

DIE VERBREITUNG DER SCHRECKREAKTION  
BEI KAULQUAPPEN  
UND DIE HERKUNFT DES SCHRECKSTOFFES\*

WOLFGANG PFEIFFER

Zoologisch-vergleichend anatomisches Institut der Universität Zürich  
und Zoophysiolgisches Institut der Universität Tübingen

Eingegangen am 7. Dezember 1965

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung . . . . .	79
B. Material und Methode . . . . .	80
C. Ergebnisse . . . . .	81
I. Die Verbreitung der Schreckreaktion . . . . .	81
II. Die Wirksamkeit artfremden Hautextraktes . . . . .	82
III. Die Histologie der Kaulquappenepidermis . . . . .	84
D. Diskussion. . . . .	92
Zusammenfassung . . . . .	95
Summary . . . . .	96
Literatur . . . . .	97

A. Einleitung

Kaulquappen der Erdkröte, *Bufo bufo* (L.), zeigen bei Verletzung von Schwarmmitgliedern eine Fluchtreaktion (EIBL-EIBESFELDT, 1949; HRBACEK, 1950; KULZER, 1954). Sie wird durch einen Stoff ausgelöst, der in der Haut enthalten ist. Der Stoff wird nicht aktiv abgesondert, aber bereits bei geringster Hautverletzung frei. Er wird geruchlich wahrgenommen. Die Fluchtreaktion läßt sich auch mit Bufotoxin und Gama-Bufotoxin auslösen. Obgleich schon die ersten freischwimmenden Kaulquappen eine Fluchtreaktion besitzen, erreicht die Intensität der Reaktion ihren Höhepunkt erst kurz vor der Metamorphose. Auch aus der Haut kleiner Kröten kann noch ein wirksamer Extrakt hergestellt werden (KULZER, 1954).

Seit der Arbeit von K. v. FRISCH (1941) hat sich der Name Schreckstoff eingebürgert für Substanzen, die unter natürlichen Bedingungen frei werden und bei Artgenossen eine Flucht- oder Schutzreaktion auslösen. Das durch den Schreckstoff bewirkte Schutzverhalten wird als Schreckreaktion bezeichnet.

Während wir bei den Fischen über die Verbreitung der Schreckreaktion und den Entstehungsort des Schreckstoffes Bescheid wissen (PFEIFFER, 1960, 1963c), sind die Verbreitung der Reaktion und die

\* Herrn Prof. Dr. KARL VON FRISCH zum 80. Geburtstag gewidmet.

genaue Herkunft des Schreckstoffes bei den Anuren-Kaulquappen unbekannt. Es war das Ziel der vorliegenden Untersuchung 1. die Verbreitung der Schreckreaktion bei den Kaulquappen kennenzulernen, 2. die interspezifische Wirksamkeit von Kaulquappenextrakt zu prüfen und 3. die Herkunft des Schreckstoffes in der Kaulquappenhaut festzustellen. Die Schreckreaktion der Fische wurde kürzlich zusammenfassend dargestellt und es genügt hier auf die Arbeiten von v. FRISCH (1941), SCHUTZ (1956) und PFEIFFER (1960—1965) zu verweisen.

### B. Material und Methode

Es wurden folgende Arten (Nomenklatur nach MERTENS und WERMUTH, 1960) auf die Schreckreaktion und auf die Histologie ihrer Epidermis hin untersucht:

Familie	Art
Bufonidae	Erdkröte, <i>Bufo bufo</i> (L.)
	Kreuzkröte, <i>Bufo calamita</i> LAURENTI
Pipidae	Krallenfrosch, <i>Xenopus laevis</i> WAGLER
Discoglossidae	Geburtshelferkröte, <i>Alytes obstetricans</i> (LAURENTI)
	Gelbbauchunke, <i>Bombina variegata</i> (L.)
Hylidae	Laubfrosch, <i>Hyla arborea</i> (L.)
Ranidae	Grasfrosch, <i>Rana temporaria</i> L.
	Wasserfrosch, <i>Rana esculenta</i> L.

Mit Ausnahme des Krallenfrosches wurde der Laich der genannten Arten 1964 und 1965 in der Umgebung von Zürich gesammelt. Die Kaulquappen schlüpften, nach Arten getrennt, im Aquarium und wurden, sobald sie frei schwammen, auf zahlreiche Versuchsbecken verteilt. Als Versuchsaquarien dienten Vollglasbehälter mit einem Inhalt von 10—14 l. Die Aquarien wurden meist mit 40 Kaulquappen besetzt. Gefüttert wurde mit Grünalgen und Brennesselpulver. Die Wassereextrakte von fein zerschnittenen Kaulquappen brachte ich mit einer Pipette in das Becken. Nach jedem Versuch wurden die Kaulquappen entfernt und die Aquarien gründlich gereinigt. Um den Einfluß von Strömungsreizen zu prüfen, wurde vor jedem Versuch mit der Pipette reines Brunnenwasser zugegeben. Es blieb immer ohne Wirkung.

Nach Einbringen des Extraktes ließen sich die folgenden Verhaltensweisen unterscheiden:

1. Keine Reaktion: alle Kaulquappen bleiben in der Futterecke oder schwimmen langsam im Aquarium umher. Ihr Verhalten nach dem Einbringen des Extraktes gleicht völlig ihrem Benehmen vor der Extraktzugabe.

2. Futtersuche: die Kaulquappen schwimmen nach dem Darbieten des Extraktes suchend und knabbernd am Boden. Ihre Bewegungen werden rascher. Die dem Extrakt nächsten Individuen beginnen mit der Futtersuche. Nach wenigen Minuten sind alle Tiere, auch wenn sie vorher ziemlich gleichmäßig im Behälter verteilt waren, in der Aquariumecke versammelt, in die der Extrakt gegeben wurde.

3. Schreckreaktion: nach Einfließen des Extraktes verlassen die Kaulquappen die Ecke in welcher der Extrakt dargeboten wurde. Nach

1—2 min werden auch die entfernteren Larven zu hastigem Schwimmen am Grund veranlaßt. Die Ausbreitung eines Extraktes mit wirksamem Schreckstoff läßt sich förmlich an der Ausbreitung des Fluchtverhaltens ablesen. Auf eine Unterscheidung von Intensitätsstufen der Schreckreaktion wurde verzichtet und nur zwischen Reaktion (+) und keiner Reaktion (—) unterschieden.

Die Konzentration des Schreckstoffes war unbekannt, denn die verwendeten Kaulquappen waren unterschiedlich groß, es handelte sich um verschiedene Arten und der Schreckstoffgehalt der Haut war von keiner Art bekannt. Die Haut der verschiedenen Arten und Stadien war unterschiedlich dick und enthielt vermutlich dementsprechend mehr oder weniger Schreckstoff. Bei kleineren Kaulquappen wurde ein Tier getötet, zerkleinert, in 10 ml Wasser gelöst und der Extrakt dekantiert und eingebracht. Von größeren Kaulquappen wurde der Extrakt für einen Versuch von einem halben Tier pro 10 ml Wasser zubereitet. Ein derartiger Extrakt scheint mir konzentriert genug zu sein, um eine Schreckreaktion auszulösen, falls er überhaupt wirksamen Schreckstoff enthält. Es sei daran erinnert, daß KULZER (1954) starke Schreckreaktionen erhielt mit Wasser, in dem sich einige Kaulquappen aufgehalten hatten, denen er vorher geringfügige Schnittverletzungen beigebracht hatte. Die Wassertemperatur betrug bei allen Versuchen  $20 \pm 3^{\circ} \text{C}$ .

