

again was not significantly different. The close agreement between the two methods demonstrates that under the conditions described, provided the values presented for percentage extraction are used, mean hepatic blood flow may be calculated from BSP clearance at reduced temperature.

**Résumé.** L'épuration de la bromosulphophtaléine (BSP) par le foie de rat perfusé a été étudiée à 37 °C et à 27 °C. Les courbes de disparition de la BSP indiquent un changement dans le mécanisme d'épuration à la tempéra-

ture inférieure. L'épuration de la BSP est utilisée comme mesure de la vitesse d'écoulement aux 2 températures; moyennant une correction appropriée, un bon accord est obtenu avec les mesures directes.

P. J. HARRIS, A. R. NOBLE and K. A. MUNDAY

*Department of Physiology and Biochemistry,  
Medical and Biological Sciences Building,  
Bassett Crescent East, Southampton SO9 3TU  
(England), 17 September 1974.*

## Rhythmische Änderungen der Reaktion auf verschiedene olfaktorische Reize beim Krallenfrosch (*Xenopus laevis*)

Nachdem TRINCKER<sup>1,2</sup> die bei Anpassungsvorgängen durch Lernen (Dressur) auftretenden Änderungen des motorischen Verhaltens von Amphibien (*Ambystoma*) und Fischen (*Carassius*) als Schwingungsvorgänge im mathematischen Sinne auffasste, wies EWERT<sup>3,4</sup> nach, dass bei optischer Dauerreizung von Erdkröten (*Bufo bufo*) der exponentiell verlaufende Abfall der Handlungsbereitschaft von einem zentralen, periodisch abklingenden Vorgang überlagert wird. Entsprechende rhythmische Änderungen der ethometrisch als Reaktionsgrösse einer

Verhaltensweise erfassbaren Handlungsbereitschaft konnten nun auf olfaktorische Reize beim Krallenfrosch (*Xenopus laevis*) nachgewiesen werden.

Als Versuchstiere dienten 7 adulte Krallenfrösche, die zwischen den Tests in einem grossen Gemeinschaftsbecken gehalten wurden. Durch regelmässiges, individuelles Füttern mit jeweils der gleichen, nicht ad libitum verabreichten Nahrungsmenge wurde versucht, einen vergleichbaren Sättigungs- bzw. Hungerzustand aller Tiere zu erzielen. Zur Versuchsdurchführung wurde jeweils ein einzelner Krallenfrosch in ein Aquarium gebracht, in dessen Wasser als stark wirksamer olfaktorischer Reiz ein durch Zerreiben von 3 Mehlkäferlarven gewonnenes Konzentrat bzw. verschiedene reine Prüfsubstanzen gleichmässig in 2 l Wasser verteilt waren. Zur quantitativen Erfassung der Reaktion wurde die Zahl der für diese Art beim Beuteerwerb typischen Raffbewegungen mit den Vorderbeinen pro Minute bestimmt. Aus den erhaltenen Reaktionszahlen (R) zweier jeweils aufeinander folgender Minuten wurde entsprechend der von EWERT<sup>3,4</sup> benutzten Methode ein Reaktionsquotient (RQ) errechnet ( $RQ = R_t/R_{t+1}$ ).

