

Fig. 1. Spezifisch embryogenetische Wirkung von Stadium-Ontogeninen und Ontogenen, 125 h Embryonalalter. a) Kontrolle, normal entwickelt. b) Als Neurula in Ontogenin 16<sub>Kopf</sub> gebracht, Entwicklung gestoppt, Kopf nicht entwickelt. c) Beschleunigte und hypertrophierte Kopfentwicklung in Ontogenin 16<sub>Kopf</sub>. d) Als Neurula in Ontogenin 16<sub>Neuralrohr</sub> gebracht, nicht entwickelt. e) Hypertrophische Entwicklung der Axialorgane in Ontogenin 16<sub>Neuralrohr</sub>.

Lösung. Nach Reaktion des Ontogenins mit Proteid des gleichen Stadiums tritt 75 min nach Mischung in der Lösung eine neue Substanz auf, die wir Ontogenen nennen, charakterisiert durch Rf-Wert und UV-Spektrum<sup>9</sup>. Gleichzeitig erhält die Lösung neue biologische Stimulationseigenschaften.

Die Ontogenine wirken nicht nur in den Zellen, in welchen sie gebildet werden, sondern dringen auch in die benachbarten Zellen ein. Diese Beeinflussung der Umgebung ist besonders stark im Anfang der Gastrulation (Tab.).

Die Tatsache, dass die Ontogenine am häufigsten im Dotter gebildet werden, ausserdem der Umstand, dass fast immer eine Abgabe der Ontogenine aus den dotterreichen vegetativen, entodermalen Teilen an die übrigen Keimteile festzustellen ist, sprechen dafür, dass der Ontogenin-Austausch sehr wahrscheinlich als Ausdruck der Mobilisierung des inerten Dotters und seiner Einbeziehung in die Struktur der aktiven Proteide zu werten ist.

**Summary.** The autor studied the reaction of stage ontogenins with different proteids, isolated from the embryos at the moment of formation of the respective ontogenin. Not all fractions (least of all the yolk) fix the ontogenins. The DNA-proteids fix them; such a mixture specifically stimulates the development. In these mixtures, new substances are discovered: Ontogens.

G. K. Russew

Medizinisches Forschungsinstitut und Institut für Morphologie an der Bulgarischen Akademie der Wissenschaften, Sofia (Bulgarien), 27. September 1960.

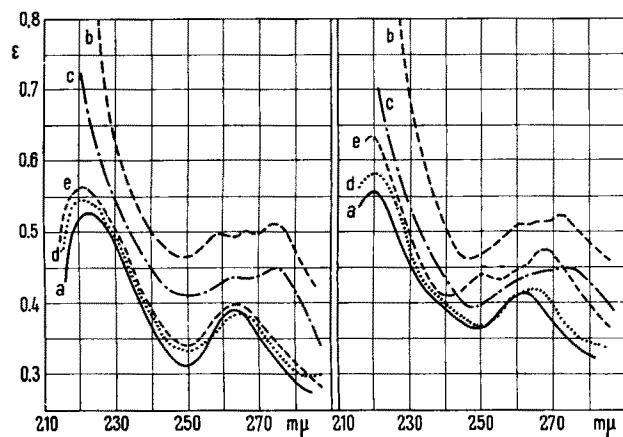


Fig. 2. UV-Spektren bei der Reaktion zwischen Ontogenin 3 und DNS-Proteiden (19°C). Links: a) Reine DNS-Proteide vom Stadium 2/2. b) Reine DNS-Proteide + Ontogenin 3 im Moment der Mischung, Rf bei Ontogenin-Wirkung = 0,59. c) Das gleiche nach 15 min (Rf = 0,59). d) Das gleiche nach 45 min (wird inaktiv). e) Das gleiche nach 75 min (bleibt inaktiv). Rechts: a) Reine DNS-Proteide vom Stadium 3. b) Reine DNS-Proteide + Ontogenin 3 im Moment der Mischung, Rf bei Ontogenin-Wirkung = 0,59. c) Das gleiche nach 15 min (Rf = 0,59). d) Das gleiche nach 45 min (wird inaktiv). e) Das gleiche nach 75 min (Rf bei stimulierender Aktivität von Ontogen 3 = 0,13).