Für die histologische Untersuchung der Haut wurden die Kaulquappen nach Fixierung mit Bouin in 70% Äthylalkohol übertragen, später ventral geöffnet und ihre Eingeweide entfernt. Die Einbettung geschah in Paraffin. Die Schnittdicke betrug  $5 \mu$  und  $8 \mu$ . Gefärbt wurde mit Hämalaun-(P. MAYER)Eosin, Azan und Toluidinblau (ROMEIS, 1948). Von jeder der oben genannten Arten untersuchte ich drei verschieden alte Kaulquappen histologisch:

1. Ein junges Stadium 1, kurz nach dem Schlüpfen.
2. Ein mittleres Stadium 2, solange die Hinterbeine noch wenig entwickelt waren.
3. Ein älteres Stadium 3, kurz vor oder nach Durchbruch der Vorderbeine.

Der Entwicklungszustand der untersuchten Kaulquappen geht aus Tabelle 3 (vgl. S. 85) hervor. Die Larven wurden in der Körpermitte, zwischen Vorder- und Hinterbeinen bzw. deren Anlagen, quer geschnitten, so daß auf jedem Schnitt Bauch- und Rückenhaut zu sehen sind. Von Arten mit stark pigmentierter Haut, wie *Bufo bufo*, wurden auch mit unterchloriger Säure gebleichte Präparate hergestellt. Das Bleichen hatte eine schlechtere Färbbarkeit der Schnitte zur Folge.

## C. Ergebnisse

### I. Die Verbreitung der Schreckreaktion

EIBL-EIBESFELDT (1949), HRBACEK (1950) und KULZER (1954) beschrieben die Schreckreaktion für die Kaulquappe der Erdkröte *Bufo bufo*. Nach EIBL-EIBESFELDT (1962) besitzen auch die Kaulquappen des Scheibenzünglers *Discoglossus pictus* OTTH eine Schreckreaktion, nicht aber die Larven des Krallenfrosches *Xenopus laevis*. In früheren

Versuchen wurde die Schreckreaktion nicht gefunden bei Kaulquappen vom Wasserfrosch (*Rana esculenta*), Grasfrosch (*Rana temporaria*), nordamerikanischen Leopardenfrosch (*Rana pipiens* SCHREBER) und Laubfrosch (*Hyla arborea*) (PFEIFFER, 1963 b). Zwei von mir in Vancouver 1962 durchgeführte Versuche mit Kaulquappen des afrikanischen Kralenfrosches passen zu dem negativen Ergebnis von EIBL-EIBESFELDT (1962). Es schien wünschenswert, die Versuche fortzusetzen und dabei einerseits Vertreter aus anderen Familien zu berücksichtigen, andererseits zu untersuchen, ob die Schreckreaktion nur bei *Bufo bufo* oder auch bei anderen Arten der Gattung *Bufo* vorkommt.

Um mir ein Bild von der Schreckreaktion zu machen, wiederholte ich zunächst KULZERS Versuche mit Kaulquappen der Erdkröte. Ich habe die Schreckreaktion bei *Bufo bufo* wiederholt beobachtet und auch bei den Kaulquappen der Kreuzkröte *Bufo calamita* gefunden. Von 19 Versuchen mit Bufoniden endeten 17 mit einer Schreckreaktion. Dagegen gelang es in 26 Versuchen nicht eine Schreckreaktion bei *Bombina variegata*, *Alytes obstetricans*, *Xenopus laevis* und *Rana temporaria* nachzuweisen. Alle Versuche mit diesen Arten endeten ohne Schreckreaktion. Die Kaulquappen der Gelbbauchunke und des Grasfrosches antworteten sogar wiederholt mit Futtersuche auf Extrakt von Artgenossen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Mit *Hyla*

Tabelle 1. Versuche mit arteigenem Hautextrakt

Nr.	Familie	Art	Zahl der Versuche	Davon positiv
<i>Bufo</i> idae				
1		<i>Bufo bufo</i>	14	14
2		<i>Bufo calamita</i>	5	3
<i>Discogloss</i> idae				
3		<i>Bombina variegata</i>	8	0
4		<i>Alytes obstetricans</i>	3	0
<i>Pip</i> idae				
5		<i>Xenopus laevis</i>	3	0
<i>Ran</i> idae				
6		<i>Rana temporaria</i>	12	0

*arborea* und *Rana esculenta* wurden keine Versuche mehr durchgeführt, da frühere Experimente mit diesen beiden Arten ohne Schreckreaktion geendet hatten (PFEIFFER, 1963 b).

## II. Die Wirksamkeit artfremden Hautextraktes

Die Fragen, 1. wirkt Schreckstoff von Erdkrötenkaulquappen auch auf artfremde Anurenlarven und 2. reagieren Erdkrötenkaulquappen

auch auf Hautextrakt von Kaulquappen anderer Anurenarten, wurden bisher noch nicht angegangen. Ich habe zu diesen Fragestellungen insgesamt 67 Versuche durchgeführt. Die Ergebnisse sind eindeutig. Es wurden 36 Versuche mit Erdkrötenkaulquappen und artfremdem Hautextrakt gemacht. Die Erdkrötenkaulquappen zeigten in 8 von 11 Fällen eine Schreckreaktion auf Schreckstoff von Kreuzkrötenkaulquappen. Dagegen lösten Hautextrakte von Kaulquappen des Grasfrosches, des Krallenfrosches, der Geburtshelferkröte und der Gelbbauchunke bei den Erdkrötenkaulquappen in insgesamt 25 Versuchen keine einzige Schreckreaktion aus. Entsprechend endeten die Versuche mit Kreuzkrötenkaulquappen. Diese reagierten zwar auf Schreckstoff von Erdkrötenkaulquappen, nicht aber auf Extrakt von Kaulquappen der Gelbbauchunke. Umgekehrt war der Schreckstoff von Erdkrötenkaulquappen bei den Kaulquappen des Grasfrosches und der Gelbbauchunke wirkungslos. Während von den 22 Versuchstieren mit Bufoniden-Kaulquappen und artfremdem Bufoniden-Schreckstoff 15 mit einer Schreckreaktion endeten, gaben 31 Versuche mit Bufoniden-Kaulquappen und Hautextrakt aus Nicht-Bufoniden-Kaulquappen keine einzige Schreckreaktion. Desgleichen war in allen 9 Versuchen Bufoniden-Extrakt bei Nicht-Bufoniden-Kaulquappen wirkungslos (Tabelle 2).

Tabelle 2. Versuche mit artfremdem Hautextrakt

Nr.	Schwarm von	Hautextrakt von	Zahl der Versuche	Davon positiv
Intrafamiliäre Versuche				
1	<i>Bufo bufo</i>	<i>Bufo calamita</i>	11	8
2	<i>Bufo calamita</i>	<i>Bufo bufo</i>	11	7
Interfamiliäre Versuche				
3	<i>Bufo bufo</i>	<i>Rana temporaria</i>	8	0
4	<i>Bufo bufo</i>	<i>Alytes obstetricans</i>	6	0
5	<i>Bufo bufo</i>	<i>Bombina variegata</i>	5	0
6	<i>Bufo bufo</i>	<i>Xenopus laevis</i>	6	0
7	<i>Bufo calamita</i>	<i>Bombina variegata</i>	6	0
8	<i>Bombina variegata</i>	<i>Bufo bufo</i>	3	0
9	<i>Rana temporaria</i>	<i>Bufo bufo</i>	6	0
10	<i>Rana temporaria</i>	<i>Alytes obstetricans</i>	5	0

Die Versuche mit arteigenem Extrakt zeigen, daß die Schreckreaktion nicht nur bei *Bufo bufo* vorkommt, sondern auch Besitz von *Bufo calamita* ist, und deuten darauf hin, daß sie vielleicht bei der Gattung *Bufo* oder bei der Familie Bufonidae allgemein verbreitet ist. Um dies zu entscheiden, müßten weitere Bufoniden-Arten geprüft werden, wobei es wünschenswert wäre, Arten verschiedener geographischer Herkunft zu testen. Dagegen weist der negative Ausgang aller Versuche mit

Nicht-Bufoniden auf das Fehlen der Schreckreaktion bei diesen Anuren hin. Diese Ansicht wird auch durch die negativen Ergebnisse an den früher untersuchten Arten gestützt (PFEIFFER, 1963 b). In Widerspruch zu dieser Meinung steht nur der Befund von EIBL-EIBESFELDT (1962) an *Discoglossus pictus*. Möglicherweise stellt der Scheibenzünger eine Konvergenz dar oder handelt es sich bei der von EIBL-EIBESFELDT beobachteten Reaktion um etwas anderes. Jedenfalls sprechen die 11 Versuche mit *Bombina variegata* und *Alytes obstetricans* gegen eine allgemeine Verbreitung der Schreckreaktion bei den Discoglossidae.

