. Unter anderem wurde festgestellt, daß sich der Ca-Gehalt vor der Häutung beträchtlich erhöht. Im folgenden soll abgeschätzt werden, in welcher Größenordnung der wirkliche Ca-Gehalt der Hämolymphe liegt.

Da die tatsächliche Menge der Hämolymphe aus technischen Gründen nicht zu bestimmen war, ist man auf Schätzungen angewiesen. Im vorliegenden Fall wurde angenommen, daß ungefähr die Hälfte der Flüssigkeitsmenge, die die Krebse enthalten, Hämolymphe ist. Dieser Wert ist wahrscheinlich noch zu hoch veranschlagt. Legt man nun die Meßwerte zu Grunde, die durch die Bestimmung des Ca-Gehaltes definierter Hämolympfmengen erhalten wurden, so erhält man die in Tabelle 5 aufgeführten Werte.

Daraus ergibt sich, daß der Ca-Gehalt der Hämolymphe weniger als 0,5 % des Gesamt-Ca-Gehaltes beträgt. Nur vor der Häutung steigt der Ca-Gehalt auf etwas über 0,5 % an. Für den Gesamt-Ca-Gehalt ist also das in der Hämolymphe vorhandene Calcium ohne Bedeutung. Daher scheidet auch die Hämolymphe als eventuelles Speicherorgan für Calcium vor der Häutung aus. Die Erhöhung des Ca-Spiegels vor der Häutung muß deshalb eine andere Bedeutung haben. Nach unseren Untersuchungen liegt sie in der Erhöhung des osmotischen Wertes.

Da der Ca-Gehalt in der Kutikula vor der Häutung etwas abnimmt, der Ca-Spiegel in der Hämolymphe aber ansteigt, darf man vermuten, daß ein Teil des aus der Kutikula herausgelösten Calciums in die Hämolymphe übergeht.

Der Mechanismus der Kalzifizierung

Im folgenden soll auf den Mechanismus der Kalzifizierung eingegangen werden. Hierbei handelt es sich um Befunde von DIGBY (1966, 1967) an *Carcinus maenas*. Er konnte feststellen, daß zur Zeit der Kalzifizierung die dafür in Frage kommenden

Enzyme, die alkalische Phosphatase und die Carboanhydrase, weder vermehrt auftreten, noch am Ort der Kalzifizierung, d. h. in der Epidermis bzw. Kutikula, angereichert sind.

Deshalb war es von vornherein unwahrscheinlich, daß eine enzymatische Kalzifizierung den Hauptweg darstellt. Seine Untersuchungen über die Kutikulastruktur deuteten vielmehr darauf hin, daß es sich um eine Ausfällung des Kalks auf Grund einer alkalischen Reaktion handelt. In Modellversuchen konnte er nachweisen, daß drei Voraussetzungen für eine solche Reaktion gegeben sein müssen: (1) Vorgänge, die die Innenseite der Kutikula elektronegativer gegen die zu kalzifizierende Außenseite machen. Wie er zeigen konnte, erfolgt dies auf dem Wege einer ständigen Diffusion von Salz durch die Kutikula hindurch ins Außenmedium. (2) Die Anwesenheit von Halbleiterkomplexen in der Kutikula. Durch Anfärben mit Nilblausulfat konnten die in der Kutikula eingelagerten Proteine als Halbleiterkomplexe identifiziert werden. Erst durch einen Salzgradienten entlang dieser Komplexe kommt es zum Aufbau eines Potentials. (3) Ein genügender Vorrat von Kalk im Außenmedium. Unter Berücksichtigung dieser Voraussetzungen konnte DIGBY an isolierten, vorher entkalkten Kutikulastückchen von *Carcinus maenas* eine naturgetreue Kalzifizierung *in vitro* erzielen.

Durch eine Erhöhung des Salzgradienten muß die Kalzifizierung *in vitro* und *in vivo* verstärkt und durch eine Erniedrigung verringert bzw. ganz eingestellt werden. Bei einer Umkehrung des Gradienten sollte es zu einer Verkalkung der inneren Kutikulaschichten kommen. Die entsprechenden Reaktionen konnte DIGBY durch Erniedrigung bzw. Erhöhung der Salzkonzentration im Außenmedium tatsächlich auslösen. Es muß daher angenommen werden, daß die Kalzifizierung der Kutikula von *Carcinus maenas*, und wahrscheinlich von allen anderen marinen Krebsen auch, ein vorwiegend elektrochemischer Vorgang ist.

Die Abhängigkeit des Ca-Gehaltes der Gewebe vom pH-Wert im Außenmedium

Einen weiteren Beweis für die Richtigkeit des elektrochemischen Kalzifizierungsmechanismus haben unsere Untersuchungen ergeben, die auf folgender Überlegung beruhen:

Die Kalzifizierung kommt durch die alkalische Ausfällung des Calciums auf Grund der kathodischen Wirkung der äußeren Kutikulaoberfläche zustande. Hebt man die kathodische Wirkung der Oberfläche dadurch auf, daß man den pH-Wert des Seewassers vom alkalischen in den sauren Bereich hin verändert, so kann eine elektrochemische Kalzifizierung nicht mehr stattfinden, und es kommt höchstens zu einer stark verringerten Verkalkung der Kutikula auf Grund enzymatischer Reaktionen. Um diese Hypothese zu prüfen, wurde der pH-Wert des Seewassers von 8,2 auf 6,4 gesenkt. Diese Veränderung vertragen die Tiere ohne sichtbare Entwicklungsstörungen. Folgenreich wird die pH-Verschiebung allerdings bei der Häutung der Krebse. Etwa 80 Prozent der Krebse überleben die Häutung nicht, auch dann, wenn es ihnen noch gelingt, sich aus der alten Kutikula zu befreien. Diese Tiere weisen nur einen geringen Größenzuwachs auf, sind völlig weich und machen einen schlaffen Eindruck.

Die wenigen überlebenden Tiere weisen einen geringeren Größenzuwachs als die unter normalen Bedingungen gehaltenen Tiere auf. Ihre Kutikula ist noch lange Zeit nach der Häutung, wenn diejenige der normalen Tiere voll ausgehärtet ist, dünn und biegsam. Dieser Beobachtung entspricht die Messung der Kutikulastärke von Versuchstieren und von Tieren unter normalen Bedingungen. Während die Kutikula von 11 im sauren Milieu gehaltenen Tieren im Mittel nur 0,18 mm betrug, war die von 25 gleich großen Tieren, die unter normalen Bedingungen gehalten wurden, nach der gleichen Zeit durchschnittlich 0,27 mm stark. Die weiteren Untersuchungen bestätigten die Annahme, daß unter den Versuchsbedingungen die Kalzifizierung herabgesetzt ist. Leider konnten wegen der hohen Sterblichkeit nur wenige Tiere untersucht werden.

Der Gesamt-Ca-Gehalt

Wie bei der Berechnung des Ca-Gehaltes der unter normalen Bedingungen gehaltenen Tiere wurde auch im vorliegenden Fall der Ca-Gehalt so umgerechnet, daß er demjenigen eines Tieres von 1,0 g Frischgewicht entspricht. In Tabelle 6 werden die Werte der im sauren und normalen Milieu gehaltenen Tiere miteinander verglichen. Der Gesamt-Ca-Gehalt der im sauren Milieu gehaltenen Tiere ist signifikant geringer als derjenige der Tiere, die unter normalen Bedingungen gelebt haben. Damit ist die eingangs aufgestellte Hypothese bestätigt und ein weiterer Beweis für den Mechanismus einer elektrochemischen Kalzifizierung der Krebskutikula erbracht. Auf welche Weise das in den Versuchstieren noch gefundene Calcium eingelagert wird, muß noch geprüft werden. Vermutlich spielen hier enzymatische Prozesse eine Rolle.

