

the head, the male clings to the upper surface of the female wing, and orientates the abdomen obliquely, bringing its tip as near the head of the female as possible (Figure 1). The appendage is then swung from side to side accompanied from time to time by jerking thrusts and quiverings of the wings. The position of the abdomen may remain oblique or parallel to the female body. The duration of contact varies from one to several minutes. Long contact times were observed in 5 couples of 12, 19, 22, 23 and 24 min duration respectively.

Often the male clasps the female abdomen with his middle or hind legs, but no copulation was observed to take place immediately after this contact. Occasionally, 2 males cling to 1 female at the same time, a male to each wing.

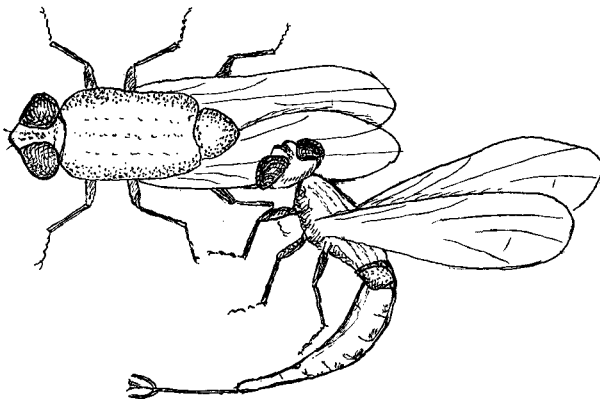


Fig. 1. Schematic presentation of courting position in *Atherigona*.

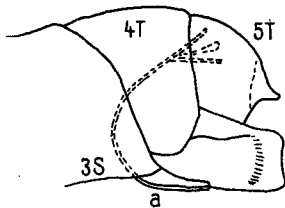


Fig. 2. The tip of the male abdomen of *Atherigona*. Side view. S = sternite; T = tergite.

The fact that this behaviour takes place prior to mating suggests that it is aimed at holding the female stationary and in a position in which she can receive a volatile pheromone which is diffused from the appendage, the petiole of which is an elongated tubule. The efforts to bring the appendage as close as possible to the head of the female further hint that the receptors to this pheromone are located in the head of the female. The function of this volatile substance is obscure, and further studies are needed to ascertain its role.

Observations were made with other insects in which it was found that males of insects may emit volatile attractants or aphrodisiacs². In this connection the courting habits of some other Diptera should be recalled, namely that of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Wied. and the olive fly *Dacus oleae* Gml. In these species the male, when sexually mature, emits a stale odour and changes take place in the shape of his abdomen, which becomes flattened, laterally swollen and is cocked dorsally; at its tip a minute pinhead swelling becomes visible.

The male assumes a position close to the female, with his head opposite to hers, and then begins to vibrate with his wings against her. Apparently the purpose of this vibration is to ensure that the volatile pheromone reaches the receptors of the female, which are probably in the head also.

Zusammenfassung. In Zuchten von *Atherigona varia soccata* Rond. wurde ein besonderes Balzverhalten, bei dem der sogenannte «Kleeblattanhang» eine funktionelle Rolle spielt, beobachtet. Das Männchen setzt sich mit dem Kopf an einem Flügel des Weibchens fest, die Spitze des Abdomens mit dem «Kleeblattanhang» wird hervorgeschoben und möglichst nahe an den Kopf des Weibchens herangebracht. Während des Vorgangs scheint das Männchen sein flüchtiges, auf das Weibchen wirkendes Pheromon abzugeben.

E. RIVNAY

The Volcani Institute of Agricultural Research, Rehovot (Israel), May 11, 1966.

Zum Vorkommen von RNS im Nervenfaserbereich

Für die Frage nach dem Ort der Neuroplasmasyntese und damit auch nach dem Ausgangspunkt für den Stofftransport im Nervengewebe ist die Bestimmung der RNS-Lokalisation in der Nervenzelle von ausschlaggebender Bedeutung. Mit Hilfe mikrochemischer Methoden konnten in den Axonen (und Myelinscheiden) der Mauthnerischen Riesenneurone geringe Mengen von RNS mit ribosomalem Charakter nachgewiesen werden¹⁻³. Im Gegensatz hierzu sprechen histochemische, elektronenmikroskopische und UV-Absorptionsuntersuchungen eindeutig gegen das Vorhandensein von RNS in Nervenfasern⁴⁻⁶.

UTAKOJI und HSU⁷ fanden auch mit Hilfe der Mikroautoradiographie nach 3H-Uridin-Inkorporation keine Markierung über den Fasern von in vitro gezüchteten

¹ A. EDSTRÖM, J. Neurochem. 11, 309 (1964).

