

Hieraus folgt, dass das Enzym, das die Desaminierung von Asparaginsäure herbeiführt, nicht dasselbe ist, wie das Enzym, das Alanin spaltet. Es zeigt sich also, dass die erste in der Einleitung geäußerte Annahme die richtige ist. Dies gilt jedoch allein für den Fall, dass die Permeabilität nicht als beschränkender Faktor auftritt, sodass die Aminosäuren frei an die aktive Oberfläche des Enzyms kommen können und nur die Konzentration als beschränkender Faktor für die Desaminierungsgeschwindigkeit anzusehen ist.

Man findet nicht, dass die Verwandlungsgeschwindigkeit die Summe der Verwandlungsgeschwindigkeiten der beiden Komponenten ist. Vielleicht liegt die Ursache dieser Erscheinung in einer teilweisen Besetzung der aktiven Fermentoberfläche durch die Aminosäure, die nicht durch dieses Ferment desaminiert wird, sodass die Desaminierungsgeschwindigkeit der anderen Aminosäure infolgedessen vermindert wird; (siehe WIELAND und MITCHELL) ¹⁾).

Am Schlusse dieses Artikels möchte ich Herrn Dr. A. W. H. VAN HERK meinen Dank für sein hilfebetätigtes Interesse an dieser Untersuchung aussprechen.

*Amsterdam, Pflanzenphysiologisches Laboratorium
der Universität.*

¹⁾ H. WIELAND und W. MITCHELL, Ueber den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. XXIX Ann. 492, 156 (1932).

Zoology. — *Ein Oestruszyklus bei Lebistes reticulatus (Petus).* Von C. J. JASKI. (Aus dem Laboratorium für experimentelle Histologie des Zoologischen Institutes, Utrecht, Leiter: G. C. HIRSCH.) (Communicated by Prof. H. J. JORDAN.)

(Communicated at the meeting of January 28, 1939.)

Lebistes reticulatus gehört zu den lebendgebärenden Cyprinodonten und wird wegen der schönen Farben des Männchens viel durch Aquariumliebhaber gehalten. Es ist bekannt, dass bei dieser Gruppe das Sperma übertragen wird durch ein Gonopodium des Männchens, welches aus einer umgebildeten Afterflosse entstanden ist. Es ergibt sich aus dem Bau und der Lage dieses Gonopodiums und der Genitalöffnung des Weibchens, dass das Gonopodium die Urogenitalpapille des Weibchens nicht erreichen kann, wenn das Weibchen in einer normalen Haltung sich befindet. Es ist vielmehr notwendig, dass das Weibchen zum Zwecke der Kopulation einen schrägen Stand einnimmt, mit dem Kopf nach oben. Ein solcher Stand kann als Ausnahme dadurch entstehen, dass bei dem stürmischen Andrang der Männchen ein Weibchen in eine Ecke gedrängt wird und bei dem Versuch zu entkommen eine Schräghaltung mit dem Kopf nach oben annimmt. Ich konnte jedoch bei meinen über 1000 Beobachtungen nur 1—2 mal wahrnehmen, dass es auf diese Weise zu einer Kopulation kam. Es kann also nur zufällig durch einen heftigen Andrang des Männchens eine solche für die Kopulation notwendige Schräghaltung entstehen.

Die normale Kopulation wird jedoch auf eine andere Weise vorbereitet, die man sich zunächst durch eine

Beobachtung des normalen Verhaltens

deutlich machen kann. Wenn man etwa 40 gutausgewachsene, isoliert aufgezogene und jungfräuliche Weibchen bei 27° C mit 80 Männchen vereinigt in etwa 200 Liter Wasser — dann sieht man, dass zunächst die Männchen die Weibchen hartnäckig verfolgen, ohne jedoch im Anfang eine Kopulation vollziehen zu können. Erst nach 3—4 Tagen tritt, innerhalb einiger weniger Stunden, eine Veränderung im Verhalten der Weibchen auf:

1. Alle Weibchen stehen in einer auffallend steilen Haltung, bei welcher die Wirbelsäule einen Winkel bis 30—70° bildet mit der Horizontallinie ¹⁾. Ich möchte diesen erhöhten Grad mit der Horizontalen von jetzt ab die *Elevation der Weibchen* nennen.