Ein weiterer Befund, der für den hier vertretenen Kalzifizierungsmechanismus spricht, ergibt sich aus dem folgenden Umsetzungsexperiment: Tiere verschiedener Häutungsstadien, die vorher mehr als acht Tage im Seewasser von pH 8,2 gelebt haben, wurden für 6–7 Tage in Seewasser von pH 6,4 umgesetzt. Dann wurde ihr Gesamt-Ca-Gehalt bestimmt. Das Ergebnis ist ebenfalls in Tabelle 6 dargestellt. Daraus ersieht man, daß der Ca-Gehalt dieser Tiere gegenüber demjenigen der unter Normalbedingungen gehaltenen Tiere sich erheblich verringert hat. Es muß sich also Calcium aus der Kutikula in das Seewasser hinein gelöst haben. Dies wird nur dadurch verständlich, daß durch die pH-Verschiebung die Ursache für die Ausfällung von Calciumcarbonat aus der Kutikula aufgehoben wurde und sich das niedergeschlagene Material teilweise wieder gelöst hat.

Tiere, die nur 3 oder 4 Tage unter veränderten Bedingungen gelebt haben, unterscheiden sich noch nicht in ihrem Ca-Gehalt von den Kontrolltieren. Aus Materialmangel konnte bisher der Ca-Gehalt der Kutikula nicht gesondert untersucht werden.

Der Ca-Gehalt der Hämolymphe

Frühere Untersuchungen haben ergeben (ADELUNG, unveröffentlicht), daß der Ca-Gehalt der Hämolymphe bei Tieren im sauren Milieu ungefähr auf das Doppelte des Normalwertes ansteigt. Jetzt durchgeführte Untersuchungen zeigen dagegen, daß

Tabelle 6
 Der Gesamtcalciumgehalt von Strandkrabben, die im sauren und alkalischen Milieu gehalten bzw. vom alkalischen in das saure Milieu gesetzt wurden

Stadium	Gesamt- Ca-Gehalt (mg/l) Milieu pH 8,2	Zahl der Einzel- werte	Gesamt- Ca-Gehalt (mg/l) Milieu pH 6,4	Zahl der Einzel- werte	Gesamt- Ca-Gehalt (mg/l) Milieu- wechsel 7-8 Tage pH 6,4	Zahl der Einzel- werte	Ca-Gehalt der Hämolymphe (mVal/l) Milieu pH 8,2	Zahl der Einzel- werte	Ca-Gehalt der Hämolymphe (mVal/l) Milieu- wechsel 7-8 Tage pH 6,4	Zahl der Einzel- werte
IIIb	43,1	10			36,5	2	22,5	10	20,4	14
IVa	54,7	3			34,3	2	22,4	16	33,5	1
b	50,2	7		3	28,8	3	23,6	12	24,2	2
Va	50,8	3	33,7	1			24,7	11		
b	53,1	7	41,2	2			24,4	14	21,9	1
VIa					32,7	2	25,3	11		
VIII	53,4	9			42,5	1	25,2	13		
IXb	53,2	25			40,7	5	25,6	17		
c	42,0	5			47,3	5	28,7	11		

Tiere, die vorher im normalen Milieu gelebt haben und nur 7–8 Tage im sauren Milieu gehalten wurden (vgl. Tab. 6) keinen wesentlich veränderten Ca-Gehalt in der Hämolymphe haben. Dieser Widerspruch konnte noch nicht geklärt werden. Wahrscheinlich beruht er aber darauf, daß in den früheren Versuchen der pH-Wert unkontrollierten Schwankungen unterlegen war.

Solche Tiere, die nur 1–2 Tage im sauren Milieu gelebt haben, zeigen allerdings z. T. eine deutliche Erhöhung ihres Ca-Spiegels in der Hämolymphe. Da die Werte nicht einheitlich sind, wurden in Tabelle 7 nur die Einzelwerte aufgeführt. Obwohl vor der Untersuchung das Häutungsstadium der Tiere nicht bestimmt worden war, ergeben sich nur geringe Schwankungen im Ca-Gehalt der Kontrolltiere. Dagegen

Tabelle 7

Der Calciumgehalt der Hämolymphe von Strandkrabben, die 1 bzw. 2 Tage im sauren Milieu gehalten wurden. Die Tiere lebten vor der Umsetzung über einen Monat in normalen Seewasserbedingungen

pH 8,2 (mVal Ca/l)	Tage in pH 6,4	
	1 Tag (mVal Ca/l)	2 Tage (mVal Ca/l)
24,8	21,8	21,5
26,4	24,4	24,0
27,2	25,6	26,4
27,2	27,2	31,2
26,8	27,2	31,2
28,0	28,0	31,5
28,4	30,2	31,5
28,4	30,4	32,0
28,8	30,4	33,6
28,8	32,0	
28,8	33,0	
	36,0	
	36,8	

weisen die umgesetzten Tiere erhebliche Schwankungen auf. Diese sind für die Tiere, die nur einen Tag unter veränderten Bedingungen gelebt haben, größer als für diejenigen, die zwei Tage im Experiment waren.

Um diese Unterschiede deuten zu können, müssen noch weitere Versuche durchgeführt werden. Man kann aber vermuten, daß bei den Tieren, die nur kurze Zeit im sauren Milieu gelebt haben und bei denen, wie wir gesehen haben, die Auslösung des Calciums aus der Kutikula noch in vollem Gange ist, ein Teil des Calciums in die Hämolymphe übergeht und dort zu einer vorübergehenden Erhöhung des Ca-Spiegels führt.

Der pH-Wert der Hämolymphe

Wie bereits besprochen, ändert sich der pH-Wert der Hämolymphe unter normalen Bedingungen praktisch nicht. Daher war es interessant, den pH-Wert solcher Tiere zu messen, die längere Zeit (7 Tage und mehr) in einem extrem sauren Außenmedium

gelebt haben. Aus Tabelle 4 geht hervor, daß auch bei diesen Tieren der pH-Wert unverändert bleibt. Allenfalls läßt sich eine geringfügige Erniedrigung des pH-Wertes feststellen, die aber nicht statistisch gesichert werden kann.

Die Osmolalität der Hämolymphe

Bei Tieren, die unter normalen Bedingungen gehalten wurden, ist die Hämolymphe mit Ausnahme der Zeit kurz vor und nach der Häutung zum Seewasser isotonisch oder höchstens leicht hypotonisch. Der osmotische Wert der im sauren Milieu gehaltenen Tiere ist dagegen erheblich niedriger als derjenige des Außenmediums, d. h. die Hämolymphe ist ausgeprägt hypotonisch zum Seewasser. Dies sollte einen von außen nach innen gerichteten Salzgradienten verursachen. Neben der Neutralisierung der kathodischen Wirkung der Oberfläche durch das saure Außenmilieu dürfte dies ein weiterer Grund dafür sein, daß die Kutikula der Versuchstiere nur wenig kalzifiziert werden kann, da zwei Voraussetzungen für die elektrochemische Kalzifizierung nicht erfüllt worden sind.

Auf welchen Veränderungen beruht aber die Erniedrigung des osmotischen Wertes der Hämolymphe? Erste Untersuchungen der Ionen-Konzentration zeigen, daß sich die Natrium-Ionen-Konzentration nicht ändert und die Calcium- und Kalium-Ionen-Konzentration sich sogar geringfügig erhöht. Danach müßte es eher zu einer Erhöhung des osmotischen Wertes kommen, so daß die von uns untersuchten anorganischen Ionen nicht als entscheidende Faktoren in Frage kommen. Erst weitere Untersuchungen können über die Ursache Aufschluß geben.

