

P. 99  
N° 3—5 B II

MARS—MAI

1935

BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE POLONAISE  
DES SCIENCES ET DES LETTRES

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES  
SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES (II)

CRACOVIE  
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ  
1935



rcin. 200pl

Publié, par l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, sous la direction de  
M. S. Maziarski, Secrétaire de la Classe des Sciences Mathématiques et Natu-  
relles (Cracovie, Institut d'Histologie de l'Université, rue Wielopole 15).

---

Cette publication est subventionnée par le Fonds Tyszkowski, administré  
par l'Académie.

Nakładem Polskiej Akademji Umiejętności.  
Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem Józefa Filipowskiego.

*Wpływ zmian środowiska na rozwój jaj Bothriocephalus scorpii (Müller 1776). — Einfluß der Milieuveränderungen auf die Entwicklung der Eier von Bothriocephalus scorpii (Müller 1776).*

Mémoire

de M. **ST. MARKOWSKI**,

présenté le 1 avril 1935, par M. J. Tur m. c.

Während meiner Untersuchungen der Fischparasiten in den polnischen Küstengewässern der Ostsee fiel mir auf, daß einige aus Süßwasserfischen bekannte Bandwürmer auch Seefische infizierten. Es gelang mir dagegen niemals die aus Seefischen stammenden Bandwürmer bei Süßwasserfischen zu notieren. Ein Vergleich der Angaben anderer Autoren belehrte mich, daß viele parasitische Würmer, welche in Fischen der Nordsee weit verbreitet sind, bei denselben Wirten in der Ostsee nicht auftreten. Die Vermutung liegt nahe, daß die freischwimmenden Larven der meisten in Meereswirten lebenden Parasiten im Brackwasser der Ostsee nicht leben können. Der einzige Bandwurm, welcher aus anderen Meeren mit vollem Salzgehalt (35<sup>0</sup>/<sub>00</sub>) notiert wurde, und gleichfalls in der Ostsee auftritt (nämlich bei *Rhombus maximus*, *Pleuronectes flesus*, *Cottus scorpius*) ist *Bothriocephalus scorpii*. Die aus dem Ei ausgeschlüpfte, freischwimmende Larve dieses Bandwurmes lebt einige Zeit unmittelbar im Wasser. Die große geographische Verbreitung des Schmarotzers dürfte darauf deuten, daß das aus dem Ei geschlüpfte Coracidium gegen den nahezu fünffachen Unterschied des Salzgehaltes im Wasser (Ost- und Nordsee) unempfindlich ist. Demnach dürfte das Coracidium von *Bothriocephalus scorpii* als eine mit euryhalinischen Eigenschaften ausgestattete Larve betrachtet werden.

Nachdem meine Untersuchungen über den Entwicklungszyklus von *Bothriocephalus scorpii* beendet waren, habe ich weitere Forschungen über die Biologie desselben Bandwurmes angestellt. Es galt die Feststellung, ob sich die Eier des Parasiten im Süßwasser entwickeln können, und welche Salzgehalte die Entwicklung dieses Wurmes ermöglichen.

Im Zusammenhang mit den schon oben erwähnten Tatsachen des Überganges einiger *Pseudophyllidea* von Süßwasserfischen in Meeresfische und angesichts der Tatsache, daß dies der einzige Bandwurm ist, der in den Fischen der Ostsee ebenso wie in denjenigen aus Meeren mit vollem Salzgehalt auftritt, drängte sich mir der Verdacht auf, daß sich die Eier von *Bothriocephalus scorpii* vielleicht im Süßwasser entwickeln könnten. Dieser Verdacht war umso stärker, weil einer der Wirtsfische dieses Bandwurmes, nämlich *Pleuronectes flesus*, in die Süßgewässer eintritt. Es könnte also vorkommen, daß die ins Süßwasser eingeschleppten Eier des Bandwurmes hier günstige Bedingungen zur Entwicklung vorfinden und die ausgeschlüpften Coracidia auf einen entsprechenden Zwischenwirt treffen. Wie wir jedoch im Laufe der Arbeit feststellen konnten, bedürfen die Eier von *Bothriocephalus scorpii* zur Entwicklung eines gewissen Minimums an Salzgehalt im Wasser.

Um die Grenzen des Salzgehaltes zu bestimmen, in welchen sich die Eier dieses Bandwurmes entwickeln und aus ihnen freischwimmende Larven schlüpfen können, habe ich eine Anzahl von Experimenten durchgeführt. Diese Experimente bestanden darin, daß ich Eier von *Bothriocephalus scorpii* im Wasser mit verschiedenen Salzgehaltkonzentrationen kultivierte. Außerdem berücksichtigte ich noch zwei weitere Faktoren, nämlich Licht und Temperatur, welche ebenfalls einen Einfluß auf die Entwicklungsprozesse ausüben konnten.

Alle Konzentrationen erhielt ich aus Meerwasser, welches von der Oberfläche der Ostsee genommen wurde. Dieses Wasser mit 70/00 Salzgehalt wurde filtriert und nachher im Wasserbad abgedampft, ohne dabei zum Sieden gebracht zu werden. Auf diese Weise wurde eine Lösung mit zehnfacher Konzentration, also mit 700/00 Salzgehalt hergestellt. Durch entsprechendes Verdünnen von 700/00 auf 70/00 Salzgehalt erhielt ich eine ganze Reihe von Lösungen mit sinkenden Salzgehalten.

Indem ich das baltische Wasser (7‰) mittels derselben Methode auf 0‰ also zu süßem oder destilliertem <sup>1)</sup> Wasser verdünnte, erhielt ich wiederum eine Reihe von Flüssigkeiten mit einem sehr kleinen Salzgehalt.

In gleiche Gefäße von 6 cm Durchmesser wurden je 15 cm<sup>3</sup> von jeder Lösung gegossen. Neben diesen Gefäßen befand sich stets ein Kontrollgefäß mit natürlichem, baltischem Wasser (7‰). Alle Gefäße waren mit Glasplättchen zugedeckt, um eine Veränderung der Konzentration durch Abdampfen der Flüssigkeit zu verhindern. In jedes Gefäß wurden mittels einer Kapillarpipette Eier von *Bothriocephalus scorpii* <sup>2)</sup> eingeführt.

Mittels täglicher Beobachtungen der Kulturen und Berechnungen der ausgeschlüpften Larven, welche sich im Gesichtsfeld auf dem gegebenen Abschnitte des Gefäßbodens befanden, wurde der Fortschritt der Entwicklung der Eier festgestellt und der Prozentsatz der täglich ausschlüpfenden Larven bestimmt. In jeder Kultur wurden täglich die ausgeschlüpften Larven berechnet bis zum Augenblick, wo der Prozeß des Ausschlüpfens schließlich zum Stillstand kam. Auf diese Weise wurde das Minimum und das Maximum sowie der tägliche Prozentanwuchs der ausgeschlüpften Larven festgestellt (Tab. I).

Mittels einer Anzahl von Experimenten mit natürlichem baltischem Wasser (7‰) bei 15—20 C° wurde festgestellt, daß normalerweise die Entwicklung innerhalb 5 Tagen verläuft und nach Ablauf dieser Zeit aus dem Ei das Coracidium ausschlüpft. Das Ausschlüpfen aller Larven in der Kultur dauert 12 Tage.

Zuerst wurde die Wirkung von Lösungen mit sehr kleinen Salzgehalten, von 0‰ an, geprüft. Dabei wurde festgestellt, daß im destillierten und süßen Wasser und sogar in 0.35‰ die Entwicklung der Eier überhaupt nicht stattfindet. Die Wirkung des süßen und destillierten Wassers ist eine so negative, daß die in ihm eine zeitlang gehaltenen und später in Meerwasser mit 7‰ Salzgehalt übertragenen Eier die Fähigkeit zur weiteren Entwicklung verlieren.

<sup>1)</sup> Experimente mit destilliertem Wasser wurden durchgeführt, um die Einwirkung eines künstlichen, von jeglichen Salzen freien Milieus auf die Entwicklung der Eier zu prüfen.

<sup>2)</sup> Die zu den Experimenten benutzten Eier stammten von Bandwürmern aus dem Darm von *Rhombus maximus*.



leblos fand. Auch dauert der Prozeß der Embryonalentwicklung vom Ei bis zum Coracidium bedeutend länger.

Im Vergleich mit dem baltischen Wasser von 7‰ Salzgehalt dauert die Embryonalentwicklung in den oben angeführten niedrigen Konzentrationen viel länger (Tab. II). Erst von 2·45‰ und 3·5‰ an beginnt die Entwicklung normal zu verlaufen. In diesen Konzentrationen ist sie jedoch um 3 Tage verspätet,

TABELLE II.