Innerhalb der Gattung *Bufo* wirkt der Schreckstoff einer Art anscheinend auch auf andere Arten. Dagegen ist *Bufo*-Schreckstoff bei Nicht-Bufoniden wirkungslos. Desgleichen reagiert *Bufo* nicht auf Hautextrakt von Nicht-Bufoniden. Es ist anzunehmen, daß den Nicht-Bufoniden ohne Schreckreaktion beides fehlt: der Schreckstoff in der Haut und die Fähigkeit zur Reaktion.

### III. Die Histologie der Kaulquappenepidermis

Um einen Hinweis auf den Entstehungsort des Schreckstoffes in der Haut zu bekommen, wurde zunächst die Epidermis von Arten mit Schreckstoff (Gattung *Bufo*) mit derjenigen von Arten ohne Schreckstoff (Nicht-Bufoniden) histologisch verglichen. Es wäre denkbar, daß die Arten mit Schreckstoff Zellen in der Haut führen, die den Arten ohne Schreckstoff fehlen, ähnlich wie das bei den Fischen der Fall ist (PFEIFFER, 1960). Angaben zur Histologie der Haut von Anurenkaulquappen sind selten, verstreut und unvollständig. Eine neuere, vergleichend histologische Untersuchung der Kaulquappenepidermis, die als Arbeitsgrundlage dienen könnte, habe ich nicht gefunden. Die existierenden Arten beschränken sich auf die Haut weniger adulter Amphibienarten und sagen kaum mehr aus, als daß die mehrzelligen Schleim- und Körnerdrüsen erst bei der Metamorphose entstehen und daß den Anurenlarven Leydigsche Zellen in der Haut fehlen (MAURER, 1915; NOBLE, 1931). In der Literatur (BIEDERMANN, 1930; HERTER, 1941; MOORE, 1964) konnten keinerlei Hinweise auf einzellige Drüsen bei Anurenkaulquappen gefunden werden. Eine histologische Untersuchung der Kaulquappenepidermis erschien daher notwendig. Die Bufoniden wurden den Nicht-Bufoniden gegenübergestellt und die älteren Entwicklungsstadien einer Art mit den jüngeren Stadien derselben Art verglichen. Von jeder Art wurden drei verschiedene Entwicklungsstadien untersucht. Nur von *Hyla arborea* und von *Rana esculenta* stand kein älteres Stadium während der Metamorphose zur Verfügung. Der Entwicklungszustand der verschiedenen Stadien ist aus Tabelle 3 ersichtlich.

Es zeigte sich, daß die Hautdicke abhängig ist von der untersuchten Art, vom Entwicklungszustand und von der Körperstelle. Die Haut-

Tabelle 3. Charakterisierung der nach dem Fixieren in Bouin gemessenen Kaulquappen. Als Rumpflänge wird die Länge vom Körpervorderende bis zum Ansatz der Hinterbeinknospen bzw. bis zum Hinterrand der Hinterbeinansatzstelle bezeichnet. Hb. = Hinterbein, Vb. = Vorderbein, Hb.Kn. = Hinterbeinknospen, Hf. = Hinterfuß

Art	Stadium Nr.	Objekt Nr.	Länge in mm			Bemerkungen
			Rumpf	Schwanz	total	
<i>Bufo bufo</i>	1	21	3,5	5,5	9	Hb.Kn. < 0,1 mm, Haftorgan
	2	22	8	11	19	Hf. angedeutet
	3	23	11	17	28	2 Vb.
<i>Bufo calamita</i>	1	71	4	6	10	Hb.Kn. 0,2 mm
	2	72	8	14	22	Hb. 2,0 mm
	3	73	10	15	25	Hf. 3,5 mm, 1 Vb.
<i>Xenopus laevis</i>	1	41	6	11	17	
	2	42	17	35	52	Hf. mit Zehen
	3	43	19	36	55	2 Vb.
<i>Alytes obstetricans</i>	1	81	6	9	15	Hb.Kn. < 0,1 mm
	2	82	13	22	35	Hb.Kn. 0,3 mm
	3	83	16	24	40	Hb. 15,0 mm, 2 Vb.
<i>Bombina variegata</i>	1	11	3,5	5,5	9	Hb.Kn. < 0,1 mm, Haftorgan
	2	12	9	13	22	Hf. noch nicht angedeutet
	3	13	11	30	41	Hb. 15,0 mm, 2 Vb.
<i>Hyla arborea</i>	1	51	5	7	12	Hb.Kn. < 0,1 mm
	2	52	7	13	20	Hb.Kn. 0,3 mm
	3	53	12	19	31	Hb. 2,0 mm, kein Vb.
<i>Rana temporaria</i>	1	31	5,5	10	15,5	Hb.Kn. < 0,1 mm, Haftorgan, äußere Kiemen
	2	32	10	20	30	Hf. mit Zehen
	3	33	16	29	45	2 Vb.
<i>Rana esculenta</i>	1	61	5	10	15	Hb.Kn. < 0,1 mm
	2	62	7	14	21	Hb.Kn. 0,5 mm

dicke nimmt mit dem Alter zu. Die Epidermis der Stadien I unterscheidet sich bei den verschiedenen Arten nur geringfügig und ist ein- bis zweischichtig. Sie ist stets da am dicksten, wo sich Sinnesknospen befinden. Die beiden Zellschichten sind entweder gleich dick oder die äußere Lage ist etwas dünner als die innere Lage. Beim Vergleich des Stadiums I fällt *Xenopus laevis* durch seine besonders dünne Haut auf. Die Epidermis der älteren Kaulquappen ist artlich verschieden und zwei- oder mehrschichtig. Die äußere Lage besteht aus abgeflachten Zellen mit langem, manchmal gebuchtetem Kern, während die Zellen

der inneren Schichten kubisch bis hochprismatisch sind. Die Zahl der Epidermisschichten ist aus Tabelle 4, die Dicke der Haut aus Tabelle 5 ersichtlich. Die Epidermis der Stadien 3 ist, der größeren Zahl der Zellschichten entsprechend und infolge des Wachstums der einzelnen Zellen, erheblich dicker als diejenige der jüngeren Stadien und bei allen geprüften

Tabelle 4. Zahl der Epidermisschichten

Art	Stadium Nr.	Dorsal	Lateral	Ventral
<i>Bufo bufo</i>	1	2	2	2
	2	2	2	2
	3	2	2—3	2
<i>Bufo calamita</i>	1	1—2	1—2	1—2
	2	2	2	2
	3	3—4	3—4	4—6
<i>Xenopus laevis</i>	1	1—2	1	1
	2	3	3	3
	3	4—5	4—5	4—5
<i>Alytes obstetricans</i>	1	2	2	2
	2	2—3	2—3	2—3
	3	3	2—3	2—3
<i>Bombina variegata</i>	1	2	1—2	1—2
	2	2	2	2
	3	3—4	3	3—4
<i>Hyla arborea</i>	1	1	2	1
	2	2	2	2
	3	2	2	2—3
<i>Rana temporaria</i>	1	2	2	2
	2	2	2	2
	3	3—4	4—5	3—4
<i>Rana esculenta</i>	1	2	2	2
	2	2	2	1—2

Arten an den verschiedenen Körperregionen eines Individuums unterschiedlich. Die Pigmentierung der Epidermis nimmt immer von dorsal nach ventral und von distal nach proximal ab. Bei manchen Arten (*Bufo bufo*) enthält fast jede Epidermiszelle Pigmentgranula, bei anderen (*Alytes obstetricans*) ist das Melanin auf besondere Pigmentzellen beschränkt. Besonders pigmentreich ist die Epidermis der untersuchten *Bufo*- und *Rana*-Arten. Bei allen Kaulquappen, ausgenommen *Xenopus* Stadium 1 und 2, läßt sich als Abschluß der Epidermis nach außen ein 1—2  $\mu$  dicker Grenzsau erkennen, der sich mit Azan hellblau färbt und gewöhnlich senkrecht zur Oberfläche gestreift erscheint. Bei allen Arten hebt sich die Basalmembran bei Stadium 1 und 2 kaum, bei Stadium 3 deutlich von der Cutis ab.

