

The values of the slopes of the curves of the exponential functions were:

$\lambda_1 = (1.26 \pm 0.16) \text{ min}^{-1}$ and $\lambda_2 = (0.058 \pm 0.014) \text{ min}^{-1}$ for the control and

$\lambda_1 = (1.97 \pm 0.23) \text{ min}^{-1}$ and $\lambda_2 = (0.069 \pm 0.008) \text{ min}^{-1}$ for the deficient animals. The value of λ_1 for the deficient animals was significantly higher ($p < 0.001$) than that for the control animals. Assuming that λ_1 is the rate of passage through the capillary barrier, the higher value obtained in the deficient animals could be interpreted as if in these animals the capillary permeability is increased.

The values of the coefficients of the exponential functions were: $\alpha_1 = (54.5 \pm 8) \times 10^6 \text{ cpm}/\mu\text{moles } Pi$ and $\alpha_2 = (19.0 \pm 5) \times 10^6 \text{ cpm}/\mu\text{moles } Pi$ for the control, and $\alpha_1 = (31.4 \pm 4) \times 10^6 \text{ cpm}/\mu\text{moles } Pi$ and $\alpha_2 = (11.4 \pm 2) \times 10^6 \text{ cpm}/\mu\text{moles } Pi$ for the deficient animals. Significant differences ($p < 0.001$) have been found between the corresponding values of α_1 and α_2 for the control and deficient animals. The total space of phosphate, determined by the sum of the coefficients α_1 and α_2 of the exponential functions, gave a value of $73.5 \times 10^6 \text{ cpm}/\mu\text{moles } Pi$ for the control and $42.8 \times 10^6 \text{ cpm}/\mu\text{moles } Pi$ for the deficient animals.

The present results proved conclusively that the rate of elimination of P^{32} from the plasma was increased in tocopherol deficient rabbits. The difference observed between the control and deficient animals could be due to an increase of the capillary permeability and the extracellular accumulation of phosphate. The increased extracellular accumulation of phosphate could be the consequence of a higher uptake of phosphate by the skeletal muscle or other tissues and an increase of the cellular permeability toward phosphate. An increase of the extracellular space has been found by DIEHL⁴ in tocopherol deficient rabbits. Higher values for the ratios of both inorganic and organic phosphate respectively to that of plasma phosphate has been observed in the deficient rabbits¹. Since the muscle weight represents

70% of the body weight the observed difference could account for the higher dilution rate of P^{32} in the tocopherol deficient animals⁵⁻⁷.

Résumé. L'étude de la cinétique de la dilution du phosphate dans le plasma des lapins déficients en α -tocophérol a mis en évidence que, chez ces animaux, la vitesse de disparition du phosphate du plasma ainsi que l'espace de phosphate se trouvent augmentés.

T. F. R. CELIS⁸, N. ZWAIG⁹,
R. N. FARFAS^{10, 11} and R. E. TRUCCO¹⁰

*Centro de Investigaciones Microbiológicas,
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,
Buenos Aires (Argentina), 9 May 1969.*

⁴ J. F. DIEHL, Biochem. Z. 337, 333 (1963).

⁵ This work was supported in part by a grant No. AM 07391 from the National Institutes of Health U.S. Public Service, by the Rockefeller Foundation and by the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Argentina).

⁶ The work was taken in part from a thesis submitted to the Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires by R. N. FARFAS, in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of the University.

⁷ We are indebted to Dr. M. CEREIJIDO from Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires for helpful suggestions.

⁸ Present address: Department of Microbiology, New York University School of Medicine, 550 First Avenue, New York 16 (N.Y., USA).

⁹ Present address: Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas (Venezuela).

¹⁰ Present address: Departamento de Química Biológica, Instituto de Ciencias Químicas, Ciudad Universitaria, Córdoba (Provincia de Córdoba, República Argentina).

¹¹ To whom requests for reprints should be submitted.