¹⁾ Vollreife Weibchen „stehen“ fast nie genau horizontal. Die Wirbelsäule steht immer etwas schräg und zwar selten weniger als 15°.

2. Es kamen zahlreiche Kopulationen zustande, wie sich später zeigte mit mehr oder weniger Erfolg. 6—12 Std. nach Einsetzen der Elevationen war die Haltung der Weibchen wieder normal geworden.

Am Ende des 5.—7. Tages traten aufs neue Elevationen der Weibchen auf, jedoch weniger allgemein und weniger stark.

Dieser Versuch gelingt auch mit kleineren, 3 bis 4 Monate alten Weibchen, jedoch mit dem Unterschied, dass die Elevationen höchstens 50° erreichen.

Hierbei möchte ich bemerken, dass die Anzahl der Grade der Elevation nicht mit einem Apparate gemessen wurde, was diese scheuen Tiere nur beunruhigt haben würde, sondern geschätzt wurden. Es gelang mir, nach längerer Uebung, die Schätzung bis auf 2½° genau zu machen; da die Unterschiede zwischen der normalen Richtung und der Elevation 15°—55° betragen, so genügte eine solche Genauigkeit der Wahrnehmung für diesen Fall.

Experimente.

Es lag mir nun daran, festzustellen, durch welche Faktoren die Elevation ausgelöst wird. Es wäre möglich, dass ein durch die Männchen abgeschiedener Stoff in das Wasser gelangt und die Elevation der Weibchen hervorruft. Um diese Frage zu entscheiden habe ich verschiedene Experimente gemacht.

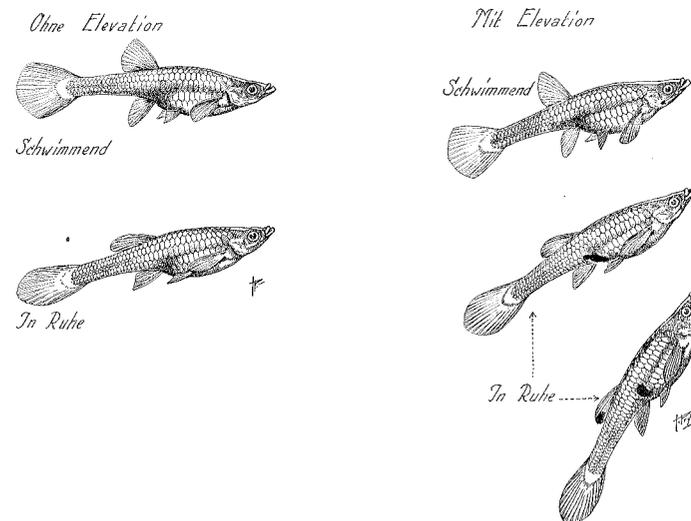


Abb. 1. *Lebistes reticulatus* (Peters), jungfräuliche Weibchen. Links in normaler Haltung; rechts in Elevation als äusseres Kennzeichen der Brunst.

Zunächst teilte ich 60 Weibchen in drei Gruppen und brachte sie in Wasser von 27°, das sich aber durch die folgenden Punkte in jeder Gruppe unterschied:

a. Das erste kleine Becken enthielt Wasser, worin Männchen geschwommen hatten, welche im äusseren grossen Becken umringt waren durch Weibchen, also optisch durch die Beobachtung der Weibchen zu einer Ausscheidung gereizt hätten sein können. Die Männchen waren dann aus dem Wasser genommen worden, das Wasser wurde filtriert und nun als Umgebung für die vorher isoliert aufgezogenen jungfräulichen Weibchen gebraucht.

b. Es wurde Wasser benutzt, in welchem Männchen einige Tage geschwommen hatten, ohne Weibchen zu sehen. Die Männchen wurden aus dem Wasser genommen. Die Wasser wurde filtriert.

c. Reines Wasser von 27°, ohne dass Männchen vorher darin gewesen wären.