Tabelle 5. Dicke der Epidermis und Cutis in  $\mu$ . Durchschnitt (Fettdruck) und Extremwerte aus 4–10 Messungen an einem Schnitt pro Stadium. Es wurde an Stellen gemessen, die frei von mehrzelligen Drüsen sind.

Art	Stadium Nr.	Dorsal			Lateral			Ventral		
		Epidermis	Cutis	Epidermis	Epidermis	Cutis	Epidermis	Epidermis	Cutis	
<i>Bufo bufo</i>	1	11–16–20	1	12–15–20	1	8–11–14	1	8–11–14	1	
	2	9–11–13	1,5–2	7–9–11	1,5–2	10–14–16	1,5–2	10–14–16	1,5–2	
	3	18–21–24	10–14–16	24–29–34	12–16–20	16–19–25	6–10–16	16–19–25	6–10–16	
<i>Bufo calamita</i>	1	6–9–16	1,5	5–9–14	1,5	6–8–11	1,5	6–8–11	1,5	
	2	16–19–22	2,5	15	2,0	19	3,5	19	3,5	
	3	35	16–31	37	9–16	35	9–22	35	9–22	
<i>Xenopus laevis</i>	1	1–4	1,5	1–4	1,5	1–4	1,5	1–4	1,5	
	2	16–20–24	2–3	11–13–16	2,5	10–12–16	2,5	10–12–16	2,5	
	3	36–41–48	22–33–45	30–38–44	34–51–60	20–26–32	24–31–34	20–26–32	24–31–34	
<i>Alytes obstetricans</i>	1	14	1,5	12	1,5	12–14–18	1,5	12–14–18	1,5	
	2	21	4	27	7	34	7	34	7	
	3	23	15	23	27	35	20–32	35	20–32	
<i>Bombina variegata</i>	1	8–10–12	1,5	7–11–15	1,5	6–8–10	1,5	6–8–10	1,5	
	2	5–7–11	1,5	4–6–9	1,5	4–6–9	1,5	4–6–9	1,5	
	3	18–23–28	20–33–48	24–31–37	10–16–24	16–22–28	8–12–16	16–22–28	8–12–16	
<i>Hyla arborea</i>	1	11–14–19	2	8–10–13	2	14	2	14	2	
	2	11–14–20	1–2	12	2	11	1,5	11	1,5	
	3	24	3	18	4	5–14–20	6	5–14–20	6	
<i>Rana temporaria</i>	1	11–13–17	1–2	8–10–16	1,5	10–12–17	1	10–12–17	1	
	2	9–13–16	2,5–3	15–17–20	2,5	8–12–16	2,5	8–12–16	2,5	
	3	26–31–34	16–19–24	42–43–50	17–22–24	24–28–31	4–8–13	17–22–24	24–28–31	
<i>Rana esculenta</i>	1	19	0,5	16–17–19	0,5	14	0,5	14	0,5	
	2	9–14–15	2	9–14–18	2,5	9	2	9	2	

Die Cutis besteht bei den Stadien 1 nur aus dem parallelfaserigen Stratum compactum. Erst bei den metamorphosierenden Stadien 3 ist das aus lockerem Bindegewebe bestehende Stratum spongiosum ausgebildet. In ihm eingebettet liegen die mehrzelligen Drüsen, welche die Cutisdicke beträchtlich beeinflussen. Die Dicke der Cutis geht aus Tabelle 5 hervor. Zu den mehrzelligen Drüsen, die in unserem Zusammenhang nicht weiter interessieren, weshalb auch auf die Unterscheidung von Schleim- und Körnerdrüsen verzichtet wird, sei gesagt, daß sie bei all den Exemplaren gefunden wurden, bei denen wenigstens ein Vorderbein durchgebrochen war. Bei *Hyla arborea* und *Rana esculenta* fehlten soweit fortgeschrittene Entwicklungsstadien. Bei beiden Arten wurden, wie bei allen Stadien 1 und 2, keine mehrzelligen Drüsen gefunden.

Bei allen untersuchten Arten wurden Zellen gefunden, die von den gewöhnlichen Epidermiszellen abweichen. Solche Zellen können entweder nur bei den jüngsten Kaulquappen (Stadium 1) oder nur bei den ältesten Kaulquappen (Stadium 3) oder bei allen Entwicklungsstufen einer bestimmten Art vorhanden sein.

1. *Zellen der Epidermis, die nur bei jungen Kaulquappen gefunden wurden.* In der Epidermis von *Bufo bufo* und *Bombina variegata*, Stadium 1, liegen Zellen, die mit großen, strukturlosen, ovalen, eosinophilen Körnern gefüllt sind. Diese Körner sind vermutlich Dottergranula.

Bei Stadium 1 von *Bufo bufo* wurden in der Rückenhaut einige becherförmige, distal pigmentlose Zellen gefunden. Sie färben sich mit Schiffschem Reagens intensiv rot.

In der Epidermis der Stadien 1 von *Bombina variegata* und *Rana temporaria* wurden oberflächlich gelegene Zellen gefunden, die vermutlich ebenfalls Schleimzellen darstellen. Diese Zellen sind, im Gegensatz zu den becherförmigen Zellen von *Bufo bufo*, Stadium 1, flach und schlüsselförmig. Ihr Inhalt besteht aus mit Azan rot und blau färbbaren Körnern. Über den Zellen läßt sich kein Grenzsaum erkennen. Dagegen reichen von diesen schlüsselförmigen Zellen feine Granula in Form kurzer, verzweigter Fransen über das Epithel hinaus. Es handelt sich dabei vermutlich um Sekret.

Bei *Hyla arborea*, Stadium 1 und seltener auch bei Stadium 2, wurden, besonders ventral, Zellen gefunden, die einen mit Azan blau, mit Toluidinblau violett angefärbten Schleimmantel über die Epidermisoberfläche vorwölben. In der peripheren Zone der oberflächlich gelegenen Zellen färben sich Granula von 1—3  $\mu$  Durchmesser mit Azan blau.

Mit Ausnahme der Epidermiszellen mit den Dottergranula münden alle hier für die jungen Kaulquappen beschriebenen Zellen nach außen und sind wahrscheinlich Schleimzellen.

2. *Zellen der Epidermis, die nur bei älteren Kaulquappen gefunden wurden.* In der Basalschicht der Epidermis von *Rana temporaria*, Stadium 3, fallen zahlreiche bis 27  $\mu$  hohe Zellen durch ihre ungewöhnliche Größe auf (Abb. 1). Sie reichen von der Basalmembran bis zur Außenschicht und sind gewöhnlich hochzylindrisch bis keulenförmig mit dem dicken Ende zur Hautoberfläche. Der kleine Kern liegt distal und erscheint vielfach gefranst oder nahezu aufgelöst. Solche Zellen wurden nur in der Epidermis metamorphosierender *Rana*-Kaulquappen gefunden. Ihre Funktion ist unbekannt.