Versuche zur chemischen Gedächtnisübertragung von farbdressierten Goldfischen auf undressierte Tiere

Untersuchungen über das Gedächtnis und zur Gedächtnisübertragung werden nach den grundlegenden Versuchen der letzten Jahre (Kurz- und Langzeitgedächtnis¹, Gedächtnisübertragung^{2, 3}) an vielen Stellen durchgeführt.

Material und Methodik. Wir haben 10–14 cm lange Goldfische in Gruppen zu je zwei Tieren in straffreier Differenzdressur mit automatischer Aufzeichnung des Verhaltens auf grünes Licht (hier Belohnung durch Futter) gegen spontan bevorzugtes rotes Licht dressiert (Versuchsanordnung und optische Dressur⁴). Nach Ausbildung des bedingten Reflexes werden die Gehirne der dressierten Tiere (= «Spender») herausoperiert, anschliessend in Anlehnung an eine Arbeitstechnik von UNGAR⁵ homogenisiert, dialysiert und das gefriergetrocknete niedermolekulare Material in Kaltbluttrüger gelöst an undressierte Tiere (= «Empfänger») i.p. verabfolgt. Gleichzeitig injizierten wir undressierte Kontrollgruppen (= «Kontrollempfänger») mit niedermolekularen Gehirndialysaten nicht dressierter Tiere (= «Kontrollspender»). Anschliessend testeten wir die Empfängergruppen mehrmals täglich unter gleichen Bedingungen in ihren Reaktionen auf grünes und rotes Licht. Dem Präparator der Extrakte sowie dem Versuchsleiter war nicht bekannt,

welche Empfängergruppe das Kontroll- und welche das Spenderdialysat erhalten hatte (Doppelter Blindversuch).

Ergebnisse. 1) Alle Empfängergruppen zeigen vor der Injektion (Figur 1B) eine Spontanbevorzugung für rotes Licht⁴.

2. Die Gruppen der Kontrollempfänger verhalten sich in den Testsitzungen nach der Injektion gegenüber den gebotenen Farben genauso wie in den Tests vor der Injektion (Figur 2). Mitunter konnten wir im Verlauf späterer Tests eine leichte Abnahme der Rot-Reaktion beobachten. Der Übergang zu einer Grün-Bevorzugung liess sich jedoch bei den Kontrollgruppen nie feststellen.

3. Bei den Gruppen der «Empfänger» konnten wir 6–12 h nach der Injektion des «Gedächtnisdialysates»

¹ B. W. AGRANOFF, R. E. DAVIS und J. J. BRINK, Brain Res. 7, 303 (1966).

² A. L. JACOBSON, C. FRIED und S. D. HOROWITZ, Nature 209, 599 (1966).

³ G. UNGAR und L. N. IRWIN, Nature 214, 453 (1967).

⁴ H. P. ZIPPEL, in Vorbereitung.

⁵ G. UNGAR, L. GALVAN und R. H. CLARK, Nature 217, 1259 (1968).

(Figur 1C) ausschliesslich Rot-Reaktionen beobachteten, 12–30 h nach der Injektion trat bei den Tieren eine zum Teil starke Aktivitätssteigerung und damit verbunden eine Abnahme der Rot-Reaktionen auf; Grün-Reaktionen sind zu diesem Zeitpunkt noch selten und nicht konstant; immerhin scheint uns die Grün-Ablehnung 24 h post injectionem bemerkenswert (Figur 1C).