Ergebnis: Die Versuche a. und b. gaben zu meiner Ueberraschung beinahe dieselben Ergebnisse, woraus zu schliessen ist, dass die Anwesenheit von Weibchen bei den Männchen für Abscheidung eines Stoffes nicht notwendig ist.

In beiden Fällen der Versuche a. und b. traten Elevationen bei den jungfräulichen Weibchen auf und zwar nach 3, 4 und 6 Tagen. Hieraus ergibt sich, dass die Elevationen einen Tag früher auftreten als bei den vorhergehenden Beobachtungen des normalen Zustandes, bei denen Männchen in ein Becken zu den Weibchen gesetzt wurden, und wo es also eine gewisse Zeit dauerte, bis der durch die Männchen abgeschiedene Stoff eine wirksame Konzentration im Wasser erreicht hatte. Bei den Versuchen a. und b. jedoch wurden die Weibchen in Wasser gesetzt, in welchem sich vorher schon einige Tage Männchen befunden hatten. Es ist durch diese Männchen schon eine gewisse Konzentration des erregenden Stoffes ausgeschieden worden, sodass nun die Elevation einen Tag früher entsteht als in dem vorhergehenden Experiment.

Nachdem durch diese beiden Versuchen a. und b. bewiesen ist, dass in der Tat durch Männchen abgeschiedene Stoffe die Elevation der Weibchen hervorrufen, ergab sich jetzt für die erste obengeschilderte Wahrnehmung des normalen Zustandes, dass die 80 Männchen nicht ganz 24 Std. nötig hatten, um in 200 L. Wasser eine wirksame Konzentration des erregenden Stoffes herzustellen. Hierbei muss man in Rechnung stellen, dass die allergrössten Männchen nur eine Länge von 3 cm hatten.

Und nun schliesslich der Versuch c. mit reinem Wasser, ohne dass vorher Männchen darin gewesen wären. Das Ergebnis war überraschend: auch hier traten Elevationen auf! Doch ergab sich ein wichtiger Unterschied gegenüber den Versuchen a. und b.: wenn man die Weibchen einzeln in kleine Wasserbecken bei 27° bringt und dann einzeln beobachtet, so kann man sehen, dass jedes Weibchen seinen autonomen individuellen Rhythmus hat. Ich habe 60 Weibchen auf diese Weise individuell beobachtet und täglich die Haltung des Weibchens gemessen. Drei von diesen 60 Kurven sind in der linken Hälfte der Abbildung 2 wiedergegeben und zeigen einen typischen auffallend regelmässigen Zyklus. Aber jede

Zyklusphase des einen Individuums ist von der des anderen zeitlich verschieden!

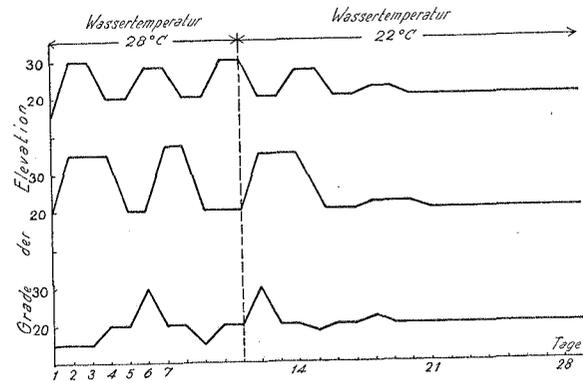


Abb. 2. Drei Kurven von drei verschiedenen Individuen. Links bei 28° C, rechts in 22° C Wassertemperatur. Oestruszyklus von vier, fünf und sechs Tagen. Unterdrückung dieses Rhythmus bei 22° C.

Es ergibt sich aus den bisherigen Versuchen, dass die Elevationen der Weibchen offenbar zwei Faktorengruppen unterstehen könnten:

1. einem *autonomen individuellen Rhythmus* von 4—6 Tagen, welcher in reinem Wasser von 27°—28° durchgehend auftritt,
2. einem *Stoff*, welcher durch die Männchen ausgeschieden in das Wasser gelangt und hier gleichzeitig (synchron) bei allen im Wasser vorhandenen Weibchen die Elevation hervorruft.