In der Epidermis von *Alytes obstetricans*, Stadium 2 und 3, fanden sich dorsal einige spindelförmige, über die Epidermis hinausragende Zellen. Auch die innere Epidermisschicht weicht von den Zellen der anderen Arten ab. Ihre hochprismatischen Zellen erscheinen oft optisch leer, abgesehen vom Zellkern und von bandartigen Strukturen, die distal-basal verlaufen und sich bei Azanfärbung leuchtend



Abb. 1

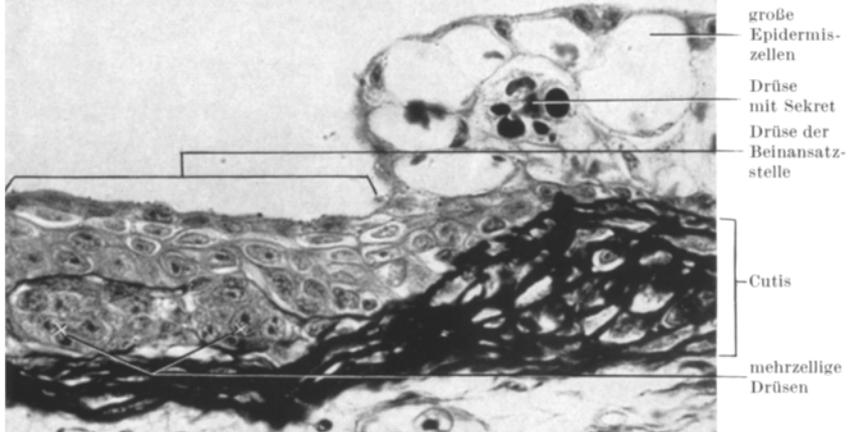


Abb. 2

Abb. 1. Rückenhaut einer Kaulquappe von *Rana temporaria*. Stadium 3. Bouin, HE, 5  $\mu$ , 540  $\times$ . Die 540fache Vergrößerung wurde durch Verwendung eines Objektives  $\times 40$  gewonnen, die 1350fache Vergrößerung durch Verwendung eines Ölimmersionsobjektives  $\times 100$  erzielt. Die Aufnahmen wurden mit dem Photomikroskop von Zeiss gemacht. Vom Film (Adox KB 14) wurden die Aufnahmen 3,375mal vergrößert. Die angegebene Vergrößerung stellt die Endvergrößerung auf den Wiedergaben dar

Abb. 2. Haut aus der Gegend der Beinansatzstelle einer Kaulquappe von *Xenopus laevis*. Stadium 3. Bouin, Azan, 5  $\mu$ , 540  $\times$

gelb anfärben. Zwischen der inneren und der äußeren Zelllage liegen oft runde Zellen, die ganz oder in ihrem zentralen Bereich mit Granula gefüllt sind, welche sich mit Azan blau anfärben.

Grundsätzlich abweichend von allen anderen geprüften Häuten ist die Epidermis von *Xenopus laevis*, Stadium 2 und besonders Stadium 3 (Abb. 2). Bei Stadium 2 wird die Mittellage der dreischichtigen Epidermis von großen, runden bis ovalen Zellen gebildet, deren abgeflachte Kerne basal der Zellwand anliegen. Diese großen Zellen nehmen mehr als die halbe Höhe der Epidermis ein und werden gegen ihre Oberfläche hin nur von einer dünnen Membran begrenzt. Im Innern dieser großen Zellen liegen einzelne runde bis bohnenförmige Körner, die sich mit Azan blau färben. Es handelt sich wohl um Schleimgranula. Dorsal liegen diese großen Zellen dicht nebeneinander, ventral und lateral sind sie flacher und weniger

zahlreich. Bei Stadium 3 sind die großen, meist leeren Zellen viel zahlreicher als bei Stadium 2. Sie werden bis zu  $30\ \mu$  hoch und nehmen etwa zwei Drittel der Epidermishöhe ein. Sie liegen in einer geschlossenen Reihe und scheinen an der Epidermisoberfläche mit einem winzigen Porus nach außen zu münden. Ventral und besonders lateral sind diese großen Zellen kleiner und etwas abgeflacht. Sie

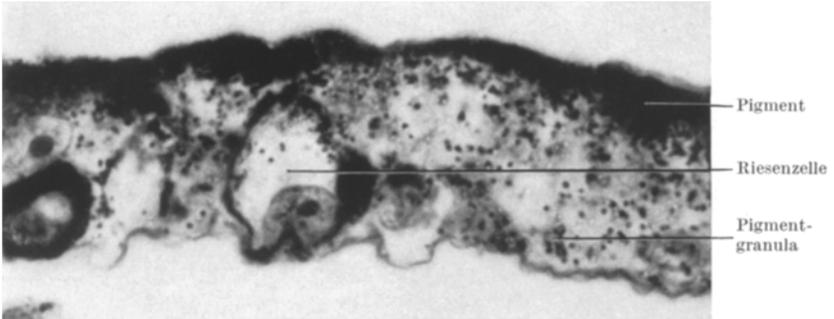


Abb. 3

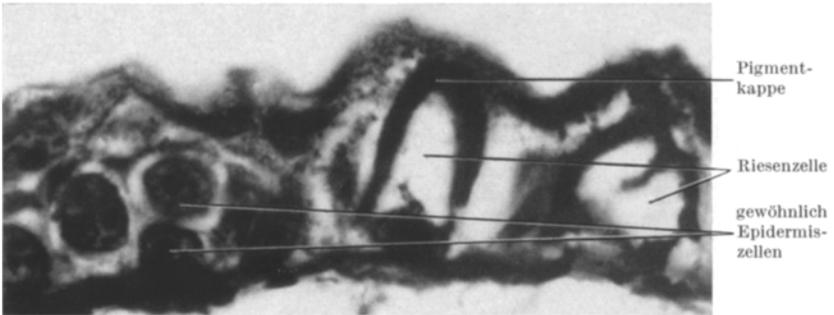


Abb. 4

Abb. 3. Epidermis einer Kaulquappe von *Bufo bufo*. Stadium 1. Bouin, Azan,  $5\ \mu$ ,  $1350\times$

Abb. 4. Epidermis einer Kaulquappe von *Bufo bufo*. Stadium 2. Bouin, HE,  $5\ \mu$ ,  $1350\times$

sind manchmal mit Granula gefüllt, wie bei Stadium 2. In der Nähe der Beinansatzstelle fehlen die großen Zellen (Abb. 2).

Die beschriebenen Zellen haben sicher unterschiedliche Funktion. Gemeinsam ist ihnen aber, daß sie den jungen Kaulquappen (Stadium 1) fehlen.

3. *Zellen der Epidermis, die bei allen Entwicklungsstadien gefunden wurden.* Bei allen Stadien von *Bufo bufo* (Abb. 3—6) und von *Bufo calamita* (Abb. 7) wurden besonders große Zellen gefunden, die ganz anders aussehen als die oben aufgeführten Zellen und allen untersuchten Nicht-Bufoniden fehlen. Von den gewöhnlichen Epidermiszellen weichen diese Zellen deutlich ab. Sie unterscheiden sich von den oben beschriebenen Zellen auch dadurch, daß sie nicht wie diese auf die jüngeren oder auf die älteren Kaulquappen beschränkt sind, sondern bei allen Entwicklungsstadien auftreten! In der Literatur konnte ich keinen Hinweis auf diese Zellen finden. Weil ihre Funktion unbekannt ist, bezeichne ich sie hier auf Grund ihrer Größe als „Riesenzellen“.