Salzgehalt in ‰	Embryonalent- wicklungszeit, Tage	Maximum der am ersten Tage ausgeschlüpften Larven in ‰	Maximum der ausgeschlüpften Larven in der ganzen Kultur in ‰	Dauer der Kul- tur vom Aus- schlüpfen der Larven ange- fangen. Tage	Durchschnittli- che Temperatur in °C	Monat
0	—	—	—	—	18	IX
0·35	—	—	—	—	16	II, III
0·70	24	2	7	3	16	II, III
1·05	21	2	13	9	12	II, III
1·4	17	3	34	12	13	II, III, IX
1·75	8	2	79	6	13	IX
2·33	8	4	93	6	16	IX
2·45	9	8	66	16	16	II, III
3·5	7	7	65	12	16	II, III
4·66	5	2	100	7	16	IX
5·25	5	4	100	10	15·5	IX
5·6	5	2	100	11	15·5	IX
7·0	5	6	100	11	15—20	IX
8·75	5	5	100	8	15·5	IX
11·7	5	5	100	7	15·5	IX
17·5	5	21	100	7	15·5	IX
23·4	5	19	100	5	15·5	IX
26·25	5	7	100	5	15·5	IX
28·0	5	88	100	6	15·5	IX
35·0	7	13	100	8	15	IX
36·4	19	3	42	12	10	II, III
39·2	18	2	66	14	12	II, III
42·0	18	2	59	14	12	II, III
46·66	13	2	10	3	13	IX

auch ist das Maximalprozent der ausgeschlüpften Larven in der ganzen Kultur ein kleineres.

In den weiteren Lösungen ( $4.66\text{‰}$ — $35\text{‰}$ ) schlüpfen ca  $100\%$  der Larven aus und die Dauer der Embryonalentwicklung beträgt 5 Tage. Dies ist der normale Verlauf, den ich schon vorher beschrieben habe. In höheren Konzentrationen, von  $35\text{‰}$  an, beginnen die Eischalen sich zu deformieren und weisen Konkavitäten auf. Diese Erscheinung scheint aber keinen negativen Einfluß auf die weitere Entwicklung des Eies zu haben, da sich bei  $35\text{‰}$  Salzgehalt ein  $100\%$  Ausschlüpfen der Larven beobachten ließ (Tab. I).

Bei Salzgehalten über  $35\text{‰}$  können wir eine ähnliche Erscheinung, wie in den vorher besprochenen niedrigen Konzentrationen feststellen: nämlich eine länger andauernde Embryonalentwicklung sowie eine nahezu um die Hälfte verminderte Fähigkeit des Ausschlüpfens der Larven. Nachdem sich der Eideckel geöffnet hat, wird die Larve bis zur Hälfte durch die Öffnung hinausgepreßt, kann aber ihre Eischale nicht völlig verlassen und schwimmt in diesem Zustande umher. Nur wenige Individuen sind im Stande sich von ihrer Eischale zu befreien.

Demnach ist die Wirkung hoher Konzentrationen eine ganz andere als diejenige niedriger Konzentrationen, da in den letzteren die Larve ihre Eischale verläßt und erst bei deren Mündung infolge der Berührung mit dem äußerem Milieu zu Grunde geht. In großen Salzgehalten dagegen können sich die Larven von ihren Eischalen nicht befreien, sie werden nur bis zur Hälfte hinausgepreßt und vergehen fast alle in diesem Zustande. Die Maximalgrenze, welche die Entwicklung der Eier zuläßt, beträgt, soweit ich feststellen konnte,  $46.66\text{‰}$ . In höheren Konzentrationen<sup>1)</sup> findet die Entwicklung überhaupt nicht statt.

Die Grenzen der Salzgehalte, in welchen die Entwicklung der Eier möglich ist, wären demnach sehr groß, und betragen  $0.7\text{‰}$  bis  $46.66\text{‰}$ .

Bei der täglichen Berechnung des Prozentsatzes der ausschlüpfenden Larven (Tab. I) ließ sich feststellen, daß in den niedrigen Konzentrationen ebenso wie in denen, welche  $35\text{‰}$  überschreiten, das Ausschlüpfen der Eier einen viel weniger intensiven Charakter trägt. Das Prozent der täglich ausschlüpfenden Larven ist

<sup>1)</sup>  $47.6\text{‰}$ ,  $50.0\text{‰}$ ,  $50.4\text{‰}$ ,  $52.5\text{‰}$ ,  $53.0\text{‰}$ ,  $56.0\text{‰}$ ,  $70.0\text{‰}$ .

nämlich ein viel kleineres, als in den Lösungen von 4.66<sup>0</sup>/<sub>100</sub> bis 35<sup>0</sup>/<sub>100</sub>. Das Maximum der ausgeschlüpften Larven der ganzen Kultur weist im Vergleiche mit den oben genannten Konzentrationen ebenfalls eine bedeutende Verminderung auf. Deswegen darf man auch wohl den Salzgehalt von 4.66<sup>0</sup>/<sub>100</sub> bis 35<sup>0</sup>/<sub>100</sub> als den optimalen betrachten. Die extremen Salzgehalte (0.7<sup>0</sup>/<sub>100</sub> und 46.66<sup>0</sup>/<sub>100</sub>) wirken in nahezu analoger Weise auf die Lebensdauer der ganzen Kultur (2 Tage) sowie auf die Zahl der ausgeschlüpften Larven (Tab. I). Wie aus meinen Untersuchungen hervorgeht, üben die Lösungen mit Salzgehalten von 0.7<sup>0</sup>/<sub>100</sub> bis 3.5<sup>0</sup>/<sub>100</sub> inklusive und von 36.4<sup>0</sup>/<sub>100</sub> bis 46.66<sup>0</sup>/<sub>100</sub> eine ähnliche Wirkung auf die Entwicklung der Eier von *Bothriocephalus scorpii* aus. Die Zahl der täglich ausschlüpfenden Larven ist fast die gleiche wie auch das Maximum der ausgeschlüpften Larven in der ganzen Kultur. Man darf annehmen, daß Lösungen in den Grenzen von 0.7<sup>0</sup>/<sub>100</sub> bis 4.66<sup>0</sup>/<sub>100</sub> und von 39<sup>0</sup>/<sub>100</sub> bis 46.66<sup>0</sup>/<sub>100</sub> die pessimalen sind. Auf Grund unserer Beobachtungen läßt sich ebenfalls feststellen, daß die Grenzen des Salzgehaltes, welche die Entwicklung der Eier ermöglichen, zwischen 0.7<sup>0</sup>/<sub>100</sub> und 46.66<sup>0</sup>/<sub>100</sub> liegen, dagegen der Salzgehalt, in welchem die freischwimmende Larve zu existieren vermag, 1.75<sup>0</sup>/<sub>100</sub> bis 42<sup>0</sup>/<sub>100</sub> beträgt. In diesen letzten Konzentrationen beträgt die Lebensdauer des Coracidiums 2 bis 3 Tage. Unter diesen Umständen kann die Larve mit Leichtigkeit einen entsprechenden Zwischenwirt infizieren.

Die Temperatur des Wassers sowie das Licht üben gleichfalls einen bedeutenden Einfluß auf die Entwicklung der Eier von *Bothriocephalus scorpii* aus. Ich hatte nicht die Möglichkeit die Wirkung dieser zwei Faktoren bei den Eikulturen in allen erwähnten Konzentrationen nachzuprüfen und mußte mich auf Untersuchungen der im natürlichen Milieu, also im baltischen Wasser (7<sup>0</sup>/<sub>100</sub>) kultivierten Eier beschränken.

Die normale Embryonalentwicklung des Eies bis zum Ausschlüpfen des Coracidiums dauert, wie gesagt, ca 5 Tage. In niedriger Temperatur (5° C) geht die Entwicklung bedeutend langsamer vor sich und dauert 30—32 Tage. Wie wir aus Tabelle I ersehen, trägt das Ausschlüpfen der Larven in einer Temperatur von 15—20° C einen massenhaften Charakter. Am zweiten oder am dritten Tage verlassen fast alle Larven ihre Eischalen. In niedriger Temperatur dagegen schlüpfen am ersten Tage kaum

einige Larven aus. Dieselbe Erscheinung beobachten wir auch in den nächsten Tagen. Der tägliche Prozentanwuchs der ausgeschlüpften Larven ist ein sehr langsamer. Der ganze Entwicklungsvorgang verläuft auf ähnliche Weise wie in der Lösung von 1·4‰ (Tab. I) jedoch mit dem Unterschiede, daß fast alle Larven der Kultur ausschlüpfen.

Die Eier von *Bothriocephalus scorpii* ertragen sogar eine Temperatur unterhalb 0°. Aus Eiern, welche 4 Stunden lang in —1·5° C gehalten und nachher in natürliches baltisches Wasser (7‰, 20° C) übertragen wurden, begannen nach 6 Tagen die Larven auszuschlüpfen. Die Entwicklung verlief genau so wie in der Konzentration 7‰ (Tab. I).