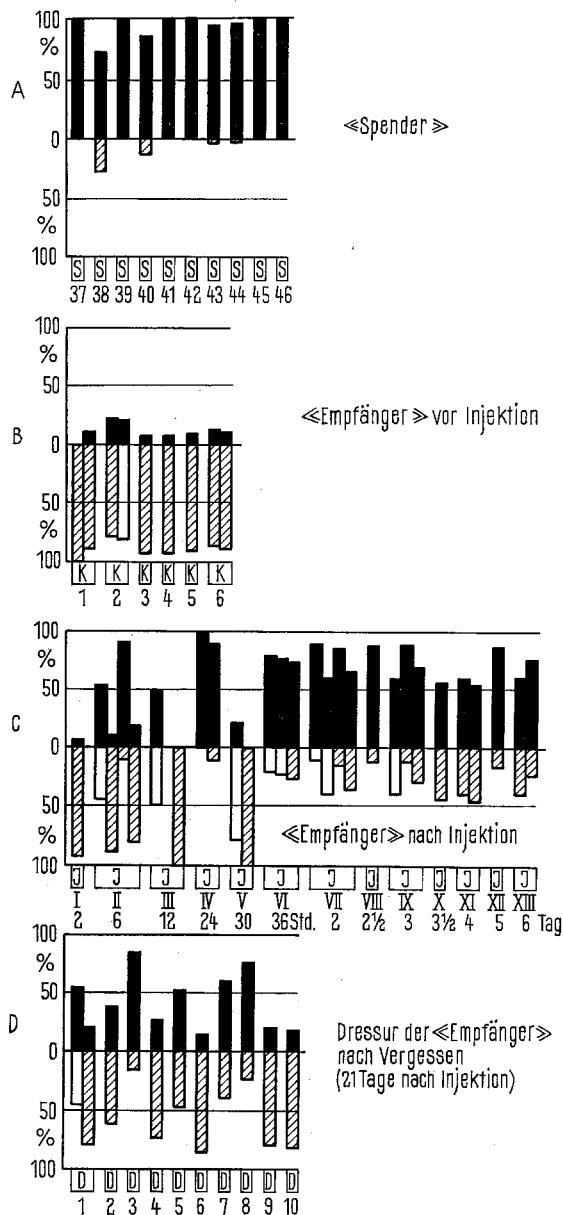


Fig. 1. Verhalten einer Spender- und einer Empfängergruppe. Dargestellt ist in Prozent die Anzahl der Reaktionen (automatisch registrierte Fress- und Schwimmbewegungen) auf grünes (nach oben) und rotes (nach unten) Licht pro Testsituation. Weisse Säulen = kein Licht; schwarze Säulen = grünes Licht; schraffierte Säulen = rotes Licht; Pfeile = Fütterung im Anschluss an den Test = Dressur. A) Spendergruppe: letzte 10 Differenzdressuren (S 37–S 46) vor der Gehirnextirpation; deutliche Bevorzugung für grünes Licht. B) Empfängergruppe: Kontrolltests (K1–K6) vor Injektion; starke spontane Rotbevorzugung. C) Tests der Empfängergruppe (JI–JXIII) nach Injektion des Gehirndialysates von A): Übergang zu Grünbevorzugung. D) Dressur der Empfängergruppe (D1–D10) nach 21 Tagen Vergessenszeit: Rotbevorzugung trotz Dressur. Nähere Erläuterungen im Text.

36–48 h nach der Injektion geben die «Empfänger»-Gruppen dem grünen Licht den Vorzug. Die vorher beobachtete Anziehungskraft des roten Lichtes ist stark in den Hintergrund getreten.

Aus dem Gesagten lässt sich folgern: Eine Übertragung des Farbgedächtnisses, das heisst eine Bevorzugung des grünen gegenüber gleichzeitig gebotenen roten Licht, ist eingetreten. Die Grün-Reaktionen der Gedächtnisempfänger sind deutlich, wenn auch schwächer als die der Spendergruppen (Figur 1A). Ein Angebot des unbedingten Reizes (Fütterung mit *Tubifex*) nach mehreren reinen Tests erscheint uns angebracht, um eine Auslöschung des Gedächtnisses (Extinktion) zu vermeiden. Die Reaktionen auf grünes Licht werden bei ausbleibender Bekräftigung des Gedächtnisses nach 6–8 Tagen deutlich schlechter und gehen wieder in eine mehr oder weniger starke Rot-Bevorzugung über.

4. Nach einer Vergessenspause von 21 Tagen (tägliche Fütterung ohne Farbangebot) verhalten sich die Gruppen der Gedächtnis- und Kontrollempfänger in gleicher Weise: Trotz täglicher Differenzdressur im Anschluss an den Test bleibt eine Bevorzugung des roten gegenüber gleichzeitig angebotenen grünen Licht bestehen.