Die Riesenzellen sind in der Epidermis ziemlich gleichmäßig verteilt. Ihre Anzahl ist bei allen Stadien und bei den beiden untersuchten *Bufo*-Arten etwa gleich. Pro Querschnitt (Schnittdicke  $5\ \mu$ ) fand ich 20 bis 30 Stück. Sie reichen gewöhnlich bis dicht an die Epidermisoberfläche

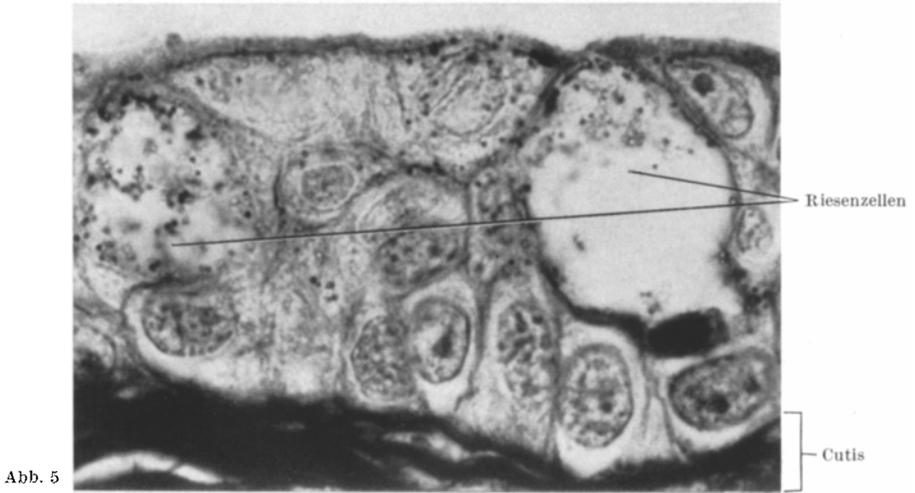


Abb. 5

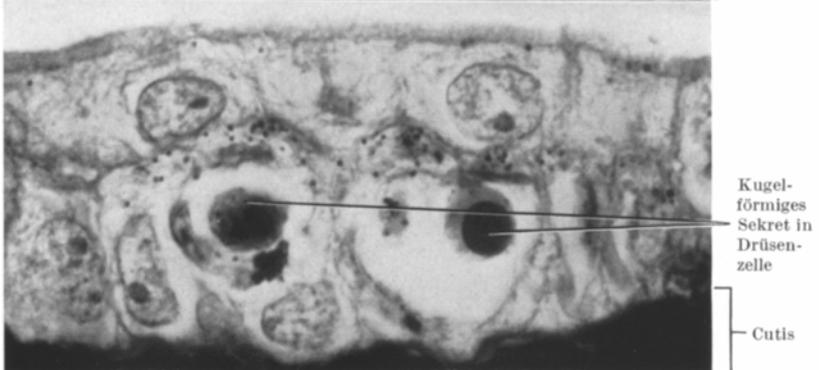


Abb. 6

Abb. 5. Epidermis einer Kaulquappe von *Bufo bufo*. Stadium 3. Bouin, Azan,  $5\ \mu$ ,  $1350\times$   
 Abb. 6. Epidermis einer Kaulquappe von *Bufo bufo*. Stadium 3. Bouin, Azan,  $5\ \mu$ ,  $1350\times$

heran (Abb. 4, 5). An manchen Stellen wird die Epidermis von einer Riesenzelle nach außen vorgewölbt (Abb. 7) und ist hier dicker als die benachbarten Stellen und distal besonders stark pigmentiert. Die Riesenzellen werden gewöhnlich distal von einer Pigmentkappe bedeckt (Abb. 4) oder rings von Pigmentgranula umrandet. Sie sind von unterschiedlicher Form: rundlich, oval oder birnenförmig. Ihr rundlicher oder abgeflachter Kern liegt basal oder lateral. Obwohl sie oft die Epidermis nach außen vorwölben, konnte eine Ausmündung nicht

nachgewiesen werden. Abgesehen vom Zellkern und den Pigmentgranula erscheinen sie gewöhnlich leer. Manchmal konnte ein ungeformtes, eosinophiles Sekret (?) beobachtet werden (Abb. 5, 7). Nirgends treten die Riesenzellen gehäuft auf. Nie wurden zwei Riesenzellen direkt aneinandergrenzend gefunden. Ihre Größe ist unterschiedlich und nimmt mit der Epidermisdicke, d.h. der Größe der Kaulquappe, zu. Eine typische Riesenzelle von *Bufo bufo* ist etwa  $20\ \mu$  hoch und bei Stadium 1  $12\ \mu$ , bei Stadium 2  $20\ \mu$  und bei Stadium 3  $28\ \mu$  breit. Übergangsstadien, welche die Entstehung der Riesenzellen erklären könnten, wur-

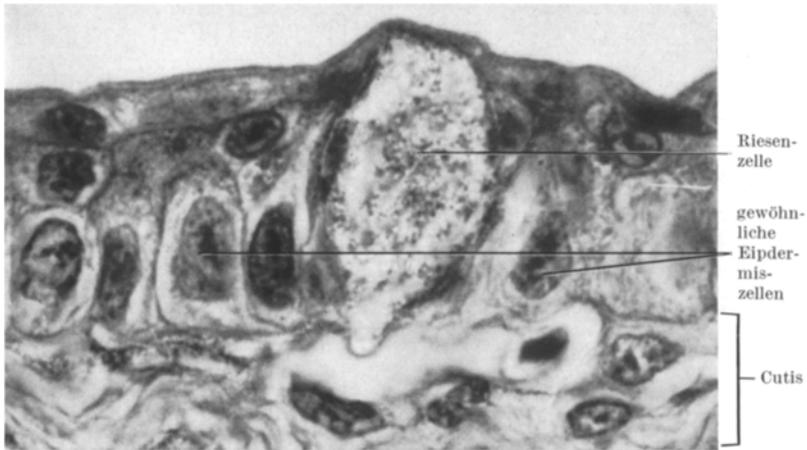


Abb. 7. Epidermis einer Kaulquappe von *Bufo calamita*. Stadium 3. Bouin, HE,  $5\ \mu$ ,  $1350\times$

den nicht gefunden. Bei den Riesenzellen handelt es sich wohl um Drüsenzellen, deren Inhalt vielfach durch die Behandlung (Fixierung) bereits herausgelöst worden ist. Auf Grund ihres Aussehens und ihrer Lage in der Epidermis können die Riesenzellen nicht mit den mehrzelligen Drüsen verwechselt werden.

Neben den Riesenzellen treten in der Epidermis von *Bufo bufo* Stadium 3, Zellen mit Sekretröpfchen auf, die sich bei Azanfärbung rot oder blau anfärben (Abb. 6). Solche Drüsenzellen wurden bei den jüngeren Stadien nicht gefunden. Vielleicht sind sie lediglich Riesenzellen, bei denen das Sekret nach der Fixierung erhalten blieb. Sicherlich handelt es sich bei ihnen um etwas anderes als bei den für Stadium 1 beschriebenen Zellen mit den ovalen „Dottergranula“.