Vogel 1929 untersuchte den Einfluß von Dunkelheit auf die Entwicklung der Eier von *Diphyllobothrium latum*. Dieser Autor hat festgestellt, daß sich die im Dunkeln gehaltenen Eier normal entwickeln, aber nicht ausschlüpfen. Zum Ausschlüpfen des Coracidiums ist das Licht unentbehrlich. Bei Eiern von *D. latum*, welche aus der Dunkelheit ans Licht gebracht wurden, setzte sofort ein massenhaftes Ausschlüpfen der Larven ein. Ein ähnlicher aber nicht so deutlicher Einfluß des Lichtes läßt sich auch beim Ei von *Bothriocephalus scorpii* feststellen. Ich hielt ein Gefäß mit Eiern im Dunkeln, ein anderes unter Lichteinwirkung. Beide Experimente wurden im natürlichem Wasser von 7‰ Salzgehalt bei einer Temperatur von 20° C durchgeführt. Die Entwicklung verlief in beiden Gefäßen gleich, d. h. nach 5 Tagen bemerkte ich in dem einem ebenso wie in dem zweiten freischwimmende Larven. Jedoch im Gefäß, welches der Einwirkung des Lichtes ausgesetzt war, habe ich am zweiten Tage nach dem Ausschlüpfen der Larven 75% offener Eischalen festgestellt, dagegen in demjenigen, welches der Dunkelheit ausgesetzt war, nur 4%. Die Einwirkung der Dunkelheit machte sich auch im verlangsamten Tempo des Ausschlüpfens der gesamten Kultur bemerkbar. Die Entwicklung verlief noch langsamer als in der Konzentration 1·4‰ und wies ein kleineres tägliches Prozent der ausgeschlüpften Larven auf.

Vogel 1929 hat auch den Einfluß des Druckes der Wassersäule auf die Eier von *D. latum* untersucht. Aus seinen Experimenten ging hervor, daß aus Eiern, welche in einer 1 cm tiefen Wasserschicht kultiviert waren, die Larven schneller ausschlüpfen, als aus solchen, die in einer Tiefe von 15 cm aufbewahrt wurden.

Dieser Autor hat ebenfalls festgestellt, daß die Larven aus den Eiern dieses Bandwurmes massenhaft ausschlüpfen, wenn sie aus einem tieferen in ein flaches Gefäß gebracht wurden.

Aus meinen Beobachtungen, welche sich mir gelegentlich des Anlegens der Kulturen aufdrängten, würde sich ergeben, daß die Eier von *Bothriocephalus scorpii* gegen den Druck der Wassersäule weniger empfindlich sind als die Eier von *D. latum*. Übrigens besteht zwischen *Bothriocephalus scorpii* und *Diphyllobothrium latum* ein wesentlicher biologischer Unterschied. Die Eier von *D. latum* werden im Kote des Menschen oder des Hundes entfernt und gelangen erst nachher, auf diese oder jene Weise in größere Wasserbehälter, nicht immer in große Tiefen. Im Gegensatz dazu werden die Eier von *Bothriocephalus scorpii* im Fischkote immer direkt ins Meerwasser und dazu in verhältnismäßig größere Tiefen (40—60 m.) abgelagert. Die Eier dieses Bandwurmes, welche ich unter dem Drucke einer 1 cm bis 10 cm hohen Wassersäule kultivierte, wiesen keine Unterschiede im Tempo der Embryonalentwicklung auf. Es wäre aber noch zu untersuchen, ob nicht der Sauerstoffgehalt, und nicht der mechanische Druck, für die Resultate Vogels verantwortlich sei.

In kurzer Zusammenfassung der im Laboratorium festgestellten und in vorliegender Arbeit angegebenen Tatsachen wäre folgendes zu sagen:

Die Eier von *Bothriocephalus scorpii* sind gegen große Schwankungen des Salzgehaltes nicht empfindlich. Nur extreme Salzgehalte sowie niedrige Temperaturen verlängern bedeutend die Embryonalentwicklung des Eies. Der Mangel an Licht hat ebenfalls einige Bedeutung, da er die Intensität des Ausschlüpfens der Larven vermindert.

In den polnischen Küstengewässern der Ostsee, also im natürlichen Milieu, verläuft die Entwicklung wahrscheinlich viel langsamer als im Laboratorium. Verschiedene Ursachen tragen dazu bei, vor allem die Temperatur, welche in der Schicht von 40 m nur in den Sommermonaten (Juni—Oktober) bis 16° C steigt. Die übrigen Monate bringen einen bedeutenden Fall der Temperatur bis —0.1° C (Demel 1930). Der Salzgehalt spielt hier wahrscheinlich keine Rolle, da das Wasser in der Tiefe von 40 m ebenso wie von 0 m denselben Salzgehalt (ca 7‰) mit Schwankungen in den Zehnteln und Hundertsteln von ‰ besitzt. In der

Tiefe von 40 m dürfte ebenfalls die ungenügende Beleuchtung einen den rascheren Entwicklungsverlauf hemmenden Faktor bilden. In den Sommermonaten wäre demnach ein rascheres Ausschlüpfen der Larven zu erwarten. Möglicherweise wirkt hier auch der Sauerstoffgehalt des Wassers.

Die obige Arbeit wurde durch ein Subsidium seitens des Fundusz Kultury Narodowej (Nationalkulturfonds) ermöglicht und während meines Aufenthaltes in Hel ausgeführt. Dem Leiter der Meeresversuchsstation in Hel (Stacja Morska Hel), Herrn Doz. Dr. M. Bogucki und Herrn K. Demel spreche ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus für die Freundlichkeit, welche sie mir entgegenbrachten.

Zoologisches Institut der Universität Warszawa und Meeresversuchsstation Hel.

### Literaturverzeichnis.

- 1) Borowik J. 1930. Salinity variations in the Gulf of Dantzig. III Hydrological Conference of the Baltic States. — 2) Demel K. 1930. Z pomiarów termicznych Bałtyku. Cz. II. Kosmos, vol. 55, zeszyt 1—2, Ser. A. Rozprawy. — 3) Markowski St. 1933. Die Eingeweidewürmer der Fische des polnischen Balticums. Arch. Hydrob. i Ryb. vol. VII. — 4) Markowski St. 1935. Über den Entwicklungszyklus von *Bothriocephalus scorpii* (Müller 1776). Bull. Int. de l'Acad. Polon. des Sc. et des Lettres, Classe de Sc. Math. et Nat. Sér. B: Sciences Naturelles (II). N 1—2 B II. — 5) Schnakenbeck W. 1929. *Heterosomata*. Tierwelt d. N. u. Ostsee. — 6) Vogel H. 1929. Studien zur Entwicklung von *Diphyllobothrium*. I Teil. Zeitschr. Paras. Bd. II. H. 2.

*Studja nad zachowaniem się rozwielitki **Daphnia pulex** de Geer w płynach o różnem stężeniu jonów wodorowych. Studien über das Verhalten des Wasserflohes **Daphnia pulex** de Geer in Zuchtlösungen von verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen.*

Mémoire

de M. K. PASSOWICZ,

présenté le 1 avril 1935, par M. M. Siedlecki m. t.

**Einleitung.**

Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf Lebewesen des Wassers ist in jeder Hinsicht ein wichtiges und ungemein interessantes Problem. Die Reaktion des Mediums beeinflusst, bestimmt und entscheidet nicht selten die biologischen und morphologischen Erscheinungen nicht nur der einzelnen Tiere, sondern auch der Lebensgemeinschaften, wie auch schließlich der ganzen Biozönose. Man nimmt an, daß die H<sup>+</sup>-Konzentration der Gewässer von der geologischen und geographischen Lage des Wasserbeckens, von den in ihm stattfindenden biologischen Prozessen und besonders von seinem Chemismus abhängt. Diese H<sup>+</sup>-Konzentration bestimmt nicht selten das Auftreten gewisser Organismen, schließt ihr Auftreten ganz aus, oder begrenzt ihr Erscheinen, bestimmt ferner die qualitative und quantitative Zusammensetzung der tierischen und pflanzlichen Lebensgemeinschaften, schließlich entscheidet sie den Charakter der ganzen Biozönose. Den Einfluß von pH und seine Bedeutung für die Hydrobiologie bestimmt man sowohl durch direkte Freilandsversuche als auch durch Versuche im Laboratorium. Die Laboratoriumsversuche sind von nicht geringerer Bedeutung als die Freilandsversuche und umfassen heute schon zahlreiche Tier- und Pflanzengruppen. Sie betreffen

die verschiedenartigsten Erscheinungen und biologischen Probleme, die mittels abweichender Methoden und Beobachtungen untersucht wurden. In Bezug auf ihre Methodik lassen sie sich jedoch in zwei Hauptgruppen zusammenfassen:

a) Versuche, die sich mit den ausgesprochen äußersten Wasserstoffionenkonzentrationen befassen,

b) Versuche in Bedingungen, deren  $H^+$ -Konzentration ungefähr den normalen Lebensbedingungen der untersuchten Tiere entspricht.