<sup>9</sup> G. K. RUSSEW, C. R. Acad. Bulg. Sci. 13, 459 (1960).

### Artbastarde in der Gattung *Tilapia* (Cichlidae, Teleostei) und ihr Verhalten

Unlängst hat WHITEHEAD<sup>1</sup> in Kenia Tilapien gefunden, die er als Bastarde von *T. zillii* und *T. nigra* anspricht. TREWAVAS und GREENWOOD<sup>2</sup> bezweifeln die Bastardnatur dieser Formen und halten sie für *T. leucostica*. Wir selbst haben nach eingehenden Vorstudien eine Methode der künstlichen Kreuzung entwickelt und mit dieser von mehreren *Tilapia*-Arten voll lebensfähige Bastarde erhalten. *Tilapia*-Hybriden sind für die Verhaltensforschung besonders in den Fällen von Interesse, in denen sich die Stammformen ethologisch sehr weitgehend unterscheiden: ein Elternteil etwa Substratlaicher, der andere Maulbrüter ist. Wir beschränken uns im folgenden auf einige Bemerkungen über das Verhalten von Bastarden

*T. mossambica* (Maulbrüter) ♂ × *T. tholloni* (Substratlaicher) ♀ im Jugendstadium, im Vergleich zu dem Verhalten der Elternarten.

Bei den substratlaichenden Tilapien behüten beide Eltern gemeinsam die Jungbrut, die längere Zeit mit ihnen umherwandert. Bei den Maulbrütern nimmt ein Elterntier, und zwar bei den meisten Arten das Weibchen, das Gelege in die Mundhöhle auf. Zu Ende der Embryonalzeit

<sup>1</sup> P. J. WHITEHEAD, Nature 187, 878 (1960).

<sup>2</sup> E. TREWAVAS und P. H. GREENWOOD, Nature 188, 868 (1960). – Bezuglich der Mitteilung von A. YASHOV und J. CHERVINSKY, *Hybrids of Tilapia nilotica and T. galilaea*, Nature 184, 1739 (1959) ist zu sagen, dass es Herr Dr. YASHOV nachträglich doch für nicht genügend gesichert hält, dass tatsächlich Bastarde vorgelegen haben (persönliche Auskunft).

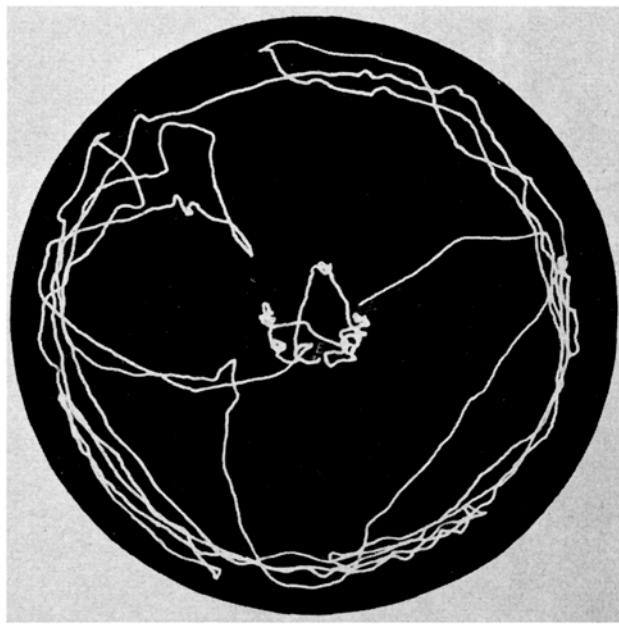


Fig. 1. Protokoll der Bewegung eines *Tilapia mossambica*-Jungen in den ersten 180 sec des Versuchs, Alter 20 Tage. A = Anfang, E = Ende. Die hellere Kreisfläche in der Mitte stellt die Attrappe dar. Durchmesser der Schale (schwarze Fläche) 26 cm. Die Bewegungsfreiheit des Versuchstieres ist im vorliegenden Fall durch den Rand der Schale begrenzt.