Es lag mir nun daran, diese beiden Faktorengruppen von einander zu trennen.

Trennung der autonomen von den heteronom hervorgerufenen Elevationen.

Es gelang mir, den autonomen Rhythmus zu unterdrücken dadurch, dass ich die Weibchen in Wasser von 22° C brachte. Die Figur 2 zeigt an der rechten Seite, wie nun die Elevationen zuerst schwach werden und später gänzlich ausbleiben. Diese Versuche wurden an 60 Tieren angestellt, alle mit dem gleichen Erfolg. Durch diesen Kunstgriff ist es möglich, den autonomen Rhythmus zu unterdrücken. Hieraus ergibt sich: 1. dass der autonome Rhythmus abhängig ist von einer Temperatur von 27° C. — 2. dass man die Aussenfaktoren der Elevation, hervorgerufen durch die Männchen, gewissermassen isolieren kann und damit experimentieren.

Ich habe Gruppen von Weibchen zunächst 4—5 Tage bei 22° C gehalten. Es ergibt sich aus der Abbildung 2 rechts, dass in dieser Zeit der autonome Rhythmus abgeklungen ist. Gleichzeitig habe ich eine Lösung des männlichen Stoffes dadurch hergestellt, dass ich bei 27° 10 Männchen pro Liter Wasser einen Tag lang den fraglichen erregenden Stoff ausscheiden liess. Dann wurden die Männchen herausgenommen und das

Wasser auf 22° abgekühlt. Dann wurden die Weibchen aus ihrem Becken von 22° in diese Lösung hineingebracht.

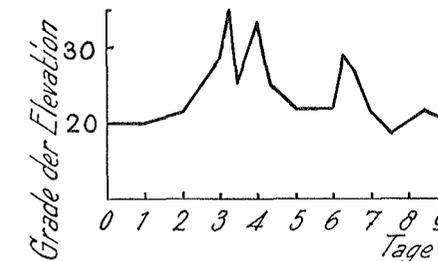


Abb. 3. Kurve von Mittelwerten von 53 Versuchen. Täglich 3 Messungen. Einfluss des Hormones von Männchen im Wasser nach der Unterdrückung des autonomen Rhythmus durch Wassertemperatur von 22° C.

Das Ergebnis dieser Experimente zeigt die Figur 3, welche eine Durchschnittskurve für 53 Weibchen darstellt. Aus der Kurve ergibt sich:

1. dass eine Latenzzeit von etwa einem Tage auftritt, in welcher die Weibchen ihre Elevation von 20° beibehalten.
2. Von da ab steigt die Elevation an bis zum 3.—4. Tage und zeigt hier regelmässig zwei Höhepunkte.
3. Daraufhin fällt die Elevation wieder ab, um stets nach dem 4. Tage noch einmal zuzunehmen und von da ab nur unregelmässig und sehr schwach zu schwanken. — Sehr auffallend sind bei der Kurve die drei Höhepunkte, von denen die ersten beiden dicht bei einander nach dem 3. und 4. Tage auftreten, der dritte nach dem 6. Tage. Der autonome Rhythmus war durch die Temperatur von 22° ausgeschaltet. Also sind die drei regelmässig auftretenden Höhepunkte der Elevation auf den durch die Männchen ausgeschiedenen Stoff zurückzuführen.

Der normale Zyklus.

Wir können uns nun von dem Einfluss der Männchen auf den normalen Zyklus ein Bild formen durch das Entwerfen einer Kurve der Abbildung 4,

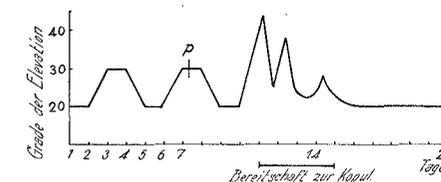


Abb. 4. Ideelle Kurve (nicht auf Grund direkter Messungen) des ersten Experimentes: Uebertönung des autonomen Rhythmus durch Zufügung von Männchen in Punkt P.