Diese letzteren können bei entsprechender Methode zur Analyse der Einwirkung vom pH auf unmittelbare und zweckmäßige Weise beitragen. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf Wasserflöhe (*Cladocera*) wurde von vielen Autoren untersucht, sowohl durch unmittelbare Beobachtungen in der freien Natur, als auch durch Laboratoriumsversuche. Was die letzteren Versuche anbelangt, so müssen folgende Arbeiten angeführt werden: A. Tauson (1924, 1925, 1931, 1932), K. M. Ström (1926), D. L. Rubinstein (1927) und Van Herverden (1928). Herverden untersuchte den Einfluß verschiedener Säuren und anderer chemischer Verbindungen auf das Sarkoplasma der Muskeln von lebenden Wasserflöhen *Daphnia pulex*. Die Arbeit Herverdens besitzt einen anderen Charakter als die erwähnten Arbeiten der übrigen Verfasser, die hauptsächlich das Problem der Lebensfähigkeit der Cladoceren behandeln. Tauson (1924 u. 1925) und Rubinstein (1927) wirkten auf die von ihnen untersuchten Wasserflöhe (*Daphnia pulex*, *Simocephalus expinosus*, *Bosmina longispina*, *Daphnia longispina*, *Ceriodaphnia laticaudata*, *Scapholeberis mucronata*, *Chydorus sphaericus*, *Acroperus harpae*, *Alonella nana*, *Chydorus ovalis*) mit erhöhter Wasserstoffionenkonzentration ein bei gleichzeitiger Einwirkung verschiedenartiger Salze. Tauson führt in ihrer Arbeit (1932) die Ergebnisse ihrer Untersuchungen über die Lebensfähigkeit und morphologische Änderungen bei *Holopedium gibberum* in Abhängigkeit vom pH-Wert des Mediums und dessen chemischer Zusammensetzung an. Einen genauen Charakter von Zuchtversuchen haben die Experimente von Ström (1926) und Tauson (1931), die Untersuchungen über den Wasserfloh *Daphnia pulex* betreffen. Ström behandelt in seiner Arbeit die Fragen der Lebensfähigkeit von *Daphnia pulex*, Tauson (1931) behandelt sowohl die Lebensfähigkeit als auch den Einfluß der

Wasserstoffionenkonzentration auf das Auftreten der Geschlechts-generation dieser Tiere.

Die Ergebnisse der Versuche beider Autoren stimmen nicht miteinander überein. Die Unstimmigkeit der Resultate von Tauson und Ström beruht darauf, daß nach Tauson die Grenzen der Lebensfähigkeit für *Daphnia pulex* im Falle einer Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration bei der Konzentration liegen, die als pH 5.80 bezeichnet werden kann. Aus den Versuchen Ströms geht hervor, daß sich völlig ungünstige Bedingungen für das Leben von *Daphnia pulex* bei der Wasserstoffionenkonzentration befinden, die durch den pH-Wert 6.5 bezeichnet werden kann.

Tauson benutzte als Ansäuerungsmittel HCl, Ström saures Natriumphosphat. In den Versuchen verwandten Tauson und Ström gewöhnliches Wasser als Zuchtmedium.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung des pH-Einflusses auf die Lebens- und Anpassungsfähigkeit des *Daphnia pulex*, was auch Gelegenheit gab, meine Ergebnisse mit den Resultaten der Arbeiten früherer Autoren zu vergleichen.

#### Material und Methode.

Die Versuche wurden zweimal durchgeführt, d. h. die Ergebnisse der im Juni 1934 zum ersten Mal durchgeführten Versuche wurden durch die im September 1934 unter denselben Bedingungen durchgeführten Kontrollversuche ergänzt.

Das Material, das zu den Experimenten benutzt wurde, stammte aus einem Teich bei Bonarka, aus der Umgebung von Kraków. Die Tiere wurden, bevor sie zu den Versuchen verwandt wurden, längere Zeit in einem Aquarium gehalten. Es waren nur parthenogenetische Individuen vertreten. Der pH-Wert des Aquariumwassers betrug 7.5. Die Tiere zeigten durchaus keine Unregelmäßigkeiten in ihrer äußeren Struktur. Später zeigte es sich jedoch, daß eine gewisse Anzahl der Eier bei allen Tieren degenerierte. Leider wurde dies erst während der Versuche bemerkt. Diese Tatsache gab hauptsächlich die Veranlassung zu einer Wiederholung der Versuche, die im September gemacht wurden.

Bei der Wiederholung wurde Material aus demselben Teich wieder verwandt. Die Tiere wurden in ein kleines Aquarium gesetzt, das Wasser aus demselben Teich enthielt. Beschädigte und

schwache Tiere gingen nach einigen Tagen zugrunde, von den übrig gebliebenen sonderte ich mehrere zehner aus, die sich schnell auf parthenogenetische Weise vermehrten. Nahrung wurde nicht geboten, der pH-Wert des Wassers betrug bei den Versuchen 7.6. Die Tiere zeigten keinerlei Abnormitäten, weder in Bezug auf die Entwicklung, noch auf die Struktur. Es waren nur parthenogenetische Weibchen vorhanden, Männchen wurden nicht bemerkt. Der Darm war mit einer gelbgrünlichen Masse angefüllt.

Als Zuchtmedium wurde eine synthetische Lösung von folgender Zusammensetzung benutzt.

CaCl <sub>2</sub>	—	0.33	g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	—	0.1	»
NaCl	—	0.08	»
KCl	—	0.00175	»
Fe <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub>	—	Spuren	

auf 1 Liter aqua bidestillata.

Die Zusammensetzung des Mediums und seine schließliche Herstellung kostete mich viele Versuche. Die günstige Lösung dieser äußerst wichtigen Aufgabe verdanke ich auch den wertvollen Ratschlägen des Herrn Dozenten Dr. Ramult, dem ich dafür an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank ausspreche. Das Zuchtmedium erwies sich bei seiner Verwendung als sehr gut. Auf Grund genauer Beobachtungen konnte festgestellt werden, daß es eine normale parthenogenetische Vermehrung der Population von *Daphnia pulex*, die aus einem Winterei stammte, 7 Monate hindurch gewährleistete.

Die Zuchtlösung hatte bei einer Temperatur von 17—22° C den pH-Wert 5.3—5.4. Um einen leichtalkalischen pH-Wert zu erzielen, wurde Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> »pro analysi« in 1/100 n. Lösung zugefügt, indem zu 100 cm<sup>3</sup> Zuchtlösung allmählich alle paar Stunden Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung hinzugegossen wurde, bis der pH-Wert eine Höhe von 7.3 erreichte. Der auf diese Weise erzielte pH-Wert änderte sich gewöhnlich sehr selten und zeigte nur geringe Schwankungen.

In der so hergestellten Zuchtlösung züchtete ich die oben erwähnte Population 7 Monate hindurch.

Eine synthetische Zuchtlösung wurde aus dem Grunde verwandt, da nur eine Lösung von neutralen Elektrolyten die Beständigkeit eines durch Pufferung erzielten pH-Wertes garantiert. Ferner ist die Untersuchung der pH-Einwirkung auf lebende

Organismen nur dann allein möglich und erfolgreich, wenn die chemische Zusammensetzung des Mediums bekannt ist. Denn durch den Wert der Zusammensetzung wird zweifelsohne nicht nur der pH-Wert allein, sondern auch der biologische Einfluß bestimmt.

Bei allen Versuchen über die pH-Einwirkung auf lebende Organismen in Zuchtverhältnissen ist es die erste Aufgabe, vor allem solche Versuchsbedingungen zu schaffen, die eine genaue Feststellung der Abhängigkeit zwischen dem Chemismus des Mediums und dem pH-Wert allein einerseits, ferner zwischen dem Chemismus des Mediums und dem biologischen Einfluß von pH auf lebende Organismen andererseits, ermöglichen.

Als Nahrung dienten Algen der Gattung *Chlamydomonas*, die in Reinkultur in Knop'scher Nährlösung oder auf Knop-Agar gezüchtet wurden. Diese Algen bilden ein sehr gutes Nahrungsmittel und als Chlorophyllnahrung sind sie für die Zucht von *Daphnia pulex* im Laboratorium geeigneter als irgend ein anderes Futtermittel. Durch Beobachtungen und Versuche konnte festgestellt werden, daß das Gelingen der Zuchtversuche mit *Daphnia pulex* gerade von der Chlorophyllnahrung bedingt wird. Die Algen wurden mittels einer Zentrifuge gesondert. Darauf wurden sie 5-mal mit reinem Leitungswasser und 3-mal mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Dieses Verfahren mußte die Nahrung von fremden Elektrolyten ganz befreien. Tatsächlich konnte nach dieser Behandlungsweise in keinem Falle eine ungünstige Einwirkung der Salze aus der Knop'scher Nährlösung festgestellt werden.

Die auf diesem Wege erzielte Nahrung wurde den Tieren mittels kalibrierter Pipetten geboten.

Wichtig ist die Art und Weise, wie man den für das Zuchtmedium notwendigen pH-Wert erzielt. Da die Mehrzahl der gebräuchlichen Puffersubstanzen giftig ist, wählte ich eine Natriumphosphatenmischung als Puffersubstanz.