Hieraus kann geschlossen werden: Die Vergessenspause von 21 Tagen hat das chemisch übertragene Gedächtnis ausgelöscht. Die im Vergleich zu den Kontrolltests vor Injektion (Figur 1B) in der Differenzdressur (Figur 1D) weniger starke Rot-Bevorzugung lässt sich unseres Erachtens am besten als Gewöhnung an die Testsituation erklären, da auch die Kontrollgruppen in gleicher Weise reagieren. Die Positivwahl für grünes Licht nach der Injektion kann mithin nicht als Dressureffekt interpretiert werden (siehe oben).

Diskussion. Die straffreie Farbdifferenzdressur⁴ erfordert im Gegensatz zur geschmacklichen Dressur⁶ sehr

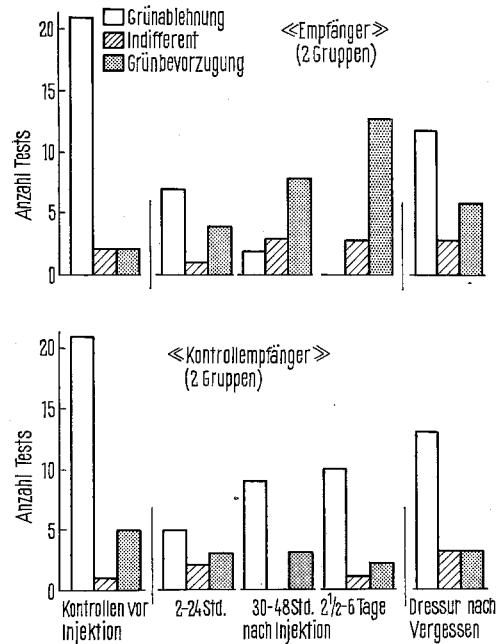


Fig. 2. Verhalten von 2 «Kontrollempfänger»- und 2 «Empfänger»-Gruppen vor und nach der Injektion von Gehirnextrakten.

⁴ B. BIECK und H. P. ZIPPEL, in Vorbereitung.

viele Dressursitzungen. Damit erscheint die Gabe des unbedingten Reizes nach der Injektion im Abstand von mehreren Sitzungen zur Vermeidung einer Gedächtnisauslöschung für die farbliche Gedächtnisübertragung gerechtfertigt. Die nach Injektion zuerst auftretende Erhöhung der Aktivität der Empfänger kann als erste Gedächtnisreaktion interpretiert werden, wie frühere Untersuchungen zur geruchlichen⁷ und optischen Dressur belegen.

Die deutlich positiven Reaktionen der Empfängergruppen nach der Injektion sind nicht so stark wie die letzten Differenzdressuren der Spendergruppen, entsprechen aber dem gut positiven Verhalten einer Dressurgruppe. Besonders bemerkenswert erscheint uns die Tatsache, dass durch die Gedächtnisübertragung die starke Spontanbevorzugung von rotem Licht bei gleichzeitigem Angebot von grünem Licht nicht nur schwächer, sondern sogar umgekehrt wird. Ähnliche Resultate erzielte UNGAR³ bei Gedächtnisübertragungen von Ratten auf Mäuse. Die Ergebnisse nach der Vergessenspause bedürfen einer Überprüfung durch Vergessenstests mit normalen dressierten Tieren, ehe vergleichende Aussagen über den Gedächtnisverlust bei injizierten Tieren gemacht werden können.

Nach unseren bisherigen Ergebnissen ist eine chemische Übertragung des Farbgedächtnisses auf nicht dressierte Tiere wahrscheinlich. Weitere Untersuchungen zum Farb- und Geschmacksgedächtnis sind durchgeführt und werden an anderer Stelle ausführlich beschrieben.

Summary. 36–48 h after the i.p. injection of a low molecular brain extract prepared from colour-trained goldfishes into naive goldfish, these recipients show positive reactions comparable to those shown by the donors. 12–24 h after the injection, the recipients showed an increased activity. No changes in behaviour have been noticed in the recipients of i.p. injections of low molecular brain material from untrained donor fish.