#### D. Diskussion

Bei den bisher auf die Schreckreaktion hin untersuchten Kaulquappen aus fünf Familien ließen sich art- bzw. gattungs- oder familien-spezifische Unterschiede im Aufbau der Epidermis feststellen. Wie die

Verhaltensversuche zeigten, führen die Kaulquappen der bisher geprüften beiden Krötenarten *Bufo bufo* und *Bufo calamita* Schreckstoff in ihrer Haut. Dagegen fehlen Schreckreaktion und Schreckstoff den untersuchten Nicht-Bufoniden (Gattungen *Xenopus*, *Alytes*, *Bombina*, *Hyla*, *Rana*). Die Kaulquappen von *Bufo bufo* besitzen bereits Schreckstoff, wenn sie beginnen frei zu schwimmen, und auch die Haut metamorphosierender Kaulquappen enthält Schreckstoff (KULZER, 1954). Zellen, die für Schreckstoffzellen gehalten werden könnten, müßten demnach folgende Voraussetzungen erfüllen: sie müßten bei allen Entwicklungsstadien von *Bufo bufo* und *Bufo calamita* vorhanden sein. Dagegen wären bei allen Nicht-Bufoniden keine derartigen Zellen zu erwarten. Da die *Bufo*-Kaulquappen in ihrer Rücken- wie in ihrer Bauchhaut Schreckstoff enthalten, müßten Schreckstoffzellen über den Rücken und den Bauch verteilt sein. Da der Schreckstoff nur bei Hautverletzung frei wird und nicht aktiv ausgeschieden werden kann (KULZER, 1954), ist zu erwarten, daß die Schreckstoffzellen keine Ausmündung haben. Die mehrzelligen Drüsen kommen aus verschiedenen Gründen als Erzeuger des Schreckstoffes nicht in Betracht: sie münden nach außen, kommen bei allen geprüften Arten vor und treten immer erst während der Metamorphose auf. Dagegen erfüllen die für die *Bufo*-Kaulquappen beschriebenen Riesenzellen der Epidermis alle Voraussetzungen: sie kommen bei allen Entwicklungsstadien vor, fehlen den untersuchten Nicht-Bufoniden und haben keinen Ausführgang, so daß ihr Inhalt nur bei Hautverletzung frei werden kann. Bei den Riesenzellen handelt es sich wahrscheinlich um Drüsenzellen. Ähnliche Zellen wurden auch bei Kaulquappen von *Xenopus laevis* und *Rana temporaria* gefunden. Aber sie unterscheiden sich von den Riesenzellen der Bufoniden nicht nur durch ihre Form, Färbbarkeit, Lage, Häufigkeit, Position und Form des Zellkerns, sondern vor allem durch den Zeitpunkt ihres ersten Auftretens im Larvalleben. Während die Riesenzellen der Bufoniden bei allen Stadien etwa in gleicher Zahl vorhanden sind, fehlen den jungen Kaulquappen der Nicht-Bufoniden vergleichbare, nicht nach außen mündende Drüsenzellen.

Bemerkenswert sind ferner Lage, Häufigkeit und Auftreten der Riesenzellen während der Entwicklung und ihre Verteilung über die Körperoberfläche. Ein Vergleich der *Bufo*-Riesenzellen mit den Schreckstoffzellen der Ostariophysen erscheint lohnend.

Die Riesenzellen von *Bufo* reichen gewöhnlich bis dicht an die Epidermisoberfläche heran und ragen manchmal über sie hinaus. KULZER (1954) fand, daß die Berührung von Erdkrötenkaulquappen mit einem Netz genügt, damit Schreckstoff frei wird. Hierzu paßt das histologische Bild. Bei den Fischen liegen die Verhältnisse anders. Die Schreckstoffzellen der Ostariophysen erstrecken sich nie bis an die Epidermis-

oberfläche, sondern sind stets durch eine oder mehrere Zellagen von ihr getrennt und beschränken sich gewöhnlich auf die unteren zwei Drittel der Epidermis. Hiermit stimmt der Befund von v. FRISCH (1941) überein, daß bei Einwickeln einer Elritze in Filterpapier kein Schreckstoff frei wird.

Die Zahl der Riesenzellen war bei den verschiedenen Entwicklungsstadien etwa gleich, nämlich etwa 20—30 Stück pro Querschnitt (Schnittdicke 5  $\mu$ ). Bei dem größeren Umfang der älteren Kaulquappen bedeutet dies eine geringere Dichte von Zellen als bei den jüngeren Kaulquappen. Es konnten keine Übergangsformen zwischen den gewöhnlichen Epidermiszellen und den Riesenzellen gefunden werden. Es scheint, als wären bei den jungen Kaulquappen, sobald diese beginnen frei zu schwimmen, bereits alle Riesenzellen vorhanden. Auch die Größe der Riesenzellen nimmt mit dem Alter der Kaulquappen und mit der Epidermisdicke zu. Das gesamte Volumen aller Riesenzellen ist also bei älteren Kaulquappen größer. Die Zahl dieser Zellen liegt etwa zwischen 100 und 400 Stück pro  $\text{mm}^2$ . Sie ist also ähnlich oder etwas geringer als die für Schreckstoffzellen der Fische berechnete Zahl. Beim Karpfen wurden 400, bei anderen Cypriniden, mit einer besser ausgebildeten Schreckreaktion wie z. B. der Elritze, wurden etwa 1600 Schreckstoffzellen pro  $\text{mm}^2$  gefunden (PFEIFFER, 1963a).

Der Höhepunkt der Schreckreaktion liegt bei *Bufo bufo* kurz vor der Metamorphose (KULZER, 1954). Damit stimmt das größere Gesamtvolumen aller Riesenzellen überein, wenngleich ihre Zahl mit dem Alter anscheinend nicht zunimmt. Es wäre auch denkbar, daß die Ansprechbarkeit älterer Kaulquappen größer ist und dementsprechend bereits eine geringere Schreckstoffmenge genügt, um eine Reaktion auszulösen. Nach KULZER (1954) ist Rückenhaut etwa doppelt so wirksam, d. h. zweimal so schreckstoffreich wie Bauchhaut. Abgesehen davon, daß dieser Unterschied gering ist, sehe ich hierin keinen Widerspruch zu dem histologischen Befund, wonach in der Verteilung der Riesenzellen zwischen Bauch- und Rückenhaut kein auffallender Unterschied festgestellt wurde. Nach allen erwähnten Argumenten handelt es sich bei den Riesenzellen vermutlich um Schreckstoffzellen. Die Parallelerscheinung zu den ostariophysen Fischen ist auffällig. Der Beweis dafür, daß die Riesenzellen der Epidermis von Bufoniden tatsächlich Schreckstoffzellen sind, muß auf histochemischem Weg noch erbracht werden. Nach KULZER (1954) hat Bufotoxin bei *Bufo bufo* dieselbe Schreckwirkung wie der arteigene Schreckstoff. Es handelt sich also bei dem Schreckstoff der Erdkrötenkaulquappen möglicherweise um Bufotoxin oder um einen dieser Substanz ähnlichen Stoff. Es gilt zunächst histochemische Nachweise für derartige Substanzen zu finden. Nach HERTER (1941)

werden *Rana*-Larven von den meisten Aquarienfischen gierig genommen, *Bufo*-Larven werden von vielen abgelehnt oder zwar angenommen, aber bald wieder ausgespien. Hierin könnte man einen Hinweis sehen, daß *Bufo*-Kaulquappen Schutzstoffe gegen das Gefressenwerden besitzen. Da junge Kaulquappen keine mehrzelligen Drüsen besitzen, wäre es denkbar, daß die Schutzstoffe bestimmten Epidermiszellen entstammen und mit dem Schreckstoff identisch sind. Histochemische Untersuchungen sind notwendig, um die Herkunft des Schreckstoffes bei den Krötenkaulquappen aus bestimmten Epidermiszellen zu beweisen.

### Zusammenfassung

1. In mehr als 100 Versuchen an ebensovielen Versuchsgruppen wurden mehrere tausend Kaulquappen von acht verschiedenen Anurenarten aus fünf Familien auf die Schreckreaktion hin untersucht.

2. Die von Erdkrötenkaulquappen, *Bufo bufo*, bekannte Schreckreaktion wurde auch für die Kaulquappen der Kreuzkröte, *Bufo calamita*, nachgewiesen. Dagegen fehlt die Reaktion allen untersuchten Nicht-Bufoniden. Es wird vermutet, daß die Reaktion bei der Gattung *Bufo* oder bei der Familie Bufonidae allgemein verbreitet und auf diese systematische Einheit beschränkt ist.

3. Schreckstoff von Erdkrötenkaulquappen wirkt auch auf Kreuzkrötenkaulquappen. Desgleichen reagieren Erdkrötenkaulquappen auf Schreckstoff von Kreuzkrötenkaulquappen.