welche Kurve nicht durch Messungen erzielt wurde, sondern theoretisch nach den vorhergehenden Angaben entworfen wurde, mit der Absicht, ein Bild von dem Verhalten des normalen Weibchens zu geben. Nehmen wir

an, dass die Weibchen normaliter bei 28° C gehalten werden, so zeigen sie zunächst einen autonomen Rhythmus von 4—6 Tagen durch ein Schwanken der Elevation zwischen mindestens 20—30°. Wir nehmen an, dass bei dem Punkte *P* Männchen in das Becken des Weibchens gebracht werden; dann sehen wir (wie bei der ersten Beobachtung des normalen Verhaltens gezeigt wurde), dass höhere Elevationen als bei dem autonomen Rhythmus auftreten und zwar mit drei Höhepunkten, von denen die beiden ersten von etwa 45° und 38° ziemlich dicht beieinanderliegen, während der letzte Höhepunkt, von ungefähr 28°, niedriger liegt. In dieser Zeit findet die Kopulation statt.

Ich möchte aus dem Gesagten schliessen, dass es sich also bei dem beobachteten Oestruszyklus von *Lebistes* um zwei Gruppen von Faktoren handelt: autonome Faktoren, deren Auswirken nur bei einer Wassertemperatur von 27°—30° möglich ist — und heteronome Faktoren, welche auf einen Stoff zurückzuführen sind, der vom Männchen ausgeschieden wird. Dieser Stoff ist imstande, den autonomen, individuellen Oestruszyklus zu übertönen; gleichgültig an welchem Punkte des autonomen individuellen Oestruszyklus die Weibchen durch den männlichen spezifischen Stoff getroffen werden: sie reagieren alle gleichzeitig mit höheren Elevationen, wie der erste Versuch zeigte. Dieser Stoff ist in einer offenbar geringen Konzentration wirksam: ein Männchen scheidet in einem Tage in 2½ L. Wasser bereits eine wirksame Konzentration aus.

Solange es sich um derartig geringe Konzentrationen des betreffenden Stoffes handelt ist eine Identifikation auf chemischem Wege ausgeschlossen. Deshalb wurde versucht, auf biologischem Wege Näheres über die Natur des vom *Lebistes*-Männchen ausgeschiedenen Stoffes zu erfahren. Vor einiger Zeit hat J. J. DUYVENÉ DE WIT mir mitgeteilt, dass es ihm gelungen ist, mittels des Legeröhrentestes (mit weiblichen Bitterlingen als Testobjekt) zu unterscheiden:

androgene, oestrogene, progesteron- und corticosteron-artige Hormone bzw. Hormonderivate.

Auf meinen Wunsch hat er untersucht, ob die wirksame Substanz:

- 1) einen Einfluss hat auf die Legeröhre,
- 2) in einer der vier genannten Gruppen unterzubringen sei.

Es zeigte sich erstens, dass das *Lebistes*wasser tatsächlich ein starkes Legeröhrenwachstum hervorrief, und zweitens, dass die Form der Wachstumskurve darauf hinwies, dass die wirksame Substanz höchstwahrscheinlich ein Steroid aus der Pregnen- oder Pregnanreihe darstellt. Ob die wirksame Substanz, die ich vorläufig *Kopulin* nennen möchte, wirksam ist beim Säuger, wird untersucht. Weil das *Kopulin* aber im Bitterlingtest so deutlich wirksam ist und in der Biologie von *Lebistes* eine so wichtige Rolle spielt sehe ich kein Bedenken, die Substanz als eine Art Brunsthormon zu bezeichnen.

Ich bin dem Leiter des Laboratoriums dankbar, dafür, dass ich die Untersuchungen teilweise in meinem Hause, teilweise im Laboratorium für

experimentelle Histologie anstellen konnte; ebenso danke ich dem Zeichner Herrn J. PRIJS.

Die Untersuchungen werden augenblicklich fortgesetzt in folgenden Richtungen: wir versuchen den männlichen wirksamen Stoff zu identifizieren, den Einfluss schon bekannter Geschlechtshormone auf den Oestruszyklus zu untersuchen und schliesslich die rhythmischen Veränderungen im Ovarium und in der Hypophyse bei den autonomen und heteronomen Erscheinungen histologisch, qualitativ und quantitativ zu untersuchen.