H. P. ZIPPEL und G. F. DOMAGK

*Physiologisches Institut und
Physiologisch-Chemisches Institut der Universität,
34 Göttingen (Deutschland), 22. Mai 1969.*

⁷ H. P. ZIPPEL, in Vorbereitung.

The Effects of Salt Stress on the Cerebral Neurosecretory System of the Grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (F.) (Orthoptera)¹

Only limited information is available on insect osmoregulation and the work that has been reported presents a conflicting and confusing picture. The cerebral neurosecretory system has been variously reported as loaded with^{2–6} or depleted of^{7,8} stainable material after dehydration. For example, after the injection of 1% NaCl into the cockroach, *Periplaneta americana*, the corpus cardiacum (CC) was depleted of neurosecretory colloid, but this material accumulated in the CC and in the neurosecretory tracts after the injection of distilled water⁸. However, in another cockroach, *Blaberus giganteus*, the entire neurosecretory system accumulated massive amounts of stainable colloid under the stress of dehydration^{4,5}. And in *Schistocerca gregaria* the neurosecretory system contained much more material in saline-injected individuals than in controls⁶.

As part of an investigation of the endocrinology of reproduction in the grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*, we tested the reactions of this insect to salt stress. We used newly emerged adult females, less than 12 h old. One group was injected with 20–50 µl of 2.5% NaCl, and another group with 40–50 µl of distilled water, daily, or on alternate days, for a period of 12 days. These insects were sacrificed on days 2, 3, 7, 10, and 12, and their neurosecretory systems examined using a performic acid-victoria blue (PAVB) whole mount technique⁹, and compared with normal adult females of the same ages. Mortality was high (80–90%) among the salt-injected insects, but enough survived for the duration of the experiment to make our observations meaningful. The amount or frequency of the injections did not alter the results.

In specimens sacrificed 2 or 3 days after the first salt injection, the neurosecretory cells and their tracts were clearly visible in the whole mounts (Figure 1). The CC and the nervi corporis cardiaci (NCC) contained some

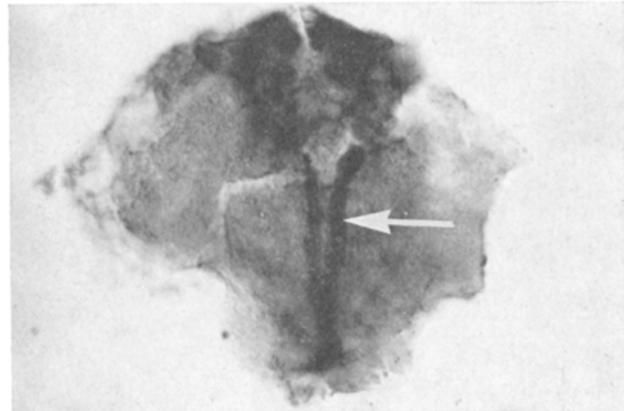


Fig. 1. Dorsal view of the brain showing the neurosecretory cells of the pars intercerebralis and their tracts (arrow). The insect had received a daily injection of 50 µl of a 2.5% NaCl solution for 3 days. PAVB, whole mount; approx. × 120.

¹ Contribution No. 345 from the Research Station. The technical assistance of Mrs. JENISE SAUCIER is gratefully acknowledged.

² O. PFLUGFELDER, Z. wiss. Zool. 149, 477 (1937).

³ K. K. NAYAR, Curr. Sci. 26, 25 (1957).

⁴ B. J. WALL and C. L. RALPH, Biol. Bull. 122, 431 (1962).

⁵ B. J. WALL, J. Insect Physiol. 13, 565 (1967).

⁶ K. C. HIGHNAM, L. HILL and D. J. GINGELL, J. Zool. 147, 201 (1965).

⁷ K. K. NAYAR, Z. Zellforsch. 51, 320 (1960).

⁸ K. K. NAYAR, Mem. Soc. Endocr. 12, 371 (1962).

⁹ G. S. DOGRA and B. K. TANDAN, Q. Jl microsc. Sci. 105, 455 (1964).