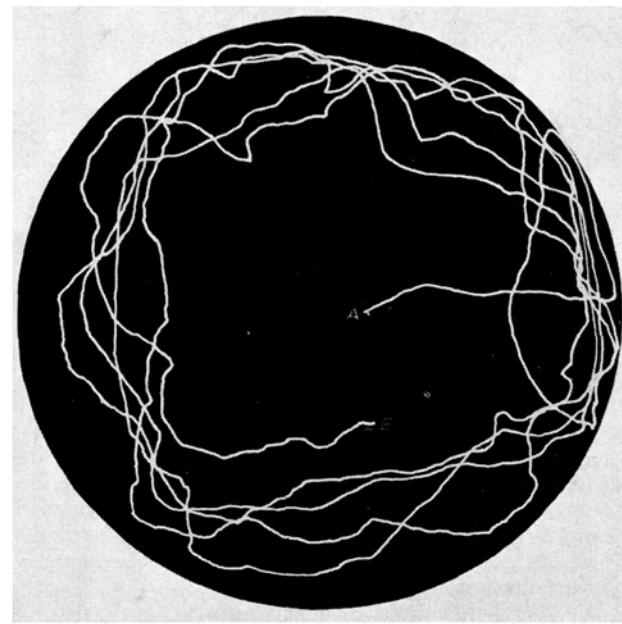


Fig. 2. *Tilapia tholloni*. 300 sec. Alter 19 Tage. Sonst wie bei Fig. 1.

entlässt die Mutter die Jungen aus dem Maul. Diese bleiben aber noch eine Zeitlang bei ihr, und bei Beunruhigung nimmt der Mutterfisch sie vorübergehend wieder in die Mundhöhle zurück. Dabei schwimmen die Jungen gerichtet auf den Kopf der Mutter zu, worauf diese die vor der Mundspalte angesammelten Jungen aufschnappt. Bewegt man eine Attrappe, zum Beispiel eine kleine Kugel, vor den Jungen hin und her, so schwimmen diese im typischen Falle sofort bis zur Berührung heran und versuchen gleichsam, in die Attrappe einzudringen. Dabei gleiten sie oft Minutenlang, den Kopf mehr oder weniger radiär gegen den Mittelpunkt der Kugel gerichtet, in Kontakt mit der Kugeloberfläche hin und her und lösen sich nur vorübergehend von ihr ab. Ist eine kleine Öffnung in der Attrappe vorhanden, so schlüpfen die Jungfische gelegentlich in diese ein und verweilen kürzer oder länger im Inneren<sup>3</sup>.

Um dieses «Kontaktverhalten» der jungen Maulbrüter unter übersichtlichen und definierten Bedingungen studieren und mit dem Verhalten der jungen Substratlaicher vergleichen zu können, haben wir folgende Versuchsanordnung getroffen. Als Elternattrappe verwenden wir eine Glaskugel von 40 mm Durchmesser, die mit rotem Lack bestrichen ist (7 ra-re der 24stufigen Ostwald-Tafel). Sie taucht in das Zentrum einer runden Schale mit Wasser, in der sich das Versuchstier befindet. Während der Dauer des Versuches wird sie mechanisch auf und ab bewegt (im vorliegenden Beispiel mit einer Amplitude von 10 mm und einer Frequenz von 30/min). Der Stiel der Attrappe, ein Glasrohr, verlängert sich in einen Kanal, der im Inneren der Kugel so abgebogen ist, dass er seitlich mit einer Öffnung von 7 mm Durchmesser ausmündet. Das Versuchstier wird von oben durch das Rohr in die Attrappe eingeführt. Bei Beginn des Tests wird es durch die dann einsetzende Bewegung aus der unteren Öffnung herausgespült, wie wenn es vom Mutterfisch aus dem Maul gespien würde.

Die Schale mit dem Versuchstier und der Attrappe befindet sich in einem ringsum geschlossenen Kasten. Die Beobachtung erfolgt von unten durch den Glasboden der Schale. Vermittels einer optischen Vorrichtung werden die Bewegungen des Versuchstieres auf ein Blatt Transparentpapier projiziert, auf dem sie mit einer Tuschede fortlaufend nachgezogen werden können. Nach diesem Verfahren wurden die Protokolle der Figuren 1–3 gewonnen.