Bei über 75 min durchgeführten Registrierungen zeigt sich ein Reaktionsverlauf (Figur 1a), der bei einer auswertenden Zusammenziehung der Reaktionszahlen für einen Zeitraum von jeweils 10 min zum Zwecke einer möglichst guten Kurvenglättung dem Bild einer normalen Handlungsbereitschaftskurve (z.B.<sup>5</sup>) auf Dauerreizung mit Anlaufphase, Phase maximaler Reaktion und Gewöhnungsphase entspricht (Figur 1b). Wie der zeitliche Verlauf des RQ belegt, ist dieser Kurve eine Reaktionsoszillation mit einer mittleren Schwingungsdauer von 2 min 52 sec ( $s = \pm 10$  sec) überlagert (Figur 1c; Berechnung der Schwingungsdauer über die Zahl der Kurvengipfel in den ersten 50 min, während denen noch bei keinem Individuum Pausen auftraten). Nachdem diese Oszillation des RQ einer als Schwebung auffassbaren periodischen Amplitudenschwankung unterliegt, die am klarsten bei einem Zusammenziehen der Werte für jeweils 5 min als 15-min-Rhythmik zur Darstellung gebracht werden kann (Figur 1d), ist auf die tatsächliche Überlagerung zweier Grundschwingungen zu schliessen (Dauer der Schwingung<sub>1</sub> 2 min 52 sec, der Schwingung<sub>2</sub> nach  $f_{\text{Schwebung}} = f_1 - f_2$  ca.  $3\frac{1}{2}$  min). Einer  $3\frac{1}{4}$  h langen

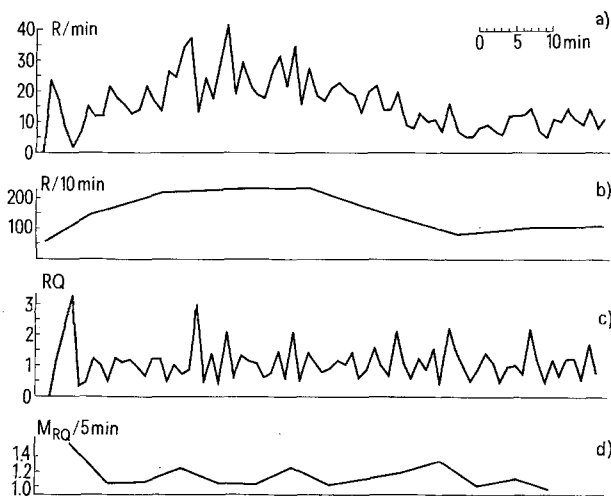


Fig. 1. a) und b). Reaktionskurven bei Registrierung über 75 min; Ordinate: Reaktionen pro min bzw. pro 10 min c) Reaktionsquotientenkurve. d) Kurve der Mittelwerte aller Reaktionsquotienten für jeweils 5 min zur Erfassung der Schwebung. Abszisse jeweils Zeitverlauf; Mittelwerte aus 6 Messungen.

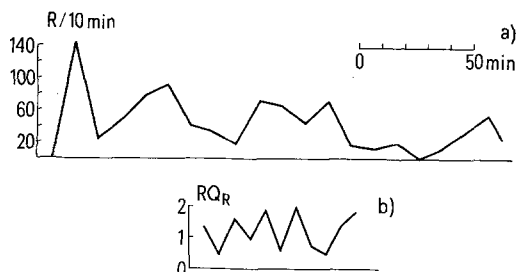


Fig. 2. a) Reaktionskurve (Reaktionen pro 10 min) einer Einzelregistrierung über  $3\frac{1}{4}$  h. b) Reaktionsquotientenkurve für die Reaktionen pro Raffbewegungsserie (Mittel aus 6 Messungen in der 1. Reaktionsminute mit je 12 Raffbewegungsserien).

<sup>1</sup> D. TRINCKER, Z. vergl. Physiol. 36, 115 (1934).

<sup>2</sup> D. TRINCKER, Z. vergl. Physiol. 36, 135 (1934).

<sup>3</sup> J.-P. EWERT und G. BIRUKOW, Naturwissenschaften 52, 68 (1965).

<sup>4</sup> J.-P. EWERT, Z. vergl. Physiol. 57, 263 (1967).

<sup>5</sup> H. KUCZKA, Z. Tierpsychol. 13, 185 (1956).