² A. EDSTRÖM, J. Neurochem. 11, 557 (1964).

³ J.-E. EDSTRÖM, D. EICHNER und A. EDSTRÖM, Biochem. biophys. Acta 61, 178 (1962).

⁴ J. NÜRNBERGER, A. ENGSTRÖM und B. LINDSTRÖM, J. cell. comp. Physiol. 39, 215 (1952).

⁵ A. HUGHES und L. B. FLEXNER, J. Anat. 90, 386 (1956).

⁶ S. L. PALAY and G. E. PALADE, J. biophys. biochem. Cytol. 1, 69 (1955).

⁷ T. UTAKOJI and T. C. HSU, J. exp. Zool. 158, 181 (1965).

Spinalganglienzellen, aus der auf einen RNS-Gehalt in den Nervenfasern geschlossen werden könnte. Demgegenüber stellte ich im Fischhirn nach in vivo Inkubation von ^3H -Uridin über dem Faseranteil des Nervengewebes deutlich eine sehr geringfügige Markierung fest, die allerdings auch nach sehr langen Inkubationszeiten nicht merklich zunahm⁸⁻¹⁰.

Um zu untersuchen, ob es sich bei dieser schwachen Nervenfaseraktivität um die Markierung einer funktionell aktiven, makromolekularen RNS handelt oder ob das applizierte ^3H -Uridin möglicherweise in metabolisch umgewandelter Form in andere Verbindungen eingebaut worden war, waren vergleichende Untersuchungen über den Einfluss einer Ribonukleasebehandlung (RNase) auf das Verteilungsmuster der makromolekularen RNS im Nervengewebe angezeigt.

Wie schon in früheren Arbeiten⁸⁻¹⁰ führte ich die Untersuchungen am Zebrafisch (*Brachydanio rerio* Ham. Buch.) durch. Als RNS-Tracer wurden $50\ \mu\text{C}$ ^3H -Uridin je Tier mit Hilfe einer Glaskapillare in die Leibeshöhle injiziert. Die Fische wurden nach verschiedenen Inkubationszeiten, die zwischen 11 min und 96 h lagen, getötet. Nach üblicher histologischer Aufbereitung der Carnoy-fixierten Hirne wurden die $10\ \mu$ dicken Frontalschnitte zur Entfernung des noch nicht makromolekular gebundenen Anteils an appliziertem ^3H -Uridin mit 5%iger Trichloressigsäure (bei 2°C , 15 min) behandelt und anschließend wurde jeder 2. Schnitt für 1 h bei 37°C einer 1%igen RNase-Behandlung (Fa. Schuchardt) unterzogen. Hiernach wurden die Objektträger mit der Dipping-Fotoemulsion K2 von Ilford überzogen. Die Autoradiographien wurden nach 65-tägiger Expositionszeit der Filme durch Zählung der Silberkörner einmal über der ganglienzellreichen Granularzone und zum andern über

den vorderen, faserführenden Molekularschichten des Tectum opticum ausgewertet.

In Figur 1 ist der Grad der Isotopenmarkierung nach ^3H -Uridin-Applikation über der Ganglienzellkörperschicht sowie über der Fasermasse des Tectum opticum mit und ohne RNase-Behandlung der Schnitte wiedergegeben. Es zeigt sich über dem Zellkörperbereich mit

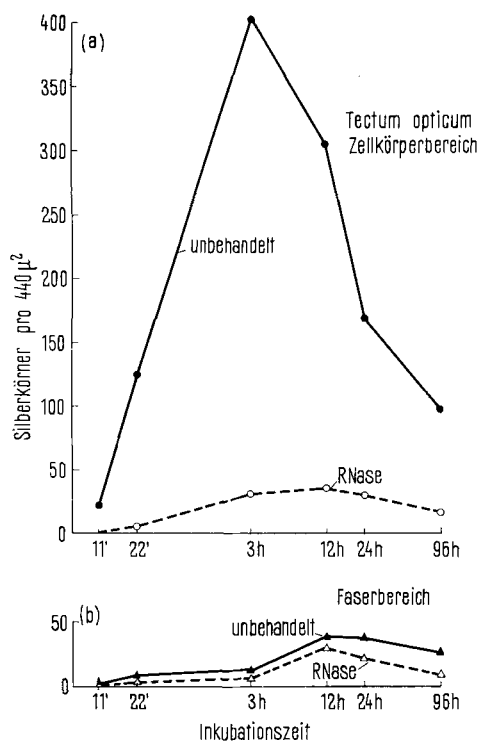


Fig. 1. Einbau von ^3H -Uridin in den Zellkörperbereich (a) und Faserbereich (b) des Mittelhirns von *Brachydanio rerio* (mit und ohne RNase-Behandlung der Schnitte). Abszisse: Inkubationszeit. Ordinate: Silberkorndichte pro $440\ \mu^2$.