Figur 1 gibt ein Beispiel für das Verhalten des Maulbrüter-Jungen (*mossambica*). Das Versuchstier hält sich zunächst einige Zeit am Rande der Schale auf. Nach 2 Vorstößen, die auf etwa 2 cm an die Attrappe heranführen, schwimmt es schliesslich gegen die Kugel und kommt in anhaltenden Kontakt mit ihr. Figur 2 erläutert an einem Beispiel das Verhalten eines Versuchstieres der Substratlaicher-Art (*tholloni*) unter den genau gleichen Bedingungen. Es richtet sich zwar wiederholt auf die Attrappe aus, hält sich aber stets in einer gewissen Entfernung von ihr. Die Bastarde (*mossambica* ♂ × *tholloni* ♀) verhalten sich ganz wie die Art des Vaters, wenn man von gewissen Einzelheiten in der Ontogenese ihrer Reaktionen absieht; sie verhalten sich also wie junge Maulbrüter (Fig. 3). Übrigens wurden die Versuchstiere über einen längeren Zeitraum täglich (teilweise nur alle 2 Tage) getestet, indem sie für ± 15 min der Attrappe ausgesetzt wurden. Ihr Alter lag zwischen 7 und 24 Tagen (27°C Zuchttemperatur). Sie wurden von einem frühen Embryonalstadium an einzeln in einer kleinen Schale gehalten und begannen also völlig erfahrungslos.

<sup>3</sup> Eine Auseinandersetzung mit der Literatur und der Anchluss an eigene frühere Arbeiten (PETERS) müssen einer grösseren Publikation vorbehalten bleiben. Man vgl. etwa BAERENDS und BAERENDS-VAN ROON (Behaviour Suppl. I, 1950).

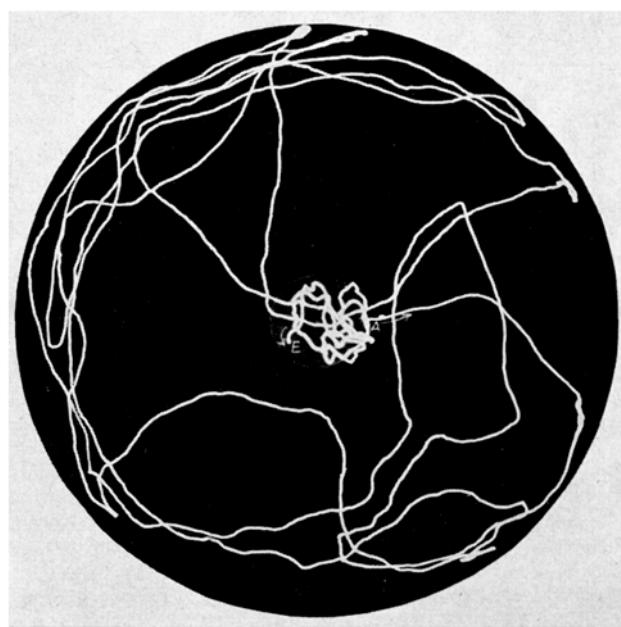


Fig. 3. Bastard *Tilapia mossambica* ♂ × *Tilapia tholloni* ♀. 300 sec.  
Alter 21 Tage. Sonst wie bei Fig. 1.

Die vorgelegten Beispiele sind typisch. Es wurden insgesamt 54 Einzelversuche mit 11 *mossambica* angestellt, 79 Versuche mit 12 *tholloni* und 121 mit 20 Bastarden. In keinem Falle äusserten die jungen *tholloni* Kontaktverhalten; bei jedem der Versuchstiere der beiden anderen Gruppen konnte es mindestens während einer Phase von etwa 10 Tagen erzielt werden. Übrigens waren die Bastarde Halbgeschwister der *tholloni*-Kontrollen und stammten aus dem gleichen Gelege. Ein Teil der als Kontrollen verwendeten *mossambica* hatte den gleichen Vater wie die Bastarde.

**Summary.** The young of *Tilapia mossambica* (mouth-brooder) show a characteristic 'contact-behaviour', which is related to the behaviour of the mother fish, who takes them back into the mouth cavity in cases of disturbance. This contacting is lacking in the young of *Tilapia tholloni* (substrate spawner). Contacting, as studied in our experiments with models, is genetically determined and is dominant over the *tholloni* pattern in the cross *T. mossambica* ♂ × *T. tholloni* ♀.