Orientierungsbeobachtung zufolge erscheint selbst der prinzipielle Verlauf der Reaktionskurve (Figur 1b) nur als ein erster Teil einer weiteren Schwingung von 30–40 min Dauer (Figur 2a). Dies lässt ein überraschend langes Anhalten grundsätzlicher Handlungsbereitschaft des Tieres bei anhaltender olfaktorischer Reizung erkennen, womit die besondere Bedeutung jener Reizmodalität zum Beuteerwerb bei dieser Anurenart unterstrichen wird. Die jeweils aktuelle Reaktionshöhe wechselt dabei durch die Überlagerung verschiedener Schwingungsvorgänge in starkem Masse. So ist auch in der Abfolge der innerhalb einer Minute ablaufenden Raffbewegungsreihen eine weitere Schwingung festzustellen (Figur 2b).

Die entsprechende Reaktion wurde ausser mit Mehlkäferlarvenkonzentrat sowie mit Rinderblut und Milch auch – allerdings in insgesamt schwächerem Masse – bei Verwendung von Histidin, Ölsäure, Saccharose und Glukose (Aminosäure, ungesättigte Fettsäure, Mono- und Oligosaccharid) als Reizsubstanzen erhalten. Histidin löste sie zwar nicht am stärksten, so doch aber am sichersten unter allen getesteten Stoffen aus. Die Prüfung verschiedener Konzentrationen stark verdünnter Glukoselösung zeigte eine Reiz-Reaktionsabhängigkeit in Form einer Optimumskurve. Damit erklärt sich ein bei lokalem Einspritzen einer Reizstofflösung in das Wasser

zu beobachtender rascher Abfall der anfänglichen Reaktionsgrösse als Effekt der im Zeitverlauf verringerten lokalen Konzentration. Die Schwingungsdauer der RQ-Kurve erscheint hingegen unabhängig von der Art und der Konzentration des Reizstoffes; desgleichen lässt sich keine Konzentrationsabhängigkeit der Amplitude dieser Kurve nachweisen. Damit ist auf von der Spezifität des olfaktorischen Reizes unabhängige endogene Oszillatoren zu schliessen, die den durch weitere endogene Faktoren, wie z.B. Hunger, bestimmten Pegel der Nahrungserwerbs-Handlungsbereitschaft rhythmisch verändern.

*Summary.* The behavioural response of *Xenopus laevis* to olfactory cues shows different rhythmical oscillations which do not depend on the chemical nature and the concentration of the stimulus itself. Habituation to such cues occurs very slowly, pointing to their special importance in the feeding behaviour of this species.

H. HEMMER und SIBYLLE KÖHLER

*Institut für Zoologie der Universität, Postfach 3980,  
D-65 Mainz (Bundesrepublik Deutschland, BRD),  
8. Oktober 1974.*

## Nachweis von Reflex-Bluten bei Lampyriden (Coleoptera) mit Hilfe der «Tracer»-Methode

### Demonstration of Reflex-Bleeding in Fire-Flies (Coleoptera) by Help of Radioactive Tracers

Eine Reihe von Insekten stossen bei Berührung an verschiedenen Stellen ihrer Cuticular-Oberfläche kleine Flüssigkeitstropfen aus. Dies trifft auch für imaginale Leuchtkäferchen («fire-flies») zu, welche diese Tröpfchen vor allem auf der Dorsalseite an der Basis der Elytren und Alae sowie durch einen Porus in der Mitte des Metathorakalgiten austreten lassen. Auf der Ventralseite können solche Tröpfchen an der Basis und besonders auf der Innenseite des dritten Coxenpaares beobachtet werden. Nach WILLIAMS<sup>1</sup> und LLOYD<sup>2</sup> soll die abgegebene Flüssigkeit wahrscheinlich zum Zwecke der Abwehr toxische oder frassabschreckende Inhaltsstoffe enthalten. In diesem Zusammenhang ist es eine wichtige Frage, ob es sich um den Austritt von Haemolymph oder um das Sekret von Dermaldrüsen handelt.