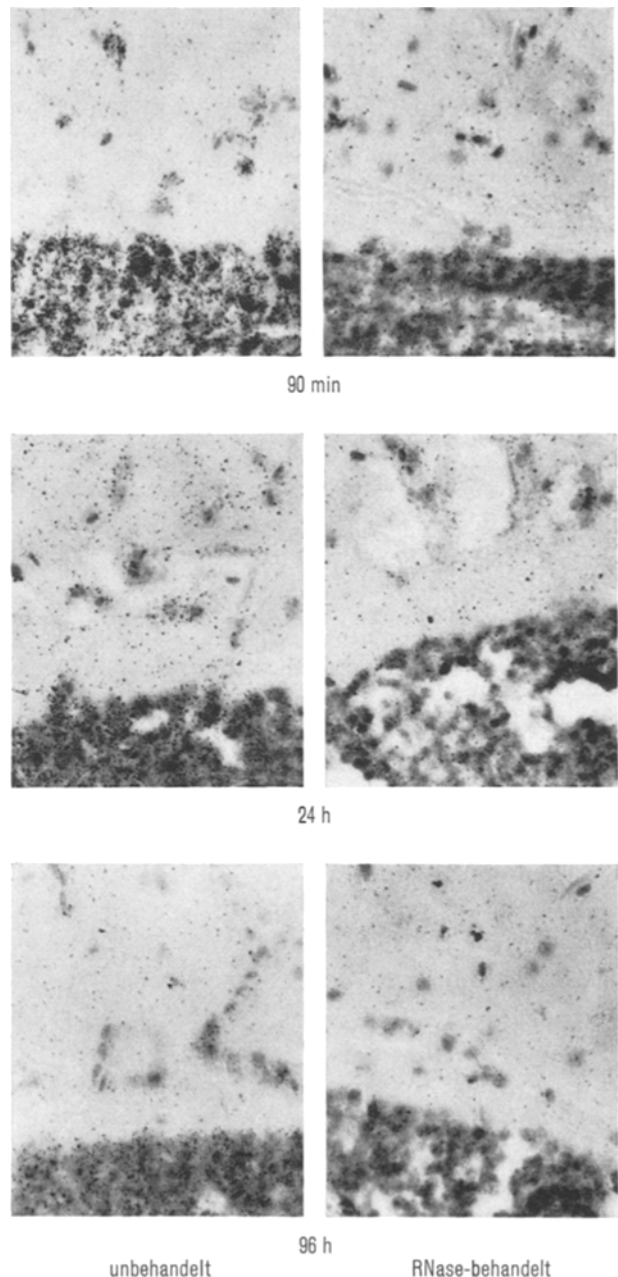


Fig. 2. Mikroautoradiographien vom Zellkörper- und Faserbereich des Tectum opticum nach ^3H -Uridin-Inkorporation und RNase-Behandlung (Inkubationszeiten 90 min, 24 und 96 h).

⁸ H. RAHMANN, Z. Zellforsch. 66, 878 (1965).

⁹ H. RAHMANN und K. H. KORFSMEIER, Zool. Jb., Physiol. Tiere 71, 475 (1965).

¹⁰ H. RAHMANN, Zool. Anz. 29, 485 (1966).

zunehmenden Inkubationszeiten bis zu 3 h ein sehr starker Aktivitätsanstieg, im späteren Verlauf ein langsamer Markierungsabfall. Die Markierung war nach kurzen Inkubationszeiten auf die Zellkerne selbst beschränkt (Figur 2), um sich nach längeren Zeiten auf den ganzen perikaryalen Bereich zu erstrecken. Durch die RNase-Behandlung wurden gut 90% der gesamten RNS-Aktivität ausgewaschen (Figur 1a). Demgegenüber konnte kein nennenswerter Einbau an 3F-Uridin in die Nervenfaserschichten nachgewiesen werden. Auch nach längeren Inkubationszeiten stieg die Markierung nicht mehr wesentlich an (Figur 1b). Durch die RNase-Verdauung wurde von der bestehenden Faser-Aktivität noch ein geringer Anteil der Markierung entfernt. Bei den absolut niedrigen Silberkornzahlen wird die Markierungsdifferenz nach der RNase-Behandlung jedoch nur in ihrer Tendenz sichtbar. Die Zahlenwerte, die nur wenig über den Werten des «background» liegen, können nicht den gleichen Anspruch auf eine Genauigkeit erheben, wie die entsprechenden Werte im Zellkörperbereich.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen folgende Schlüsse zu: Im Nervengewebe findet kein Transport von markierter, makromolekularer RNS von den Nervenzellkörpern zu deren Fasern hin statt, wie er für verschiedene andere Stoffe in Nervenzellen beschrieben wurde⁸. Die geringfügige Markierung über dem Fasergewebe kann möglicherweise daher rühren, dass entweder ein geringer Teil des 3H-Uridins für andere Stoffwechselprozesse umgebaut wurde, oder aber dass das Uridin besonders nach längeren Inkubationszeiten Eingang gefunden hat in die RNS der Mitochondrien, für die in anderen Zelltypen eine DNS-abhängige RNS-Synthese nachgewiesen wurde¹¹⁻¹⁴. Nach der RNase-Behandlung bleiben über dem Zellkörperbereich noch etwa 10% der Markierung erhalten; über dem Fasergewebe wird jedoch im Verhältnis hierzu wesentlich weniger aktives Material ausgewaschen. Würde die Faser-