4. Die untersuchten Nicht-Bufoniden zeigen auf Schreckstoff von Krötenkaulquappen keine Reaktion. Desgleichen ist Hautextrakt von Nicht-Bufoniden-Kaulquappen bei Krötenkaulquappen wirkungslos. Den Nicht-Bufoniden fehlt also einerseits der Schreckstoff in der Haut, andererseits die Fähigkeit zur Reaktion.

5. Es wurde die Haut aller auf die Schreckreaktion hin geprüften Kaulquappenarten histologisch untersucht. Dabei zeigte sich, daß die beiden Krötenkaulquappen in der Epidermis große Zellen besitzen, die den Kaulquappen der Nicht-Bufoniden fehlen. In der Literatur konnten keine Hinweise auf diese Zellen gefunden werden. Auf Grund ihrer Größe und mit Rücksicht auf ihre noch nicht gesicherte Funktion wird für sie der Name „Riesenzellen“ vorgeschlagen.

6. Die Riesenzellen sind rundlich, oval oder birnenförmig. Ihr Kern liegt basal oder seitlich der Zellwand an. Sie sind etwa 20  $\mu$  hoch, 12 bis 28  $\mu$  breit und reichen bis dicht an die Epidermisoberfläche heran, ohne eine Ausmündung zu besitzen. Es handelt sich bei ihnen wahrscheinlich um Drüsenzellen. Sie sind über die Körperoberfläche ziemlich gleichmäßig verteilt. Pro mm<sup>2</sup> Haut finden sich etwa 100—400 Stück.

7. Auch bei älteren Kaulquappen von *Xenopus laevis* und *Rana temporaria* wurden große Zellen von unbekannter Funktion in der Epidermis gefunden. Es handelt sich wahrscheinlich um Schleim- und Drüsenzellen. Sie treten, im Gegensatz zu den Riesenzellen der Bufoniden, erst kurz vor der Metamorphose auf und fehlen den jungen Kaulquappen.

8. Mehrzellige Drüsen mit Ausführgang treten bei allen untersuchten Arten erst während der Metamorphose auf. Sie kommen deshalb als Erzeuger des Schreckstoffes nicht in Frage. Dagegen liegt die Annahme nahe, daß die Riesenzellen in der Epidermis der Bufoniden die Bildner des Schreckstoffes sind. Ob es sich bei ihnen tatsächlich um Schreckstoffzellen handelt, müssen histochemische Untersuchungen zeigen.

### Summary

1. The fright reaction of anuran tadpoles was studied in more than 100 experiments with as many different experimental groups belonging to 8 species and 5 different families.

2. The fright reaction, known from the tadpoles of the common toad *Bufo bufo*, was also found in the tadpoles of the natterjack toad *Bufo calamita*. However, no fright reaction was found in all anurans tested that did not belong to the family Bufonidae. It is suspected that the fright reaction commonly occurs in the genus *Bufo* or in the family Bufonidae and that it is confined to this systematic group.

3. The alarm substance from *Bufo bufo* was effective with *Bufo calamita*, and tadpoles of *Bufo bufo* responded to the alarm substance from *Bufo calamita*.

4. The nonbufonids (i.e. the anurans not belonging to the Bufonidae) studied did not respond to the alarm substance from Bufonidae tadpoles, and the Bufonidae tadpoles did not respond to skin extracts from nonbufonids. Thus the nonbufonids lack both the alarm substance in the skin and the ability to respond to the alarm substance.

5. The skin of all species tested with respect to their fright reaction was studied histologically and compared. It was found that the Bufonidae tadpoles have large cells in their epidermis that are absent in the skin of the nonbufonids. No comment on these cells could be found in the literature studied. In accordance with the size and uncertain function of these cells the name „Riesenzellen“ (giant-cells) was proposed.

6. The giant-cells are round, oval or pear-shaped. Their nucleus lies basally or laterally on the cell membrane. They are 20 microns long and 12 to 28 microns wide and extend to the surface of the epidermis

but have no opening there. It is probable that they are glandular cells. These giant-cells are distributed uniformly over the body surface with about 100 to 400 cells per sq.mm.

7. Large cells of unknown function were found in the epidermis of the older and larger tadpoles of *Xenopus laevis* and *Rana temporaria* as well. They are probably mucus and glandular cells, but in contrast to the giant-cells of the Bufonidae, they develop shortly before metamorphosis and are absent in the younger tadpoles.

8. Multicellular glands were found in all species studied. However, there are at least two reasons why they cannot be the producers of the alarm substance in the Bufonidae: a) the multicellular glands open to the surface of the epidermis, whereas the alarm substance is secreted only when the skin is damaged, as behavioral experiments have shown. b) The multicellular glands develop during metamorphosis and are absent in the young tadpoles, but these young tadpoles have the alarm substance as soon as they are free swimming. However, it is probable that the giant-cells of the Bufonidae produce the alarm substance because a) they are restricted to the systematic group that has the alarm substance, b) they do not open on the epidermal surface, and c) they are already present in the very young tadpoles. Histochemical tests will show whether the giant-cells are actually alarm substance cells.

### Literatur

- BIEDERMANN, W.: Vergleichende Physiologie des Integuments der Wirbeltiere. *Ergebn. Biol.* **6**, 427—558 (1930).
- EIBL-EIBESFELDT, I.: Über das Vorkommen von Schreckstoffen bei Erdkrötenkaulquappen. *Experientia* (Basel) **5**, 236 (1949).
- Die Verhaltensentwicklung des Krallenfrosches und des Scheibenzünglers unter besonderer Berücksichtigung der Beutefanghandlung. *Z. Tierpsychol.* **19**, 385—393 (1962).
- FRISCH, K. VON: Über einen Schreckstoff der Fischhaut und seine biologische Bedeutung. *Z. vergl. Physiol.* **29**, 46—145 (1941).
- HERTER, K.: Die Physiologie der Amphibien. In: KÜKENTHAL, Handbuch der Zoologie. Berlin: W. de Gruyter 1941.
- HRBACEK, I.: On the flight reaction of the tadpoles of the common toad caused by chemical substances. *Experientia* (Basel) **6**, 100—101 (1950).
- KULZER, E.: Untersuchungen über die Schreckreaktion bei Erdkrötenkaulquappen. *Z. vergl. Physiol.* **36**, 443—463 (1954).
- MAURER, F.: Grundzüge der vergleichenden Gewebelehre. Leipzig: E. Reinicke 1915.
- MERTENS, R., u. H. WERMUTH: Die Amphibien und Reptilien Europas. Frankfurt: W. Kramer 1960.
- MOORE, J. A.: Physiology of the amphibia. New York: Academic Press 1964.
- NOBLE, K. G.: The biology of the amphibia. New York: McGraw-Hill 1931.

- PFEIFFER, W.: Über die Schreckreaktion bei Fischen und die Herkunft des Schreckstoffes. *Z. vergl. Physiol.* **43**, 578—614 (1960).
- The fright reaction of fish. *Biol. Rev.* **37**, 495—511 (1962).
- The fright reaction in North American fish. *Canad. J. Zool.* **41**, 69—77 (1963a).
- Alarm substances. *Experientia (Basel)* **19**, 113—123 (1963b).
- Vergleichende Untersuchungen über die Schreckreaktion und den Schreckstoff der Ostariophysen. *Z. vergl. Physiol.* **47**, 111—147 (1963c).
- Die Schreckreaktion der Fische. *Umschau* **65**, 401—405 (1965).
- ROMEIS, B.: *Mikroskopische Technik*. München: R. Oldenbourg 1948.
- SCHUTZ, F.: Vergleichende Untersuchungen über die Schreckreaktion bei Fischen und deren Verbreitung. *Z. vergl. Physiol.* **38**, 84—135 (1956).

Dr. WOLFGANG PFEIFFER  
Zoophysiologisches Institut der Universität Tübingen  
74 Tübingen, Hölderlinstr. 12