DISKUSSION

Bisher konnten wegen methodischer Schwierigkeiten zahlreiche marine Krebse nicht längere Zeit im Laboratorium gehalten werden. Daher konnten auch keine umfassenden Untersuchungen über den Einfluß verschiedener exogener und endogener Faktoren auf die Auslösung der Häutungen und den Häutungsstoffwechsel gemacht werden. Vielmehr war man darauf angewiesen, stichprobenartig Tiere, die sich in verschiedenen Häutungsintervallstadien befanden, nach kurzer Haltung unter Laborbedingungen auszuwählen und zu untersuchen. Meistens wurden dann nur einige Faktoren an ein und demselben Tier untersucht. Der Vergleich der Ergebnisse verschiedener Tiere von unterschiedlicher Lebensweise führte zu zahlreichen Widersprüchen.

Durch die beschriebenen Haltungsbedingungen gelang es uns, einen typischen Vertreter der marinen Decapoden, die Strandkrabbe, über einen ganzen Entwicklungsabschnitt, von der Metamorphose bis zum geschlechtsreifen Tier, unter kontrollierten Laboratoriumsbedingungen zu halten. Erst dadurch wurde es möglich, die Entwicklungsgeschwindigkeit der Tiere während eines Häutungszyklus als wichtigen Faktor zu berücksichtigen und systematische Untersuchungen zur Häutungsphysiologie der Krebse durchzuführen.

Der Häutungsrythmus unter konstanten Bedingungen

Für exakte häutungsphysiologische Untersuchungen ist es wesentlich, den Häutungsrythmus der Tiere genau zu kennen. Wie sich zeigte, häutet sich die Strandkrabbe unter konstanten Laborbedingungen in bestimmten vorhersagbaren zeitlichen Abständen. Dabei erwies sich, daß außer den konstant gehaltenen Temperatur-, Licht- und Ernährungsbedingungen keine periodischen Faktoren die Häutungstätigkeit der Krebse beeinflussen. Allerdings häuten sich nicht alle Krebse gleich schnell, sondern mit zunehmender Körpergröße werden die Häutungsintervalle der Tiere in regelmäßiger Weise länger. Es tritt also eine der Größe entsprechende Verlangsamung des Häutungsrythmus ein.

Von größter Bedeutung war die Feststellung, daß unter gleichbleibenden Umweltbedingungen alle Tiere unabhängig von ihrer Größe bei jeder Häutung den gleichen relativen Größenzuwachs erfahren. Dies setzt einen Mechanismus voraus, der die Tiere veranlaßt, sich erst dann zu häuten, wenn sie diesen Größenzuwachs auch tatsächlich bei der Häutung erreichen können. Es ist leicht vorstellbar, daß ein solcher Größenzuwachs nur erreicht werden kann, wenn vorher in den Tieren ein gewisses Gewebewachstum oder eine Ansammlung von Reservematerial stattgefunden hat.

Dieses Wachstum muß in irgendeiner Weise mit der Auslösung der Häutungen kausal gekoppelt sein. Über die Art dieses Kausalzusammenhanges gaben die weiteren Untersuchungen gewisse Aufschlüsse.

Der Einfluß äußerer Faktoren

Die untersuchten Umweltfaktoren Temperatur, Licht, Ernährung, Artgenossen und Gliedmaßenverlust beeinflussen nicht nur den Häutungsrythmus, sondern zum Teil – innerhalb gewisser Grenzen – auch den Größenzuwachs bei den Häutungen.

Die Temperatur beeinflusst den Häutungsrythmus, wie die erhaltenen Ergebnisse zeigen, nicht spezifisch. Vielmehr wirkt sie offensichtlich in gleicher Weise auf sämtliche Stoffwechselprozesse. Bei Kälte werden diese verlangsamt und damit natürlich auch der Häutungsstoffwechsel. Dies wird dadurch bestätigt, daß der Temperatureinfluß auch nach der Ausschaltung des häutungshemmenden Hormones in gleicher Weise wie vorher bestehen bleibt. In diesem Zusammenhang wird es auch verständlich, daß die Temperaturunterschiede sich nur auf die Häutungsintervalldauer auswirken, nicht aber auf den Größenzuwachs, den die Tiere bei der Häutung erfahren. Die Temperatur reguliert den Häutungsrythmus also dadurch, daß sie die Geschwindigkeit der Stoffwechselprozesse festlegt, die das Wachstum bedingen, das jeweils zur Häutung erforderlich ist.

Auch die Ernährung der Tiere wirkt sich in erster Linie in derselben Weise auf die Häutungsintervalldauer aus. Auch sie bedingt nur geringfügige Änderungen im Größenzuwachs. Dieser Befund muß als weiterer Beweis dafür gewertet werden, daß die Krebse normalerweise erst einen bestimmten Gewebewachstumsbetrag erreicht haben müssen, bevor sie sich häuten können. Da natürlich bei mangelhafter Ernährung dieses Wachstum langsamer erfolgt als bei optimaler Ernährung, ist es verständ-

lich, daß die Häutungsauslösung entsprechend verzögert wird. Nach diesen Befunden scheint der Häutungsrythmus allein eine Funktion des Wachstums zu sein. Wie die folgenden Untersuchungen zeigten, trifft dies zwar weitgehend zu, ist aber kein starres Prinzip.

In Anwesenheit größerer Artgenossen wird die Häutung beträchtlich verzögert, auch wenn die Krebse genügend Futter zu sich nehmen können. Außerdem bleiben die Tiere bei der Häutung deutlich kleiner als ihre isoliert gehaltenen Artgenossen. Offenbar ist es dem Krebs in bestimmten Lagen möglich, sich zu häuten, ohne das dazu normalerweise erforderliche Wachstum erreicht zu haben. Gerade wenn die Häutung schon sehr lange verzögert wurde, muß sich der Krebs offenbar schließlich häuten, sobald ein bestimmter Mindestwachstumsbetrag erreicht worden ist.

Wodurch wird nun aber die Häutung verzögert? Auch hier scheint das Wachstum eine entscheidende Rolle zu spielen. Es konnte beobachtet werden, daß die Tiere in Anwesenheit größerer Artgenossen meist zurückgezogen in den Winkeln ihrer Zuchtbehälter sitzen und weniger Nahrung zu sich nehmen als isoliert gehaltene Tiere, obwohl sie ihre größeren Partner nicht direkt an der Nahrungsaufnahme hindern und ihnen genug Futter zur Verfügung steht. Die geringere Nahrungsaufnahme muß aber dazu führen, daß auch der zur Häutung notwendige Mindestwachstumsbetrag erst später erreicht wird. Dies hat wiederum eine entsprechende Verzögerung der Häutung zur Folge.

Die biologische Auswirkung dieser Häutungsverzögerung dürfte darin liegen, daß die bei der Häutung wehrlosen kleineren Tiere vor ihren größeren Artgenossen geschützt bleiben. Dem entspricht zumindest, daß die kleinen Krebse, wenn sie von einem festen Panzer umgeben sind, nur sehr selten von größeren Artgenossen getötet werden, dagegen fast regelmäßig, wenn sie frisch gehäutet und weich sind.

Im Falle einer Überpopulation dürfte es den kleinen Krebsen schwerfallen, sich zu den Häutungen von ihren größeren Artgenossen zu isolieren. Man könnte diskutieren, ob der Kannibalismus nicht als arteigener Mechanismus zur Steuerung von Überpopulationen wirksam werden könnte.

Das Licht hat einen wesentlich geringeren Einfluß auf die Häutungsauslösung als die Artgenossen. Aber auch hier sind Unterschiede feststellbar. Bei Dauerlicht häuten sich die Tiere verzögert und werden bei der Häutung weniger groß verglichen mit Tieren, die unter Kurztagsbedingungen gehalten werden. Der Kurztag scheint die für die Entwicklung der Krebse günstigste Lichtbedingung zu sein. Auch bei Dauerlicht scheint die Häutungsverzögerung auf dieselbe Weise wie bei dem Einfluß der Artgenossen erreicht zu werden, nämlich durch eine geringere Nahrungsaufnahme der Tiere.