Das Hinzufügen von Natriumphosphaten gibt bei Benutzung der oben erwähnten Zuchtlösung einen ständigen festen pH-Wert, im Gegensatz zu der Methode, die gewöhnliches Wasser als Zuchtmedium verwendet. Bei Benutzung von gewöhnlichem Wasser als Zuchtmedium wirkten die natürlichen Puffersubstanzen störend auf die künstlichen Puffersubstanzen ein. Der auf diese Weise erzielte pH-Wert ändert sich ganz beliebig und es besteht keine

Möglichkeit, irgend eine Gesetzmäßigkeit festzustellen. Außerdem bilden sich oft Niederschläge, die schließlich eine Änderung des chemischen und physikalischen Charakters der Zuchtlösung herbeiführen.

Ich führe jetzt einen Auszug aus dem Protokoll an, der pH-Werte betrifft, die mittels der benutzten 1/400 mol. Natriumphosphatenlösung in dem zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnten Zuchtmedium erreicht wurden.

25. V. 1934.

pH-Wert	ändert sich nach Ablauf von						
	2 St.	4 St.	6 St.	10 St.	24 St.	3 Tagen	7 Tagen
	in den pH-Wert	in den pH-Wert	in den pH-Wert	in den pH-Wert	in den pH-Wert	in den pH-Wert	in den pH-Wert
5·7	5·8	5·9	5·9	5·9	5·9	5·9	—
6·0	6·0	6·0	6·0	6·0	6·0	6·1	6·1
6·2	6·2	6·2	6·2	6·2	6·3	6·3	—
6·9	6·9	6·9	6·9	6·9	6·9	6·9	—
7·1	7·1	7·1	7·1	7·1	7·1	7·1	—
7·3	7·3	7·3	7·3	7·3	7·3	7·3	7·3

Zur der pH-Bestimmung wurde der neue Hellige Komparator benutzt, die Wertungen wurden mit einem anderen Hellige Apparat mit den entsprechend gleichen Indikatoren auf ihre Richtigkeit geprüft. Die Kontrollversuche stimmten vollkommen mit den übrigen überein.

Die Versuche wurden in 100 cm<sup>3</sup> Bechergläsern, die mit Glasdeckeln versehen waren, durchgeführt. Diese Gläser wurden mit Tieren besetzt, die vorher genau auf ihren Zustand, auf ihre Ovarien und den Darm untersucht wurden.

Die Juni-Experimente fanden bei einer Temperatur von 17—22°C, diese des September bei einer Temperatur von 19—21°C statt.

Als Puffersubstanzen wurden benutzt:

Natrium phosphoricum nach Sörensen,

Natrium biphosphoricum crist. der Firma Schering-Kahlbaum und Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> »pro analysi« (Mercks-Reagenz). Die zur Herstellung der Zuchtlösung benötigten Salze erhielt ich durch die Firma »Pharma« Kraków im Zustand »purissimum«.

Das notwendig reine Wasser erhielt ich durch nochmaliges Verdampfen vom destillierten Wasser, das ich aus dem Chemischen Institut der Jagellonischen Universität bezog. Es wurde zur Herstellung der Zuchtlösung, der Puffersubstanzen, zum Auswaschen der Algen und Gefäße benutzt. Die Zuchtlösung und die Nahrung wurden täglich erneuert, wobei der pH-Wert und der Zustand der Tiere kontrolliert wurde, besondere Beachtung wurde dem Darmzustand zugewandt.

Die Fütterung der Tiere ist von großer Bedeutung. Hierbei ist eine genaue Kontrolle nicht nur der Nahrungsaufnahme allein, sondern auch der Verdauung nötig. Das Tier kann nämlich vor Hunger zugrunde gehen, und dabei den Darm mit einem nicht entsprechenden Futter angefüllt haben. Diese Tatsache konnte ich öfters feststellen, wenn ich Daphnien mit verschiedenartigen Algen und mit Zysten solcher Algen fütterte, die sonst im Vegetationsstadium im Darm leicht verdaut wurden. Alle anderen Besonderheiten betreffs der Zucht und der Methode führe ich bei der Beschreibung der Versuche an.

### Experimenteller Teil.

Die Versuche wurden in 3 Serien ausgeführt:

- I Serie: in normaler Zuchtlösung +  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .
- II Serie: in Zuchtlösung, die zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt wurde +  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .
- III Serie: in Zuchtlösung, die zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt wurde + Natriumphosphaten.

In jeder dieser Serien berücksichtigte ich 3 Punkte der pH-Skala:  $\text{pH} = 5.7$ ,  $\text{pH} = 6.0$ ,  $\text{pH} = 7.3$ .

Die Versuche wurden in allen Serien zu gleicher Zeit durchgeführt. Die I und II Serie diente zur Kontrolle. Vor allem betraf das den pH-Wert 7.3 der ersten Serie, deshalb, weil die Kultur hierin tatsächlich eine Wiederholung der langwierigen Zuchtversuche über die Eignung der Zuchtlösung war. Da sich infolge von Zusatz von Phosphaten zur normalen Zuchtlösung Kalkphosphatniederschläge bilden, ferner die Konzentration der Mineralsalze sehr steigt, mußte die Zuchtlösung zur Hälfte verdünnt werden. In Verbindung damit ergab sich die Notwendigkeit, die Eigenheiten des verdünnten Zuchtmediums zu prüfen und zwar unter den Bedingungen, unter denen sein Zuchtwert

bestimmt wurde, d. h. bei Verwendung von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  als Alkalisierungsmittel. Dazu dienten die Versuche der II Serie, die unmittelbar die III Serie kontrollierten. Außer diesen zwei Serien (I und II) führte ich Kontrollkulturen im Aquariumwasser durch. Diese Kulturen wurden gleichfalls in  $100\text{ cm}^3$  Bechergläsern gezüchtet und auch mit Algen gefüttert. Bei Wiederholung der Versuche im September verfuhr ich auf dieselbe Weise. Serie II wurde überhaupt nicht berücksichtigt, da sie einen entschieden ungünstigen Einfluß auf die Tiere aufwies. Die entsprechenden pH-Werte erlangte ich auf folgende Weise: In der I Serie  $\text{pH} = 5.7$  durch Zugabe von  $0.05\text{ cm}^3$   $1/100$  n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{pH} = 6.0$  durch Zugabe von  $0.13\text{ cm}^3$   $1/100$  n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{pH} = 7.3$  durch Zugabe von  $4.0\text{ cm}^3$   $1/100$  n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , alles auf  $100\text{ cm}^3$  der Zuchtlösung. Der erreichte pH-Wert war anfangs geringer als  $6.0$ , im Laufe einiger Stunden stieg der pH-Wert auf  $6.0$  bis  $6.1$ . Die Schwankungen des pH-Wertes bewegten sich innerhalb der Grenzen, die bei der Beschreibung der Experimente angeführt werden. Den Wert von  $\text{pH} = 7.3$  erhielt ich einige Stunden nach Zugabe von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  infolge der Abnahme des pH-Wertes von  $8.0$  auf  $7.3 - 7.2 - 7.1$ . Auch dieser pH-Wert unterlag Schwankungen, die bei der Beschreibung der Versuche angegeben werden.

Die pH-Werte für die II Serie wurden auf folgende Weise erlangt:  $\text{pH} = 5.7$  durch Zugabe von  $0.05 - 0.06\text{ cm}^3$   $1/100$  n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  auf  $100\text{ cm}^3$  der Zuchtlösung,  $\text{pH} = 6.0$  durch Zugabe von  $0.2\text{ cm}^3$   $1/100$  n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  auf  $100\text{ cm}^3$  Zuchtlösung,  $\text{pH} = 7.3$  durch Zugabe von  $4.5\text{ cm}^3$   $1/100$  n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  auf  $100\text{ cm}^3$  Zuchtlösung. Dabei wurde die Beständigkeit von  $\text{pH} = 6.0$  nach einigen Stunden von  $\text{pH} < 6.0$  oder  $> 6.0$  erreicht. (Die Schwankungen werden bei der Beschreibung der Versuche angeführt).  $\text{pH} = 7.3$  erreichte seinen festen Wert nach einigen Stunden von  $\text{pH} > 8.0$ . (Die Schwankungen werden bei der Beschreibung der Versuche angegeben).

Die pH-Wertungen wurden täglich vorgenommen, d. h. die erste Messung erfolgte nach Erreichung des definitiven pH-Wertes noch vor Beschiebung der Gefäße mit den Tieren, die zweite Messung nahm ich 24 Stunden später vor.

Die maximalen Schwankungsunterschiede sind überall bei der Beschreibung der Versuche beigefügt.

Auf gleiche Weise kontrollierte ich den pH-Wert in der III Serie, wo zur Erreichung von pH eine Mischung von Natriumphosphaten in der Konzentration 1/500 mol. benutzt wurde, indem der pH-Wert durch das gegenseitige Quantitätsverhältnis der Phosphate nach dem allgemeinen Grundsatz der Pufferung reguliert wurde. Die gemeinsame Molarkonzentration von beiden Phosphaten unterlag keiner Änderung. Der pH-Wert änderte sich nur von pH = 5·7 in 5·8 und höchstens in 5·9, dagegen änderte sich der pH-Wert 6·0 und pH = 7·3 niemals.