H. M. PETERS und M. BRESTOWSKY<sup>4</sup>

Zoophysiological Institut der Universität Tübingen,  
17. März 1961.

<sup>4</sup> Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

### On the Presence of Different Histidine Decarboxylating Enzymes in Mammalian Tissues

In a previous paper, the histidine decarboxylase found in rabbit kidney cortex has been reported to be identical with L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) decarboxylase<sup>1</sup>. At about the same time, UDENFRIEND, LOVENBERG, and WEISSBACH<sup>2</sup> reached an analogous result working with guinea-pig kidney extracts. Some additional results concerning this problem will be given here.

The enzyme preparations used were obtained from rabbit kidney cortex or foetal rat liver. The tissues were extracted according to ROSENGREN<sup>1</sup>. The enzymic material was precipitated with ammonium sulphate and dialysed against distilled water at 4°C over-night. The extracts were then incubated in an atmosphere of nitrogen at 37°C and pH 7.8. The histidine decarboxylase activity was estimated by measuring the amount of histamine formed in 3 h. The extraction and purification procedures of histamine were principally the same as those described for catecholamines<sup>3</sup>. The final estimation of histamine was carried out fluorimetrically according to SHORE, BURKHALTER, and COHN<sup>4</sup>. A detailed account of the method used will be given elsewhere.

In some experiments, the effect of various substrate concentrations on the rate of histidine decarboxylation in rabbit kidney cortex extracts was studied. The results obtained are given in the Figure. As will be seen from this plot,  $K_m$  is very great—about  $10^{-1}$ . This finding raised the interesting question if this enzyme is really responsible for the formation of histamine from histidine in the body under physiological conditions. The reaction appears, indeed, to be effected by DOPA decarboxylase, which is known to be present in large amounts in the rabbit kidney. This opinion is supported by the following observations:

1. The formation of histamine is inhibited by DOPA and by DOPA decarboxylase inhibitors, e.g. caffeoic acid,

catechol,  $\alpha$ -methyl DOPA<sup>5</sup> as observed by us as well as by others<sup>2,6,7</sup>.

2. The decarboxylation of DOPA in kidney extracts is inhibited by addition of large amounts of L-histidine. In a typical experiment 25 µg dopamine was formed in an incubation mixture containing 0.1 ml purified rabbit kidney cortex extract and 200 µg DOPA after 5 min. If 50 mg L-histidine was added together with 200 µg DOPA and incubated under identical conditions, only 14 µg dopamine was formed in the same time. The degree of inhibition is of the order of magnitude that could be expected if the two activities are achieved by one enzyme.
3. The two activities could not be separated during fractionation by means of precipitation with ammonium sulphate or chromatography on a DEAE cellulose column.

The question now arose whether there was another mammalian enzyme that could decarboxylate histidine, as this reaction has been shown to occur after injection of very small amounts of histidine into experimental ani-

<sup>1</sup> E. ROSENGREN, Acta physiol. scand. 49, 364 (1960).

<sup>2</sup> S. UDENFRIEND, W. M. LOVENBERG, and H. WEISSBACH, Fed. Proc. 19, 7 (1960).

<sup>3</sup> A. BERTLER, A. CARLSSON, and E. ROSENGREN, Acta physiol. scand. 44, 273 (1958).

<sup>4</sup> P. A. SHORE, A. BURKHALTER, and V. H. COHN, J. Pharmacol. exp. Therap. 127, 182 (1959).

<sup>5</sup> It is not possible at present to decide if the inhibition of  $\alpha$ -methyl DOPA is due to an interference between this substance and histidine at the active center of the enzyme or lack of pyridoxal-5-phosphate. It was found that, under the conditions prevailing,  $\alpha$ -methyl DOPA readily reacts with pyridoxal-5-phosphate as determined spectrophotometrically.

<sup>6</sup> E. WERLE, Biochem. Z. 311, 270 (1942).

<sup>7</sup> D. MACKAY and D. M. SHEPHERD, Brit. J. Pharmacol. 15, 552 (1960).