Wie im vorhergehenden Fall kann auch der hemmende Einfluß des Dauerlichtes als Schutzreaktion verstanden werden. Unter natürlichen Bedingungen suchen die Tiere zur Häutung dunkle Verstecke auf, um vor ihren Feinden geschützt zu sein. Daher könnte Dauerlicht für sie Schutzlosigkeit bedeuten. Diese ist natürlich für das sich häutende Tier gefährlicher als für das sich nicht-häutende Tier.

Die besprochenen Umweltfaktoren wirken also nach unseren Befunden und Beobachtungen sehr wahrscheinlich dadurch häutungsverzögernd, daß sie die Nahrungsaufnahme beeinträchtigen und so der zur Häutung notwendige Wachstumsbetrag später als normal erreicht wird.

Entgegengesetzt wirkt sich der Einfluß des Gliedmaßenverlustes aus. Nach Gliedmaßenverlust häuten sich die Tiere vorzeitig. Dafür werden sie auch nicht so groß wie normale Tiere. Hier wird also das Prinzip, daß ein bestimmter Größenzuwachs bei den Häutungen garantiert sein muß, durchbrochen. Aber gerade diese Ergebnisse beweisen, daß der bei der Häutung erzielte Größenzuwachs direkt von der Nahrungszufuhr im vorherigen Häutungsintervall abhängt.

Die biologische Auswirkung ist wiederum klar: Durch den Verlust zahlreicher Beine ist der Krebs in seiner Bewegungsfreiheit eingeschränkt und damit bei der Nahrungssuche und der Verteidigung gegen Feinde behindert. Es ist also für ihn vorteilhaft, sich möglichst bald zu häuten, da erst bei der Häutung die Regenerate der verlorenen Gliedmaßen funktionsfähig werden. Dies geschieht am schnellsten, wenn die Tiere sich bereits häuten, bevor der normalerweise zur Häutung notwendige Wachstumsbetrag erreicht worden ist.

Offen bleibt noch die Frage, auf welche Weise die ungünstigen Umweltbedingungen in die Entwicklung eingreifen. Aufschlußreich ist hier die Wirkung größerer Artgenossen auf kleine Partner. Nach unseren Versuchsergebnissen ist es sehr wahrscheinlich, daß hier taktile und optische Wahrnehmungen, die über die entsprechenden Sinnesorgane aufgenommen werden, entscheidend sind. Dafür spricht, daß zumindest in einigen Fällen die Häutungen verzögert werden, wenn die Krebse ihre größeren Partner nur sehen bzw. bei völliger Dunkelheit nur fühlen können. Im letzteren Fall müssen sie dabei in der Lage sein, die Körpergröße ihrer Partner abzuschätzen.

Obwohl es nicht geprüft worden ist, erscheint es plausibel, daß auch das Licht auf die optischen Sinnesorgane einwirkt.

Die Ernährung könnte dagegen die Häutungsverzögerung ohne den Umweg über Sinneswahrnehmungen direkt über das Gewebewachstum beeinflussen. Wie die weiteren Ergebnisse zeigen, sind auch hier Informationsverarbeitungen im Zentralnervensystem – also im gewissen Sinne „Sinneswahrnehmungen“ – beteiligt.

Auf welche Weise der Gliedmaßenverlust den Häutungsrythmus beeinflusst, bleibt zunächst noch ungeklärt. Möglich sind propriorezeptorische Sinneswahrnehmungen oder die Wirkung endogener Faktoren.

Die hormonale Kontrolle der Häutungen

Aus dem bisher Gesagten über den Mechanismus der Häutungsverzögerung ergeben sich vor allem zwei Fragen: Auf welche Weise nimmt das Tier wahr, daß der zur Häutung notwendige Wachstumsbetrag erreicht worden ist und auf welche Weise wird vorher verhindert, daß es zur Häutung kommt? Die Antwort geben die Untersuchungen über das häutungshemmende Hormon. Obwohl die Amputation der Augenstiele neben der Ausschaltung des häutungshemmenden Hormons noch zahlreiche andere Auswirkungen auf die Krebse hat, läßt sich die spezifische Wirkung des häutungshemmenden Hormons davon gut unterscheiden. Bereits die Untersuchungen von HANSTRÖM (1934), BLISS & WELSH (1952) und PASSANO (1953) zeigen, daß sich die operierten Tiere schneller als gesunde häuten, also eine Häutungshemmung durch die Operation weggefallen ist. Neu ist dagegen die Beobachtung, daß sich auch verschieden

große Tiere nach der Operation gleich schnell häuten. Dieses wichtige Resultat beweist, daß der Faktor Körpergröße die Auslösung der Häutungen über das häutungshemmende Hormon verzögert. Größere Tiere müssen mehr und länger häutungshemmendes Hormon ausschütten als kleine.

Die augenstiellosen Tiere zeigen, daß an sich eine gleich schnelle Häutung kleiner und großer Tiere möglich ist und auch automatisch erfolgt, sobald das häutungshemmende Hormon ausgeschaltet wird.

Auch der Einfluß der Ernährung wird durch die Ausschaltung des häutungshemmenden Hormons aufgehoben. Die normalen Unterschiede werden allein durch die Abgabe dieses Hormons gesteuert: Nach der Operation häuten sich die Tiere nicht nur unabhängig davon, um wieviel sie bei der Häutung größer werden, sondern – was das gleiche bedeutet – auch unabhängig davon, wieviel Nahrung sie vorher zu sich genommen haben. Dies kann wieder als Beweis dafür gelten, daß tatsächlich normalerweise über das Gewebewachstum die Häutungsauslösung kontrolliert wird.

Dies geschieht aber nicht direkt durch eine etwaige stoffwechselphysiologische Koppelung, sondern indirekt über das Zentralnervensystem, welches das häutungshemmende Hormon abgibt. Das häutungshemmende Hormon scheint also der einzige Faktor zu sein, der eine Häutung direkt verhindert. Alle anderen hemmenden Faktoren müssen offenbar über diese zentrale Stelle wirken.

Aus dem bisher Gesagten ergibt sich, daß in den Krebsen auch unter optimalen Bedingungen eine gewisse Menge häutungshemmenden Hormons ausgeschüttet wird, die von der Größe der Tiere abhängig ist.

Erst wenn die Ausschüttung des häutungshemmenden Hormons eingestellt ist, kommt es in dem Y-Organ zur Bildung und Ausschüttung des eigentlichen Häutungshormons Crustecdyson. Die Umweltfaktoren scheinen nun wiederum auch nicht direkt über das Zentralnervensystem auf das häutungshemmende Hormon einzuwirken, sondern auf dem Umweg über das Verhalten der Tiere, nämlich die Nahrungsaufnahme und das dadurch bedingte Gewebewachstum. Dieses bewirkt die Ausschüttung von häutungshemmenden Hormon.

Die frühere Auffassung (ADELUNG & BÜCKMANN 1964), daß die Umweltfaktoren direkt über die Sinnesorgane und das Nervensystem die Ausschüttung von häutungshemmenden Hormon bedingen, und dieses unter anderem eine geringere Nahrungsaufnahme verursacht, muß deshalb revidiert werden. Unter anderem auch deshalb, weil die Tiere unter für sie ungünstigen Umweltbedingungen weniger Nahrung zu sich nehmen, andererseits aber unter günstigen Bedingungen große Tiere, die wie erwähnt, mehr häutungshemmendes Hormon ausschütten müssen, genauso begierig Nahrung aufnehmen wie kleine Tiere.