Die Kontrollkulturen wurden auch täglich geprüft (die Schwankungen ersieht man aus der Beschreibung der Versuche).

Die Tiere wurden mittels einer Pipette gefangen, dann nach mikroskopischer Untersuchung in die bereitgestellte, frische Kultur übertragen. Die Zuchtlösung wurde in sterilisierten Kolben der Firma Schott-Jena zubereitet und aufbewahrt.

Mit den Versuchen begann ich am 2. VI. 1934 und zwar gleichzeitig mit allen Serien.

Auf jede Serie entfielen 15 Weibchen, von denen wieder je 5 auf jeden pH-Wert (5·7, 6·0, 7·3) entfielen. Zu den Versuchen wurden nur reife, parthenogenetische Weibchen verwandt.

Der Zweck der Versuche war, die Lebensfähigkeit reifer Tiere, die aus dem Aquarium direkt in einen pH-Wert gebracht wurden, der nach Ström todbringend ist, festzustellen. Ferner sollte festgestellt werden, inwiefern sich sowohl saure als auch alkalische Kulturen der einzelnen Serien, besonders aber der III Serie, in ihrer Wirkung auf den Organismus eines reifen *Daphnia pulex*-Weibchens, infolge der Verdünnung der Zuchtlösung und Benutzung verschiedenartiger Puffersubstanzen, unterscheiden.

Die Beobachtungszeit dauerte grundsätzlich 10 Tage. Die 10-tägige Beobachtungsdauer stimmt mit derjenigen von Ström überein. In der Zeit stellte er seine Ergebnisse über die Einwirkung verschiedener pH-Werte auf den Organismus von *Daphnia pulex* fest. Das Ergebnis einer 10-tägigen Beobachtung an erwachsenen Individuen, die in die Versuchsverhältnisse der I, II und III Serie, bei gleichzeitiger Verwendung der pH-Werte 5·7, 6·0 und 7·3 gebracht wurden, stellt sich folgendermaßen dar. (Die pH-Schwankungen werden in den tiefsten und höchsten pH-Werten der gegebenen Kultur im Laufe der gesamten Beobachtungsperiode angegeben).

TABELLE I.

I Serie — normale Zuchtlösung + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthenogenetisch Eier produzierenden Weibchen	Gesamtzahl	
							der Würfe von Jungen	der jungen Tiere
5·7—6·5	10	5	1	—	4	4	9	62
6·0—6·4	10	5	—	1	4	4	6	39
8·0—7·1	10	5	1	—	4	3	4	23

TABELLE II.

II Serie — Zuchtlösung zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthenogenetisch Eier produzierenden Weibchen	Gesamtzahl	
							der Würfe von Jungen	der jungen Tiere
5·7—6·4	10	5	1	2	2	3	7	21
6·0—6·6	10	5	1	1	3	4	8	49
8·0—7·1	10	5	—	—	5	5	11	60

TABELLE III.

III Serie — Zuchtlösung zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt + Natriumphosphaten.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthenogenetisch Eier produzierenden Weibchen	Gesamtzahl	
							der Würfe von Jungen	der jungen Tiere
5·7—5·9	10	5	—	1	4	4	7	25
6·0—6·0	10	5	—	—	5	4	8	34
7·3—7·3	10	5	1	2	2	3	4	15

Tabelle I, II und III stellt direkt den Verlauf der Versuche in den Serien I, II und III dar. Daraus geht hervor, daß:

1. in allen Serien die reifen Tiere von *Daphnia pulex* leben und sich parthenogenetisch vermehren,
2. in Serie I und III saure Kulturen die Lebensfähigkeit der Tiere im Vergleich zu alkalischen Kulturen nicht unbedingt beeinträchtigen, noch die Vermehrung begrenzen,
3. in Serie II ein Unterschied in der Anzahl der überlebenden Tiere und der Erzeugung von Jungen zu Ungunsten der sauren Kultur vom pH-Wert 5·7 zu bemerken ist,
4. allgemein saure pH-Werte aller Serien auf erwachsene Tiere nicht unbedingt tödlich einwirken, noch ihnen die Fähigkeit der parthenogenetischen Vermehrung nehmen.

Es fragt sich nun, ob der Charakter des Zuchtmediums in den Serien I, II und III, der durch Benutzung verschiedenartiger Puffersubstanzen und durch Verdünnung der Zuchtlösung geändert wurde, einen Einfluß auf die Einwirkung des pH-Wertes auf den reifen Organismus von *Daphnia pulex* ausübt? Die Antwort darauf geben die Tabellen IV, V und VI, in denen die Ergebnisse der Versuche in pH = 5·7 gleichzeitig in den Serien I, II und III, in pH = 6·0 in den Serien I, II und III, ferner in pH = 7·3 in den Serien I, II und III dargestellt sind.

Aus diesen Tabellen ist ersichtlich, daß Serie II, wenn es sich um den Grad der Lebensfähigkeit in sauren Kulturen handelt, an letzter Stelle steht. In Serie I und III ist es schwer eine Regelmäßigkeit herauszufinden. Wenn es sich um die Erzeugung von Jungen handelt, so ist es auch schwer, hierbei eine Gesetzmäßigkeit festzustellen.

Eine allgemeine Zusammenstellung der Versuchsergebnisse von allen Serien zusammen gibt Tabelle VII.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die geringste Sterblichkeit Serie I aufweist. Die größte Erzeugung von Jungen weist Serie II auf, die niedrigste Serie III.

Als Ergebnis der obigen Zusammenstellungen kann man die einzige sichere Tatsache feststellen, daß der pH-Wert 5·7—6·6 ohne Berücksichtigung des Versuchsmediums und ohne Berücksichtigung der maximalen und minimalen Schwankungen des pH-Wertes, auf reife Individuen von *Daphnia pulex* nicht unbedingt tödlich wirkt und die Erzeugungsfähigkeit von Jungen während der Dauer von 10 Tagen nicht beeinträchtigt.

TABELLE IV.

pH = 5.7.

Serie:	pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Gesamtzahl	
								der Würfe von Jungen	der jungen Tiere
I	5.7—6.5	10	5	1	—	4	4	9	62
II	5.7—6.4	10	5	1	2	2	3	7	21
III	5.7—5.9	10	5	—	1	4	4	7	25

TABELLE V.

pH = 6.0.

Serie:	pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Gesamtzahl	
								der Würfe von Jungen	der jungen Tiere
I	6.0—6.4	10	5	—	1	4	4	6	39
II	6.0—6.6	10	5	1	1	3	4	8	49
III	6.0—6.0	10	5	—	—	5	4	8	34

TABELLE VI.

pH = 7.3.

Serie:	pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Gesamtzahl	
								der Würfe von Jungen	der jungen Tiere
I	8.0—7.1	10	5	1	—	4	3	4	23
II	8.0—7.1	10	5	—	—	5	5	11	60
III	7.3—7.3	10	5	1	2	2	3	4	15

TABELLE VII.

Serie:	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Gesamtzahl	
							der Würfe von Jungen	der jungen Tiere
I	10	15	2	1	12	11	19	124
II	10	15	2	3	10	12	26	130
III	10	15	1	3	11	11	19	74

Irgend eine Schlußfolgerung außer der Behauptung, daß die Tiere im Laufe von 10 Tagen in allen Serien lebten und sich vermehrten, wäre zwecklos. Sichere genauere Daten können in dem Sinne nur durch längere Beobachtungen erhalten werden. Hierbei muß mit in Betracht gezogen werden, daß, nachdem erwachsene Tiere zu den Versuchen verwandt wurden, ein neuer Faktor auftaucht, nämlich die natürliche Sterblichkeit. Obgleich aus methodischen Gründen in Bezug auf Serie III (pH = 5·7 und pH = 7·3) die Beobachtungsdauer um weitere 8 Tage verlängert wurde, so ist es dennoch nur zweckmäßig, sich auf Versuchsergebnisse zu berufen, die mit einer Generation aller dieser Serien, die in Versuchsverhältnissen geboren wurden, erreicht wurden.

Tabelle VIII zeigt das Verhalten der Tiere in pH = 5·7—5·9 der III Serie im Vergleich zu pH = 7·3 der III Serie und pH = 7·3 der I Serie.

TABELLE VIII.

Serie:	pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Es blieben übrig	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Gesamtzahl	
								der Würfe von Jungen	der jungen Tiere
III	5·7—5·9	8	4	1	—	3	2	3	19
III	7·3—7·3	8	2	—	—	2	2	2	13
I	7·4—7·1	8	4	1	—	3	2	3	24

Daraus geht klar hervor, daß  $\text{pH} = 5.7-5.9$  in der III Serie weitere 8 Tage hindurch keine negative Einwirkung ausübte.