aktivität von einer RNS der noch vereinzelt im Faserbereich vorkommenden Glia- oder Nervenzellen stammen, wie früher vermutet wurde¹⁰, so müssten durch die RNase-Behandlung auch über den Fasern etwa 90% einer auch nur geringfügigen Menge aktiver RNS entfernt worden sein, was aber nicht der Fall ist. Erst die Klärung des bisher noch nicht in Angriff genommenen Problems, ob die mitochondriale RNS durch RNase digerierbar ist, kann Gewissheit bringen, ob die im Rahmen dieser Untersuchungen nachgewiesene schwache Markierung des Fasergewebes nach 3H-Uridin-Applikation eine spezifische RNS-Markierung ist oder nicht.

Summary. The incorporation of 3H-uridine into the RNA of the perikaryal and fibrous region of the optic tectum of the fish brain was investigated by means of radioautography after incubation times of 11 min to 96 h. There is no transport of RNA from the cell body to the nerve fibres. After RNase-treatment 90% of perikaryal RNA-labelling is washed out, but only a very small amount of the previous very few labelling of the nerve fibres.

H. RAHMANN

Zoologisches Institut der Universität Münster
(Deutschland), 15. März 1966.

¹¹ E. WINTERSBERGER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 336, 285 (1964).

¹² E. WINTERSBERGER und H. TUPPY, Biochem. Z. 341, 399 (1965).

¹³ N. R. ELAEV, Biokhimiya 29, 413 (1964).

¹⁴ D. J. L. LUCK und E. REICH, Proc. natn. Acad. Sci. USA, 52, 931 (1964).

Occurrence of Carnosine in Skin of Certain Leptodactylid Frogs

The skin and skin glands of many amphibians contain compounds of high physiological activity that presumably function in defensive secretions. During the course of investigations on toxic principles in the extracts from skin of various frogs¹⁻³, examination of 7 species of the Leptodactylid genus *Eleutherodactylus* and a species of the related genus *Leptodactylus* were carried out. The specimens (Table) were collected in the El Yunque rain forest of Puerto Rico. They were skinned and the skins were extracted with 80% methanol. The extracts were not toxic (subcutaneous administration in mice) nor were they active in causing contracture of smooth muscle⁴. On chromatographic analysis of the extracts of the most common species, *Eleutherodactylus portoricensis*, a Pauli positive (red-orange) material was detected. This color reaction indicated the presence of an imidazole ring, while the color reaction (gray-black) with ninhydrin indicated an amine group. No other chromogenic materials (indoles, phenols) were detected in the extract although lesser amounts of other ninhydrin positive compounds were present. No histamine, serotonin or phenolic alkyl-

Carnosine in skin extracts of frogs of the genera *Eleutherodactylus* and *Leptodactylus* (calculated by comparison with standard carnosine on paper chromatography and Pauli color development)

Species	No. of frogs	mg carnosine per g skin
<i>Eleutherodactylus portoricensis</i>	50	0.8
<i>E. karlschmidti</i>	5	0.5 ^a
<i>E. richmondi</i>	1	0.2
<i>E. wightmanae</i>	3	0.5
<i>E. locustus</i>	6	1.0
<i>E. eneidae</i>	4	0.3
<i>E. gryllus</i>	6	1.2
<i>Leptodactylus albilabris</i>	3	0.1 ^a

^a Also contain small amounts of histidine.

¹ F. MÄRKI and B. WITKOP, Experientia 19, 329 (1963).

² J. W. DALY, B. WITKOP, P. BOMMER, and K. BIEMANN, J. Am. chem. Soc. 87, 124 (1965).

³ J. W. DALY and C. W. MYERS, in preparation.

⁴ J. PISANO, personal communication.