Die hormonale Kontrolle des Häutungsstoffwechsels

Auf Grund der Untersuchungen von PASSANO (1953) und ECHALIER (1954) muß angenommen werden, daß, nachdem die Ausschüttung von häutungshemmenden Hormon eingestellt worden ist, Häutungshormon ausgeschüttet und damit die Häutung ausgelöst wird. Es ergibt sich nun die Frage, ob das Häutungshormon nur zur Aus-

lösung der Häutungen benötigt wird, oder ob es mehrfach steuernd in den Häutungsprozeß eingreifen muß. Für eine einmalige auslösende Wirkung des Häutungshormons sprechen die Befunde von ECHALIER (1954), der zeigen konnte, daß eine Häutung auch dann abläuft, wenn unmittelbar nach der Auslösung der Häutung die Häutungsdrüse herausoperiert wird. Zwar verläuft dann der gesamte Häutungsprozeß langsamer, aber er läuft normal ab. Trotzdem muß dies nicht unbedingt gegen ein mehrmaliges Eingreifen des Häutungshormons in den Häutungsprozeß sprechen. Es besteht durchaus die Möglichkeit, daß noch genügend Häutungshormon im Blut der Tiere vorhanden ist, um eine Häutung zwar langsamer als normal, aber doch erfolgreich zu steuern. Zum anderen muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß ersatzweise von anderen Geweben geringe Hormonmengen produziert werden, die zwar eine Häutung nicht auslösen, aber den bereits eingeleiteten Häutungsprozeß steuern können.

Die Untersuchung des Hormongehaltes während eines Häutungsintervalles spricht eindeutig dafür, daß das Hormon tatsächlich mehrfach in den Häutungs Vorgang eingreift. Nur so kann das mehrfache Ansteigen und Absinken des Hormonspiegels in den Tieren während eines Häutungsintervalles erklärt werden.

Welche Stoffwechselprozesse werden nun aber durch das Hormon gesteuert? Insgesamt findet man vier mehr oder weniger stark ausgeprägte Maxima in der Hormonausschüttung während eines Häutungsintervalles. Das erste kleine Maximum liegt im Stadium IIa, wenn durch intensive Chitin- und Eiweißsynthese die Kutikula schichtweise verstärkt wird. Das zweite Maximum liegt zu Beginn der Regeneratbildung, das dritte zum Zeitpunkt der Apolyse und das vierte unmittelbar vor der Häutung, wenn der eigentliche Häutungsakt durch die Erhöhung des osmotischen Wertes der Hämolymphe (DRACH 1939) eingeleitet wird. Mit Ausnahme der Stadien IIIc und IVb, die vor und nach Beginn der Regeneratbildung liegen, werden auch zu den anderen Zeitpunkten des Häutungsintervalles mehr oder weniger große Hormonmengen in den Tieren gefunden. Aus der Lage der Maxima und den gleichzeitig stattfindenden morphologischen und physiologischen Veränderungen darf man darauf schließen, daß das Häutungshormon unter anderem die Bildung neuer Kutikulaschichten steuert, die Regeneratbildung auslöst, die Apolyse hervorruft und durch Veränderung des osmotischen Wertes der Hämolymphe den eigentlichen Häutungsakt auslöst.

Welches sind nun die Gemeinsamkeiten dieser Prozesse, die es ermöglichen, daß diese Prozesse durch ein und dasselbe Hormon, vielleicht nur durch Änderung der Konzentration, ausgelöst werden? Es ist sehr wahrscheinlich, daß in allen Fällen eine Erhöhung der enzymatischen Aktivität in den Tieren die Voraussetzung für diese Prozesse ist. Eine Steuerung der Enzymsynthese durch das Häutungshormon würde im Einklang stehen mit den Befunden, daß die RNS-Synthese als primärer Vorgang einer Enzymsynthese durch das Häutungshormon der Insekten (SEKERIS & KARLSON 1964) stimuliert wird. Einen Hinweis darauf, daß auch bei den Krebsen das Häutungshormon die RNS-Synthese stimuliert, haben Untersuchungen über die RNS-Synthese-Aktivität und den Häutungshormongehalt bei Flußkrebsen erbracht (KELLER & ADELUNG 1970). Eine Bestätigung der Vermutung, daß auch bei der Strandkrabbe die Aufgabe des Häutungshormones während des Häutungsprozesses darin besteht, die Protein-Synthese über eine RNS-Synthese zu stimulieren, ergibt sich

aus dem Vergleich des Protein-Spiegels in der Hämolymphe mit demjenigen des Häutungshormongehaltes während eines Häutungsintervalles. Beide Kurven haben den gleichen Verlauf und weisen zur selben Zeit Maxima und Minima auf. Auch der Rest-Stickstoffgehalt in der Hämolymphe verändert sich entsprechend. Da ca. 30 % des Rest-Stickstoffes von Aminosäuren stammt, darf man vermuten, daß es sich bei den Veränderungen um die Veränderungen des Aminosäure-Spiegels handelt. Aus den gleichsinnigen Änderungen des Aminosäure-, des Protein- und des Häutungshormon-Spiegels während der verschiedenen Stadien des Häutungsintervalles kann man auf einen engen Zusammenhang zwischen diesen drei Faktoren schließen.

Überraschend ist, daß die durch das Häutungshormon aktivierte Bildung spezifischer Enzyme, die ganz bestimmte Entwicklungsprozesse bedingen, so stark ist, daß sie sich im Gesamtproteinstoffwechsel der Tiere so deutlich ausprägt.

Für die Vorstellung, daß das Häutungshormon während des langwierigen Ablaufes der Häutung im weiteren Sinne mehrfach eingreift, gibt es bei den Insekten direkte experimentelle Beweise bei der von BÜCKMANN (1959, 1962) eingehend untersuchten Verpuppung von *Cerura vinula*. Auch entsprechende Bestimmungen des Häutungshormontiters bei Insekten, die von SHAYYA & KARLSON (1965a, b) durchgeführt wurden, sprechen dafür.

Es fragt sich, ob noch andere Stoffwechselfparameter durch das Häutungshormon kontrolliert werden. Untersucht wurden der Glucose-Gehalt und der Gehalt an anorganischen Ionen in der Hämolymphe. In keinem Fall konnte wie bei dem Protein- und dem Häutungshormon-Spiegel eine so weitgehende Übereinstimmung in den Änderungen des Gehaltes dieser Faktoren und des Häutungshormones gefunden werden. Es erscheint daher die Annahme gerechtfertigt, daß diese Faktoren, wenn überhaupt, nur indirekt durch das Häutungshormon beeinflußt werden.

Nicht direkt hormonabhängige Veränderungen im Häutungsstoffwechsel

Aus den Untersuchungen des Glucose-Gehaltes während des Häutungsintervalles ergibt sich, daß der Gehalt immer dann am höchsten ist, wenn besonders intensive Chitinisierungsprozesse im Gange sind. Dies ist der Fall unmittelbar nach der Häutung, wenn die neue Kutikula durch weitere Chitinschichten verstärkt wird, im Stadium IVa, wenn die Regenerate ausgebildet werden und zur Zeit der Apolyse, wenn die ersten Schichten der neuen Kutikula angelegt werden. Damit wird die Vermutung von SCHEER & SCHEER 1954 bestätigt, daß die Glucose in den Krebsen vor allem als Transportform des Glycogens und Baustein für das Chitin aufzufassen ist und nur in geringem Maße an dem oxidativen Stoffwechsel beteiligt ist.

Während die organischen Bestandteile der Hämolymphe nur eine geringe osmotische Wirksamkeit haben, ist der Einfluß der anorganischen Bestandteile auf den osmotischen Wert sehr hoch. Wie sich gezeigt hat, sind vor allem die Natrium-Ionen für die Höhe und die Änderung des osmotischen Wertes der Hämolymphe während eines Häutungsintervalles verantwortlich. Ihre Wirkung wird durch die Calcium- und Magnesium-Ionen unterstützt. Allerdings sind sie nur mit 10 % verglichen mit den Na-

trium-Ionen an dem osmotischen Wert beteiligt. Kaum wirksam und für die Änderung im osmotischen Wert der Hämolymphe ohne Bedeutung sind die Kalium-Ionen. Nicht berücksichtigt in unserer Untersuchung wurden die Anionen. Es kann aber, wie schon erwähnt, angenommen werden, daß sie in ihrer Zahl und Wirksamkeit denjenigen der Kationen entsprechen. Nach Untersuchungen anderer Autoren überwiegen entsprechend den Natrium-Ionen bei den Kationen die Chlor-Ionen bei den Anionen (ROBERTSON 1957).