Als Fortsetzung der Versuche wurden Beobachtungen an jungen Organismen angestellt. Zu den Versuchen wurden nur junge Weibchen solcher Würfe verwandt, deren gänzliche Entwicklung in Versuchsbedingungen stattfand. Diese, wie auch die Grundlage der Versuche, stimmten mit den Versuchen an reifen Organismen vollkommen überein.

Die hauptsächlichste Frage, die es bei den Beobachtungen zu lösen galt, war die Feststellung, ob ein ganz junges Tier in denselben Versuchsbedingungen geboren, in denen der mütterliche Organismus weilte, lebensfähig sei oder nicht, wenn ja, ob es sich dann parthenogenetisch vermehren kann.

Die direkten Ergebnisse der Versuche in Serie I, d. i. in normaler Zuchtlösung bei Zugabe von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , in Serie II, d. i. in Zuchtlösung, die zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt wurde, bei Zugabe von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und in Serie III, d. i. in zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnter Zuchtlösung bei Zugabe von Natriumphosphaten, sind in Tabelle IX, X und XI dargestellt.

Aus diesen Tabellen geht hervor, daß 1) nur in den Serien I und III in allen  $\text{pH}$ -Stufen junge Tiere leben und sich vermehren. Dagegen konnte sich in Serie II im Laufe von 19 Tagen nur ein Tier am Leben erhalten. Diese Serie gab insgesamt nicht einen einzigen Wurf von Jungen. 2) Im Vergleich mit der alkalischen Kultur weist die Kultur vom  $\text{pH}$ -Wert 5.7 und 6.0 der Serie I einen gleichen Grad von Lebensfähigkeit auf. Die Erzeugung von Jungen und die Entwicklung der Ovarien ist auch im allgemeinen gleich, dagegen fallen die Würfe von Jungen später als in der alkalischen Kultur. Die Kultur von  $\text{pH} = 5.7$  der II Serie zeigt eine entschieden kürzere Lebenszeit der Tiere, als die Kultur vom  $\text{pH}$ -Wert 7.3. Die Kulturen von  $\text{pH} = 5.7$  und 6.0 in der III Serie weisen im Vergleich mit der alkalischen Kultur einen geringeren Grad von Lebensfähigkeit, eine spätere Entwicklung und eine geringere Erzeugung von Jungen auf. 3) Im allgemeinen jedoch leben und vermehren sich die jungen Tiere in den Serien I und III sowohl in sauren als auch alkalischen Kulturen. 4) Bei Beurteilung des Grades der Lebensfähigkeit, der Entwicklung der Ovarien und Erzeugung von Jungen in Serie III, muß man bis zu einem gewissen Grade auf eine negative Einwirkung saurer

TABELLE IX.  
Serie I — normale Zuchtlösung + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produzier. Weibchen	Entwicklungszeit der Ovarien	Wurfzahl von Jungen	Tag des Wurfes von Jungen	Anzahl der jungen Tiere
5.7—6.5	16	3	—	—	3	2	6, 6, 6	2	14, 16	15
6.0—6.4	18	2	—	—	2	1	7, 7	1	18	4
7.3—7.1	17	3	—	—	3	3	7, 7, 7	5	11, 12, 14, 15, 17	18

TABELLE X.  
Serie II — Zuchtlösung zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produzier. Weibchen	Entwicklungszeit der Ovarien	Wurfzahl von Jungen	Tag des Wurfes von Jungen	Anzahl der jungen Tiere	Grenztag des Abnehmens der Tiere
5.7—6.6	10	3	—	3	—	—	6, 6, 0	—	—	—	7, 8, 10
6.0—6.6	19	3	—	2	1	—	10, 0, 0	—	—	—	11, 12
7.5—7.1	18	3	—	3	—	—	15, 0, 0	—	—	—	10, 11, 18

TABELLE XI.  
Serie III — Zuchtlösung zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt + Natriumphosphaten.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produzier. Weibchen	Entwicklungszeit der Ovarien	Wurfzahl von Jungen	Tag des Wurfes von Jungen	Anzahl der jungen Tiere	Grenztag des Abnehmens der Tiere
5.7—5.9	14	3	—	1	2	1	6, 7, 8	1	13	5	12
6.0—6.0	17	4	—	2	2	4	8, 8, 10, 11	4	13, 14, 16, 17	22	14, 15
7.3—7.3	16	2	—	—	2	2	5, 5	4	9, 11, 12, 15	28	—

Kulturen auf die in Versuchsverhältnissen geborene Generation schließen. 5) Die Zusammenstellung der Ergebnisse von Beobachtungen an reifen Tieren ergibt, daß  $\text{pH} = 5.7-6.5$  jedoch nicht unbedingt todbringend ist und die Fähigkeit zur parthenogenetischen Vermehrung von *Daphnia pulex* während zwei Generationen nicht beeinträchtigt.

Inwieweit beeinflußt der Charakter des Mediums, verändert durch Benutzung verschiedener Puffersubstanzen und durch Verdünnung der Zuchtlösung, die pH-Wirkung auf den Organismus von *Daphnia pulex*? Diese Ergebnisse sind in den Tabellen XII, XIII und XIV dargestellt.

TABELLE XII.

pH = 5.7.

Serie:	pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Grenztag des Abnehmens der Tiere	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Entwicklungszeit der Ovarien	Wurfzahl von Jungen	Tag des Wurfes von Jungen	Anzahl der jungen Tiere
I	5.7—6.5	16	3	—	—	—	3	2	6, 6, 6	2	14, 16	15
II	5.7—6.6	10	3	—	3	7, 8, 10	—	—	6, 6, 0	—	—	—
III	5.7—5.9	14	3	—	1	12	2	1	6, 7, 8	1	13	5

TABELLE XIII.

pH = 6.0.

Serie:	pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Grenztag des Abnehmens der Tiere	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Entwicklungszeit der Ovarien	Wurfzahl von Jungen	Tag des Wurfes von Jungen	Anzahl der jungen Tiere
I	6.0—6.4	18	2	—	—	—	2	1	7, 7	1	18	4
II	6.0—6.6	19	3	—	2	11, 12	1	—	10, 0, 0	—	—	—
III	6.0—6.0	17	4	—	2	14, 15	2	4	8, 8, 10, 11	4	13, 14, 16, 17	22

TABELLE XIV.

pH = 7.3.

Serie:	pH-Schwankungen	Beobachtungs- dauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Grenztag des Ab- lebens der Tiere	Anzahl der über- lebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weib- chen	Entwicklungszeit der Ovarien	Wurffzahl von Jungen	Tag des Wurfes von Jungen	Anzahl der jun- gen Tiere
I	7.3—7.1	17	3	—	—	—	3	3	7, 7, 7	5	11, 12, 14, 15, 17	18
II	7.5—7.1	18	3	—	3	10, 11, 18	—	—	15, 0, 0	—	—	—
III	7.3—7.3	16	2	—	—	—	2	2	5, 5	4	9, 11, 12, 15	28

Aus einem Vergleich geht hervor, daß 1) Serie II in allen pH-Werten entschieden ungünstig wirkt, 2) der Grad der Lebensdauer in sauren pH-Stufen von Serie I höher ist, als von Serie III, 3) die Erzeugung von Jungen in Serie I in pH = 5.7—6.5 größer ist als in Serie III in analoger Wasserstoffionenkonzentration (in pH = 5.7—5.9), dagegen in pH = 6.0 und 7.3 die Erzeugung von Jungen in Serie III besser ist als in Serie I bei analoger Wasserstoffionenkonzentration (pH = 6.0—6.4 und 7.3—7.1).

Zusammenfassend übte nur Serie II einen ausgesprochen negativen Einfluß aus.

Die endgültigen Ergebnisse der Versuche an Muttertieren und deren Nachkommenschaft können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

1) Ein negativer Einfluß saurer Kulturen auf reife Organismen ließ sich in gewissen Grenzen nur in Serie II nachweisen.

2) Auf die nächstfolgende Generation übte nur Serie II als Ganzes einen negativen Einfluß aus.

3) Saure Kulturen der Serie I wirken auf die Nachkommenschaft nicht tödlich und beeinträchtigen nicht die Vermehrungsfähigkeit. Saure Kulturen der Serie III üben im allgemeinen einen ungünstigen Einfluß auf die Nachkommenschaft aus.