Zur Klärung dieser Frage benutzten wir die Injektion von radioaktiven Isotopen in die Blutbahn der adulten Käfer. *Photuris* 'D'<sup>3</sup> und *Photinus consanguineus* Le C<sup>4</sup> wurden auf Pappstreifen mit Hilfe von Tesafilm («masking tape») montiert. Wir probierten verschiedene Positionen aus und fanden am günstigsten eine Montage in normaler Haltung, wobei die gespreizten Flügel und Extremitäten mit Klebestreifen fixiert waren. Auf diese Weise waren das Abdomen für die Injektion sowie die Thorakalgite für Reizung und Abnahme der Flüssigkeitströpfchen frei zugänglich. Unter CO<sub>2</sub>-Narkose wurden den Käfern dorsolateral durch die Intersegmental-Haut des 4. Abdominalsegmentes mit einer Agla-Mikrometerspritze 0,4–1,0 µl einer Radiophosphatlösung vorsichtig unter Vermeidung von Rückfluss injiziert. Die Lösung enthielt H<sub>3</sub><sup>32</sup>PO<sub>4</sub> trägerfrei («carrier free») in 0,02 N HCl mit einer spezifischen Aktivität von 0,2–1,5 mCi/ml. Die absolute Aktivität pro Injektion lag somit zwischen 0,2–1,5 µCi. Nach der Injektion wurden die auf der Pappe montierten Käfer unter einem G. M.-Zählrohr, das an ein Berthold-Frieseke-Zählgerät angeschlossen war, auf erfolgreiche Injektion kontrolliert. Nur Tiere mit vergleichbaren

Injektionsmengen (Impulszahlen) wurden für die weiteren Versuche verwendet.

Mittels einer Filterpapierspitze (deren Leerwert zuvor gemessen wurde) sind die weiterhin montierten und bei 26–28 °C aufbewahrten Käfer mechanisch leicht auf dem Meso- oder Metathorakalgiten, zum Teil auch an der Basis der Elytren gereizt worden. Ausfliessende Tröpfchen wurden mit der Filterpapierspitze aufgesaugt. Letztere wurde daraufhin nach Trocknen unter der vorgenannten Zählordnung auf mit dem Flüssigkeitstropfen ausgeschiedene Radioaktivität kontrolliert. Bei insgesamt 22 montierten und injizierten Leuchtkäferchen ergab sich bei den 5–28 min post injectionem gereizten Tieren in 20 Fällen die Abscheidung von Radioaktivitätsmengen, die einwandfrei vom Nullwert («background») zu trennen waren. In einigen Fällen (und zwar bereits 5–6 min post injectionem) enthielt das durch den präformierten Porus des Metathorakalgiten ausgeschiedene Tröpfchen ca. 10% der in der Ganzkörpermessung festgestellten Radioaktivität. 28–30 min nach der Injektion war die Aktivität bereits stärker im Gesamtorganismus verteilt und «verdünnt»<sup>5</sup>, die messbaren Aktivitäten wurden dann nämlich wesentlich geringer.

Als Ergebnis lässt sich mit Sicherheit sagen, dass die ausserordentlich kurze Zeit zwischen Injektion und Ausfliessen von radioaktiver Flüssigkeit (5–9 min) mit Sicherheit den Vorgang als Reflexbluten, d.h. die Abgabe von Haemolymph durch präformierte Stellen, erweist. Dies

<sup>1</sup> F. X. WILLIAMS, J. New York ent. Soc. 25, 11 (1917).

<sup>2</sup> J. E. LLOYD, The Coleopterists Bull. 27, 91 (1973).

<sup>3</sup> J. E. LLOYD, bei Gainesville/Florida, 15.5.1972. Die Benennung in dieser Form erfolgt bis zur definitiven Klärung.

<sup>4</sup> J. E. LLOYD, 30.8.1972, bei Gainesville/Florida.

<sup>5</sup> R. CRAIG and M. A. OLSON, Science 113, 648 (1951).