Nach unseren Berechnungen sind die aufgezählten anorganischen Ionen für die Erhöhung des osmotischen Wertes der Hämolymphe verantwortlich, und somit auch dafür, daß diese unmittelbar vor der Häutung gegenüber dem Seewasser hypertonisch wird. Wie bereits DRACH (1939) festgestellt hat, löst die Erhöhung des osmotischen Wertes der Körperflüssigkeit durch die Steigerung des Binnendruckes den eigentlichen Häutungsakt aus.

Es fragt sich nun, auf welche Weise es zur Erhöhung der Ionen-Konzentration vor der Häutung kommt. Hierfür müssen zwei Bedingungen erfüllt werden: Erstens müssen die Tiere, wie sie es normalerweise schon zwischen den Häutungen für die Ca-Ionen tun, die Ionen gegen das Konzentrationsgefälle aus dem Seewasser aufnehmen. Zum anderen muß verhindert werden, daß die angereicherten Ionen zu schnell wieder nach außen abgegeben werden. Obwohl es in keiner Weise bewiesen ist, kann doch vermutet werden, daß hier das Häutungshormon eingreift und die Synthese von Proteinen stimuliert, die entweder auf enzymatischem Wege oder auf andere Weise den Salzaustritt aus der Kutikula in das Außenmedium verhindern. Nach der Häutung findet nämlich ein solcher Salzaustritt statt, und er ist die Voraussetzung für die Kalzifizierung der Kutikula.

Wie unsere Untersuchungen ergeben haben, wird zwar ein geringer Teil des in die Kutikula eingelagerten Calciums vor der Häutung resorbiert, aber der größte Teil geht mit der Exuvie verloren. Es ist möglich, daß ein Teil des resorbierten Calciums in die Hämolymphe übergeht und dort zur Erhöhung des Calcium-Spiegels beiträgt. Ob die einzige Aufgabe des erhöhten Calcium-Spiegels in der Steigerung des osmotischen Wertes besteht, kann zur Zeit noch nicht gesagt werden. Ausgeschlossen werden kann aber, daß der Ca-Gehalt der Hämolymphe, der unter 1 % des Gesamt-Ca-Gehaltes der Tiere liegt, als Calciumreserve für die Kalzifizierung angesehen werden kann, da er für die nach der Häutung einsetzende Kalzifizierung der neuen Kutikula mengenmäßig zu gering ist. Eine Calcium-Speicherung, wie für manche Süßwasserkrebse, ist für die marinen Tiere auch nicht notwendig, da ausreichende Mengen Calcium im Seewasser enthalten sind.

Die Kalzifizierung der marinen Krebse erfolgt nach DIGBY (1966, 1967) auf elektrochemische Weise durch eine alkalische Ausfällung des im Seewasser enthaltenen Calciumcarbonats an der neuen Kutikula. Für die Richtigkeit dieser Befunde konnten wir einen weiteren Beweis dadurch erbringen, daß wir den pH-Wert des Seewassers vom alkalischen zum sauren Bereich hin verschoben haben. Dadurch wird die kathodische Reaktion der Kutikula aufgehoben. Infolgedessen wurde tatsächlich die Kalzifizierung vermindert. Bei bereits vollkalzifizierten Tieren konnte sogar eine teilweise Entkalkung beobachtet werden. Diese wird noch durch einen zweiten Effekt der pH-Erniedrigung des Außenmediums verstärkt, nämlich durch die Erniedrigung des osmo-

tischen Wertes der Hämolymphe, die zu einer Umkehrung des Salzgradienten von außen nach innen führt. Dabei kommt es zumindest vorübergehend zu einer Erhöhung des Calcium-Gehaltes der Hämolymphe. Warum sich der osmotische Wert der Hämolymphe bei einer Verschiebung des pH-Wertes zum sauren Bereich hin erniedrigt, kann zur Zeit noch nicht gesagt werden. Möglicherweise hängt diese Änderung mit der Konstanterhaltung des pH-Wertes im Innenmedium zusammen.

Die hier zusammengetragenen Befunde ermöglichen es, ein Gesamtbild von der Kette der physiologischen Vorgänge zu entwerfen, die von den äußeren und inneren Faktoren, die den Häutungsrythmus beeinflussen, bis hin zu den stoffwechselphysiologischen Grundlagen der Häutungsvorgänge führt.

Verständlicherweise sind viele Glieder dieser Kette hypothetisch. Sie ermöglichen es jedoch, durch weitere gezielte Untersuchungen ein vollständiges Gesamtbild der Häutungsphysiologie zu erarbeiten.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Unter konstanten Laboratoriumsbedingungen häuten sich juvenile Individuen der Strandkrabbe *Carcinus maenas* regelmäßig in bestimmten Zeitabständen. Die Häutungsintervalldauer der Tiere nimmt dabei mit der Körpergröße zu.
2. Unabhängig von ihrer Körpergröße erfahren alle Tiere bei der Häutung den gleichen relativen Größenzuwachs, der nur innerhalb geringer Grenzen schwankt.
3. Die morphologischen Veränderungen und die Entwicklung der Gliedmaßenregenerate während eines Häutungsintervalles werden beschrieben.
4. Unter Berücksichtigung der normalen Häutungsintervalldauer, der Regeneratentwicklung und der morphologischen Veränderungen in der Kutikulastruktur wird eine Stadieneinteilung des Häutungsintervalles von *Carcinus maenas* vorgenommen, die als Grundlage für alle durchgeführten physiologischen Untersuchungen dient.
5. Die Häutungsintervalldauer ist abhängig von der Temperatur und dem Nahrungsangebot. Die Photoperiode hat nur einen geringen Einfluß auf die Dauer des Häutungsintervalles. Durch Dauerlicht werden die Häutungen verzögert.
6. Der Größenzuwachs bei den Häutungen ist unabhängig von der Temperatur. Durch das Nahrungsangebot und die Lichtbedingungen wird der Größenzuwachs geringfügig verändert.
7. In Anwesenheit größerer Artgenossen verzögern die Krebse ihre Häutungen, und zwar z. T. schon dann, wenn sie ihren Partner nur sehen bzw. ihn bei völliger Dunkelheit nur durch taktile Reize wahrnehmen können.
8. Nach dem Verlust zahlreicher Schreitbeine häuten sich die Tiere vorzeitig. Die Größenzunahme bei den Häutungen ist gegenüber derjenigen gesunder Tiere erheblich reduziert.
9. Nach Ausschaltung des häutungshemmenden Hormons häuten sich die Tiere schneller als normale Tiere und in gleichen Zeitabständen. Die Körpergröße beeinflusst die Häutungsintervalldauer nicht mehr. Die Temperaturabhängigkeit des Häutungsrythmus bleibt bestehen.

10. Die Ernährung beeinflusst die Häutungen augenstielloser Tiere in umgekehrter Weise wie diejenige normaler Tiere. Die Häutungsintervalldauer wird von mangelhafter Ernährung nicht beeinflusst, dagegen nimmt die Größenzunahme bei den Häutungen ab.
11. Daraus folgt, daß der Häutungsrythmus durch das Wachstum gesteuert wird. Erst nach dem Erreichen eines bestimmten Gewebewachstums können sich die Tiere häuten. Solange dieser Wachstumsbetrag nicht erreicht ist, wird durch die Ausschüttung von häutungshemmendem Hormon eine Häutung verhindert.
12. Unter Umweltbedingungen, die für eine Häutung ungünstig sind, nehmen die Tiere weniger Nahrung zu sich und erreichen den zur Häutung notwendigen Wachstumsbetrag später. Eine Häutung wird während dieser Zeit durch eine andauernde Ausschüttung von häutungshemmendem Hormon verhindert.
13. Die Temperatur beeinflusst den Häutungsrythmus der Tiere nur indirekt, indem sie allgemein auf den Stoffwechsel wirkt.
14. Unter bestimmten Umweltbedingungen sind die Tiere in der Lage, innerhalb gewisser Grenzen ihren Häutungszeitpunkt entsprechend den Erfordernissen zu verschieben. Wenn es für sie günstig ist, z. B. bei Gliedmaßenverlust, können sie sich vorzeitig häuten.
15. Wenn kein häutungshemmendes Hormon in den Tieren vorhanden ist, wird durch das Häutungshormon eine Häutung ausgelöst.
16. Der Häutungshormontiter während eines Häutungsintervalles zeigt vier verschiedene hohe Maxima. Zur gleichen Zeit finden charakteristische physiologische Veränderungen in den Tieren statt.
17. Der Einfluß des Häutungshormons Crustecdyson auf den Stoffwechsel wird untersucht.
18. Der Aminosäure- und Proteingehalt der Hämolymphe ändert sich während eines Häutungsintervalles in derselben Weise wie der Hormontiter. Der Proteingehalt erreicht unmittelbar vor der Häutung seinen höchsten Wert und kurz nach der Häutung seinen niedrigsten.
19. Der Glucosegehalt in der Hämolymphe steigt an, wenn Chitinisierungsprozesse im Tier stattfinden. Die Glucose dient den Krabben in erster Linie als Chitinbaustein.
20. Die Hämolymphe ist mit dem Seewasser isotonisch. Nur unmittelbar vor der Häutung steigt der osmotische Wert der Hämolymphe über denjenigen des Seewassers und sinkt erst nach der Häutung wieder auf seinen Normalwert ab. Durch die Erhöhung des osmotischen Wertes wird der Binnendruck im Tier gesteigert und dadurch wahrscheinlich der eigentliche Häutungsakt ausgelöst.
21. Die Veränderungen des osmotischen Wertes der Hämolymphe beruhen im wesentlichen auf Veränderungen in der Na-, Ca- und Mg-Konzentration der Hämolymphe. Die K-Konzentration in der Hämolymphe bleibt während des untersuchten Häutungsintervalles unverändert.
22. Der pH-Wert der Hämolymphe verändert sich während des Häutungsintervalles nicht.
23. Der Ca-Gehalt der Kutikula und in dem Gesamttier ist nach der Häutung sehr niedrig, steigt aber schnell auf einen Endwert an. Etwa 90 % des gesamten Cal-

- ciums gehen mit der abgeworfenen Exuvie bei der Häutung verloren. Vor der Häutung findet nur eine geringe Calcium-Resorption aus der alten Kutikula statt.
24. Der Ca-Gehalt der Hämolymphe beträgt weniger als 1 % des Gesamt-Ca-Gehaltes. Die Hämolymphe ist daher als Speicherorgan für Calcium ohne Bedeutung.
 25. Die Erniedrigung des pH-Wertes im Außenmedium unter den Neutralpunkt beeinflusst das osmotische Verhalten der Hämolymphe und den Ca-Haushalt. Dabei sinkt der osmotische Wert der Hämolymphe ab und wird gegenüber dem Seewasser hypotonisch. Der pH-Wert der Hämolymphe bleibt konstant. Der Ca-Gehalt der Hämolymphe steigt vorübergehend an. Die Kalzifizierung der Kutikula wird vermindert. Bei Tieren mit voll kalzifizierter Kutikula tritt eine teilweise Entkalkung ein.
 26. Aus den Hormonbestimmungen und den stoffwechselfysiologischen Untersuchungen ergibt sich, daß die Wirkung des Häutungshormons bei Krebsen nicht nur in der Auslösung von Häutungen besteht, sondern es mehrmals steuernd in den jeweiligen Häutungsprozeß eingreift. Damit besteht eine Übereinstimmung zu Befunden, die an Insekten gewonnen wurden.
 27. Chitinisierung, Regeneratbildung, Apolyse und Auslösung des eigentlichen Häutungsaktes stehen unter der indirekten Kontrolle des Häutungshormons. Dies geschieht über die Kontrolle des Proteinstoffwechsels.
 28. Die direkte Wirkung des Häutungshormons besteht sehr wahrscheinlich in der Kontrolle des Proteinstoffwechsels.
Auf Grund der gleichsinnigen Änderung zwischen dem Protein- und Aminosäuregehalt einerseits und dem Häutungshormongehalt während eines Häutungsintervalles andererseits wird auf die Stimulierung der Proteinsynthese durch das Häutungshormon geschlossen.
 29. Eine direkte Beziehung des Häutungshormons zu anderen Stoffwechselfaktoren wird nicht gefunden.
 30. Die Kalzifizierung der Kutikula nach einer Häutung wird nicht direkt von dem Häutungshormon beeinflusst. Die Befunde von DIGBY (1966), nach denen es sich bei der Kalzifizierung um einen elektrochemischen Vorgang handelt, werden bestätigt.

Danksagungen. Herrn Professor Dr. P. KARLSON, Marburg, danke ich für die stete Förderung der Arbeiten. Ebenso danke ich Herrn Professor Dr. D. BÜCKMANN, Ulm, für seine verständnisvolle Unterstützung. Die Arbeiten wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

ZITIERTE LITERATUR

- ADELUNG, D., 1964. Der Einfluß der Umweltfaktoren und der innersekretorischen Organe auf den Häutungsrythmus von *Carcinus maenas* L. (Crustacea, Decapoda). Math.-nat. Diss. Göttingen.
- 1967. Die Wirkung von Ecdyson bei *Carcinus maenas* L. und der Crustecdysontiter während eines Häutungszyklus. Zool. Anz. (Suppl. Bd) **30**, 264–272.
- 1969a. Über die Auslösung der Häutung bei Krebsen. Umschau **69** (16), 503–507.
- 1969b. Die Ausschüttung und Funktion von Häutungshormonen während eines Zwischenhäutungsintervalls bei der Strandkrabbe *Carcinus maenas* L. Z. Naturf. (B) **24**, 1447–1455.

- 1970. Die Veränderungen des Kalziumgehaltes in der Kutikula und Hämolymphe der Strandkrabbe *Carcinus maenas* L. während eines Häutungsintervalles. Zool. Anz. (Suppl. Bd) **33**, 244–248.
- & BÜCKMANN, D., 1965. Der Einfluß der innersekretorischen Organe auf den Häutungsrythmus von *Carcinus maenas* L. Zool. Anz. (Suppl. Bd) **28**, 131–136.
- & KARLSON, P., 1969. Eine verbesserte, sehr empfindliche Methode zur biologischen Auswertung des Insektenhormons Ecdyson. J. Insect Physiol. **15**, 1301–1307.
- AIKEN, D. E., 1969. Photoperiod, endocrinology and the crustacean molt cycle. Science, N. Y. **164**, 149–155.
- ANDREWS, P., 1967. Über den Blutchemismus des Flußkrebse *Orconectes limosus* und seine Veränderungen im Laufe des Jahres. Z. vergl. Physiol. **57**, 7–43.
- BAUMBERGER, J. P. & OLMSTEDT, J. M. D., 1928. Changes in the osmotic pressure and water content of crabs during the molt cycle. Physiol. Zoöl. **1**, 531–544.
- BLISS, D. E., 1954. Light inhibition of regeneration and growth in the crab, *Gecarcinus lateralis*. Anat. Rec. **120**, 742–743.
- 1956. Neurosecretion and the control of growth in a decapod crustacean. In: BERTIL HANSTRÖM, zoological papers in honour of his sixtyfifth birthday, November 20th, 1956. Ed. by K. G. WINGSTRAND. Zoological Institute, Lund, 56–75.
- & WELSH, J. H., 1952. The neurosecretory system of brachyuran Crustacea. Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole **103**, 157–169.
- BROEKHUYSEN, G. J., 1936. On development, growth and distribution of *Carcinides maenas* (LINNÉ). Archs néerl. Zool. **2**, 257–399.
- BÜCKMANN, D., 1959. Die Auslösung der Umfärbung durch das Häutungshormon bei *Cerura vinula* L. Lepidoptera, Notodontidae. J. Insect Physiol. **3**, 159–189.
- 1963. Die Hormonschwelle als steuernder Faktor in der Puppenentwicklung von *Cerura vinula* L. Zool. Anz. (Suppl. Bd) **26**, 180–189.
- & ADELUNG, D., 1964. Der Einfluß der Umweltfaktoren auf das Wachstum und den Häutungsrythmus der Strandkrabbe *Carcinides maenas*. Helgoländer wiss. Meeresunters. **10**, 91–103.
- CARLISLE, D. B., 1954. On the hormonal inhibition of moulting in decapod Crustacea. J. mar. biol. Ass. U.K. **33**, 61–63.
- 1957. On the hormonal inhibition of moulting in decapod Crustacea. II. The terminal anecydysis in crabs. J. mar. biol. Ass. U.K. **36**, 291–307.
- DELAUNAY, H., 1934. Le métabolisme de l'ammoniaque d'après les recherches relatives aux Invertébrés. Annls Physiol. Physicochim. biol. **10**, 695–729.
- DIGBY, P. S. B., 1966. Calcification and its mechanism in the shore-crab *Carcinus maenas* (L.). Proc. Linn. Soc., Lond. **178** (2), 129–178.
- 1967. Mobility and crystalline form of the lime in the cuticle of the shore-crab, *Carcinus maenas*. J. Zool. **154**, 237–286.
- DRACH, P., 1939. Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes. Annls Inst. océanogr., Monaco (N. S.) **19**, 103–391.
- ECHALIER, G., 1954. Recherches expérimentales sur le rôle de «l'organe Y» dans la mue de *Carcinus maenas* (L.) Crustacé Décapode. C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris **238**, 523–525.
- 1955. Rôle de l'organe Y le déterminisme de la mue de *Carcinides* (*Carcinus*) *maenas* L. (Crustacés Décapodes); expériences d'implantation. C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris **240**, 1581–1583.
- 1956. Influence de l'organe Y sur la régénération des pattes, chez *Carcinides maenas* L. (Crustacé Décapode). C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris **242**, 2179–2180.
- ERMAKOV, N., 1935. Systèmes nerveux et métabolisme hydrocarboné chez les Invertébrés. II. Fonction régulatrice du système nerveux en ce qui concerne le teneur en sucre de l'hémolymphe chez les Crustacés. Med. Zh. Kyyiv **5**, 324–331.
- GABE, M., 1953. Sur l'existence, chez quelques Crustacés Malacostracés, d'un organe comparable à la glande de la mue des Insectes. C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris **237**, 1111–1113.
- 1956. Histologie comparée de la glande de mue (organe Y) des Crustacés Malacostracés. Annls Sci. nat. (B) **18**, 145–152.

- HAMPSHIRE, F. & HORN, D. S. H., 1966. Structure of crustecdysone, a crustacean molting hormone. *Chem. Commns, Lond.* **2**, 37–39.
- HANSTRÖM, B., 1934. Über das Organ X, eine inkretorische Gehirndrüse der Crustaceen. *Psychiat. neurol. Bl., Amst.* **38**, 405–419.
- HECHT, S., 1914. Note on the absorption of calcium during the molting of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Science, N. Y.* **39**, 108.
- KARLSON, P., 1956a. Chemische Untersuchungen über die Metamorphosehormone der Insekten. *Annls Sci. nat. (B)* **18**, 125–138.
- 1956b. Biochemical studies on insect hormones. *Vitams Horm.* **14**, 227–266.
- KELLER, R. & ADELUNG, D., 1970. Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen des Integumentgewebes und des Häutungshormongehaltes beim Flußkrebs *Orconectes limosus* während eines Häutungszyklus. *Wilhelm Roux Arch. EntwMech. Org.* **164**, 209–221.
- KING, D. S. & SIDALL, J. B., 1969. Conversion of α -Ecdysone to β -Ecdysone by Crustaceans and Insects. *Nature, Lond.* **221**, 955–956.
- KISCH, B., 1929. Der Gehalt des Blutes einiger Wirbelloser an reduzierenden Substanzen. *Biochem. Z.* **211**, 292–294.
- KNOWLES, F. G. W. & CARLISLE, D. B., 1956. Endocrine control in the Crustacea. *Biol. Rev.* **31**, 396–473.
- NUMANOI, H., 1937. Migration of calcium through the blood in *Ligia exotica* during its molting. *Jap. J. Zool.* **7**, 241–249.
- PASSANO, L. M., 1951a. The X-organ, a neurosecretory gland controlling molting in crabs. *Anat. Rec.* **111**, 559.
- 1951b. The X-organ-sinusgland neurosecretory system in crabs. *Anat. Rec.* **111**, 502.
- 1953. Neurosecretory control of molting in crabs by the X-organ-sinusgland complex. *Physiologia comp. Oecol.* **3**, 155–189.
- 1960. Molting and its control. In: *The physiology of crustacea*. Ed. by T. H. WATERMAN. Academic Press, New York **1**, 473–536.
- ROBERTSON, J. D., 1937. Some features of the calcium metabolism of the shore crab (*Carcinus maenas* PENNANT). *Proc. R. Soc. (B)* **124**, 162–182.
- 1949. Ionic regulation in some marine invertebrates. *J. exp. Biol.* **26**, 182–200.
- 1957. Osmotic and ionic regulation in aquatic invertebrates. In: *Recent advances in invertebrate physiology*. Ed. by B. T. SCHEER. Univ. of Oregon Publications, Eugene, Oreg., 229–246.
- 1960. Osmotic and ionic regulation. In: *The physiology of crustacea*. Ed. by T. H. WATERMAN. Academic Press, New York **1**, 317–339.
- SCHEER, B. T. & SCHEER, M. A. R., 1954. The hormonal control of metabolism in crustaceans. VIII. Oxygen consumption in *Leander serratus*. *Pubbl. Staz. zool. Napoli* **25**, 419–426.
- SEKERIS, C. E. & KARLSON, P., 1964. Zum Wirkungsmechanismus der Hormone. II. Ecdysone and protein biosynthesis. *Archs Biochem. Biophys.* **105**, 483.
- SHAAYA, E. & KARLSON, P., 1965a. Der Ecdysontiter während der Insektenentwicklung. II. Die postembryonale Entwicklung der Schmeißfliege *Calliphora erythrocephala* MEG. *J. Insect Physiol.* **11**, 65–69.
- 1965b. Der Ecdysontiter während der Insektenentwicklung. IV. Die Entwicklung der Lepidopteren *Bombyx mori* L. und *Cerura vinula* L. *Devl Biol.* **11**, 424.
- STOTT, F. C., 1932. Einige vorläufige Versuche über Veränderungen des Blutzuckers bei Decapoden. *Biochem. Z.* **248**, 55–64.
- WATERMAN, T. H. (Ed.), 1960. *The physiology of crustacea*. Vol. 1. Academic Press, New York, 670 pp.

Anschrift des Autors: Dozent Dr. D. ADELUNG
Abteilung für Biologie
Universität Ulm
79 Ulm
Olgastr. 134
Bundesrepublik Deutschland