Die Kontrollkulturen, die im Aquariumwasser gezüchtet wurden, müssen nicht mit in Betracht gezogen werden. Diese Kulturen

wurden gleichzeitig mit den Versuchskulturen aller Serien angelegt. Sie wurden in gefiltertem Aquariumwasser in 100 cm<sup>3</sup> Bechergläsern mit 5 parthenogenetischen Tieren angelegt, die Nahrung bestand aus Algen. Die erste Kultur wurde am 2. VI. angelegt. Im Laufe von 7 Tagen starben alle Tiere. Während dieser Zeit gaben sie 9 junge Tiere. Die pH-Schwankungen betragen in der Zeit 7·5—7·6. Daher wurde am 8. VI. zum zweiten Mal eine Kontrollkultur in analogen Versuchsverhältnissen angelegt. Diese ging im Laufe von 3 Tagen zugrunde; der pH-Wert betrug 7·5—7·6. Infolgedessen wurden am 11. VI. 3 weitere Kontrollkulturen angesetzt: eine mit gefiltertem Wasser, die zweite mit ungefiltertem Wasser und eine dritte auch mit gefiltertem Wasser. Diese letzte Kultur wurde mit jungen Tieren beschickt. Alle Kulturen starben mit den Anzeichen einer deutlichen Schwäche der Tiere, die nicht einen einzigen Wurf von Jungen hervorbrachten. Dagegen wurden bei fast allen Weibchen degenerierende Eier oder Embryonen bemerkt. Das war eine allgemeine Erscheinung auch bei den im Aquarium lebenden Tieren, so daß zur Beschickung der Kontrollkulturen mit jungen Tieren mit Mühe nur einige Junge im ganzen Aquarium gefunden werden konnten. Als nach dem Aussterben der letzten Kontrollkultur nochmals eine Kontrollkultur angelegt werden sollte, konnten kaum einige schon sterbende Tiere im Aquarium gefunden werden.

Diese Erscheinung zeugt dafür, daß die Ursachen der Sterblichkeit bei diesen Tieren in irgend welchen Eigenheiten des Aquariumwassers zu suchen sind, da sich im Gegensatz zu den Kontrollversuchen die Tiere in Versuchskulturen ohne jeden Vergleich besser hielten, sogar in sauren Kulturen.

Trotzdem wurden die Versuche im September mit demselben Material, das aus demselben Teich stammte und ganz gesund war, der Genauigkeit halber wiederholt.

Das Zuchtmedium war hier durchgeseihtes Wasser aus diesem Teich; pH = 7·6.

Die Versuche wurden zu dem Zweck wiederholt, um festzustellen, ob die Degeneration der Eier und Embryonen in den Versuchskulturen beim erstenmal durch Versuchsverhältnisse erfolgte, oder ob die Schuld im Material selbst lag. Die Versuche bezweckten ferner, die Kulturen mit je 15 Tieren durchzuführen. Außerdem muß in Betracht gezogen werden, daß ich mir zur

Aufgabe nicht die Erforschung des Einflusses des Mediums machte, sondern, da ein fester Zuchtwert des Mediums in Serie I und Serie III vorlag, meine Versuche nur auf diese 2 Serien beschränkte.

Die Zuchtlösung und die Nahrung wurde täglich erneuert. Eine Kontrollkultur wurde in durchgesehenem Wasser desselben Teiches gezüchtet. Im Verlauf von 10 Tagen wurde das Wasser 2-mal erneuert. Die Kulturen züchtete ich in 100 cm<sup>3</sup> Bechergläsern. Junge Tiere wurden aus der Kultur entfernt. Der pH-Wert der Versuchskulturen wurde täglich, der von der Kontrollkultur beim Erneuern des Wassers gemessen. Das Ergebnis der Versuche stellt Tabelle XV und XVI dar.

TABELLE XV.

Serie I — normale Zuchtlösung + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Grenztag des Ablebens der Tiere	Anzahl der überlebenden Tiere
5·7—6·5	10	15	—	5	2, 4, 4, 9	10
6·0—6·4	10	15	2	4	4, 4, 4, 5	9
7·3—7·1	10	15	—	4	1, 4, 4, 6	11

TABELLE XVI.

Serie III — Zuchtlösung zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt + Natriumphosphaten.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Beschädigte Tiere	Es starben	Grenztag des Ablebens der Tiere	Anzahl der überlebenden Tiere
5·7—5·9	10	15	—	7	2, 2, 2, 3, 4, 5, 5	8
6·0—6·0	10	15	—	4	4, 4, 4, 5	11
7·3—7·3	10	15	—	5	2, 3, 4, 5, 5	10
Kontrollkultur						
7·6—7·8	10	15	—	4	2, 4, 6, 6	11

Während der ganzen Versuchszeit konnte weder in den Versuchskulturen noch in der Kontrollkultur eine Degeneration der Eier bemerkt werden.

Das Erscheinen der Jungen kontrollierte ich und konnte dabei feststellen, daß im allgemeinen alkalische und die Kontrollkultur mehr Junge hervorbrachten als saure Kulturen. Desgleichen erzeugte Serie I mehr junge Tiere als Serie III. Der Grad der Lebensfähigkeit ist in obigen Tabellen dargestellt. Daraus ergibt sich wiederum, daß saure Kulturen auf reife Tiere nicht unbedingt tödlich einwirken, obgleich der ungünstige Einfluß der sauren Kultur von Serie III vom pH-Wert 5·7—5·9 keinem Zweifel unterliegt. Das betrifft auch das Erzeugen von Jungen. Z. B. am 8., 9. und 10. Versuchstage gab diese Kultur zusammen je ein junges Weibchen. Trotzdem hielt die Zeugung von Jungen die ganze Zeit hindurch ununterbrochen an. Das Ergebnis der im September durchgeführten Versuche unterscheidet sich daher insofern von den früheren Ergebnissen im Juni, als die sauren Kulturen ihre ungünstige Einwirkung auf die Lebensfähigkeit der Tiere, wie auf die Fortpflanzung stärker zum Ausdruck bringen. Aber auch hier war die Einwirkung nicht unbedingt todbringend. Am 5-ten Versuchstage wurden alle neugeborenen Weibchen, die sich zu der Zeit in den Kulturen befanden, isoliert. Sie wurden als Versuchskulturen mit jungen Tieren in identischen Verhältnissen gezüchtet.

Zu den Versuchen wurden also in Serie I bei pH = 5·7 sechs Junge, bei pH = 6·0 fünf Junge, bei pH = 7·3 zehn Junge, in Serie III bei pH = 5·7 vier Junge, bei pH = 6·0 drei Junge, bei pH = 7·3 sechs junge Tiere benutzt. In der Kontrollkultur gab es 15 Junge, von denen 5 verwandt waren. Das Ergebnis der Versuche stellen die Tabellen XVII, XVIII und XIX dar.

Daraus geht hervor, daß in Serie I saure Kulturen sich weder im Grad der Lebensfähigkeit noch in der Erzeugung von Jungen von alkalischen oder von der Kontrollkultur grundsätzlich unterscheiden. Dagegen hat in Serie III die Kultur vom pH-Wert 5·7—5·9 einen negativen Einfluß auf den Grad der Lebensfähigkeit und auf die Fortpflanzung. Aus einem Vergleich mit der Zucht der Muttertiere ergibt sich, daß die Kultur von pH = 5·7—5·9 eine Sterblichkeit von ca. 50%, und die Kultur von pH = 6·0 eine größere Sterblichkeit als eine alkalische Kultur ergibt. Allgemein wirkt jedoch der pH-Wert 5·7—5·9 und der pH-Wert 6·0 nicht auf eine ganze Population tödlich und bei den überlebenden Tieren beeinträchtigt er nicht die parthenogenetische Vermehrungsfähigkeit.

TABELLE XVII.  
Serie I — normale Zuchtlösung + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Wurfzahl von Jungen	Tag der Wurfes von Jungen	Anzahl der jungen Tiere
5.7—6.5	16	6	—	6	4	4	10, 11, 11, 11	25
6.0—6.4	16	5	—	5	3	3	9, 9, 10	9
7.3—7.1	16	10	—	10	10	10	8, 9, 9, 9, 10, 11, 11, 14, 14, 16	43

TABELLE XVIII.  
Serie III — Zuchtlösung zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt + Natriumphosphaten.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Wurfzahl von Jungen	Tag des Wurfes von Jungen	Anzahl der jungen Tiere
5.7—5.9	16	4	2	2	2	2	14, 14	8
6.0—6.0	16	3	1	2	2	2	13, 14	11
7.3—7.3	16	6	—	6	4	4	11, 12, 12, 14	24

TABELLE XIX.  
Kontrollkultur.

pH-Schwankungen	Beobachtungsdauer in Tagen	Anzahl der Tiere	Es starben	Anzahl der überlebenden Tiere	Anzahl der parthen. Eier produz. Weibchen	Wurfzahl von Jungen	Tag des Wurfes von Jungen	Anzahl der jungen Tiere
7.6—8.0	16	5	—	5	5	8	10, 10, 11, 12, 12, 14, 14, 15	50

Zum endgültigen Vergleich der im Juni und September durchgeführten Versuche kann man nur Serie I und Serie III in Betracht ziehen. Serie II wurde im September überhaupt nicht berücksichtigt, da sie einen ungünstigen Einfluß auf die untersuchten Tiere ausübte.

Wenn man als Grundlage der Folgerung über die eventuelle ungünstige Einwirkung stärkerer Wasserstoffionenkonzentrationen die Gesamtheit der durchgeführten Versuche in Serie I und III nimmt — so kann man in Bezug auf Serie III einen gewissen (deutlicheren, als bei Serie I) Einfluß der stärkeren Wasserstoffionenkonzentrationen auf die untersuchten Tiere feststellen. Da die Eigenheiten selbst der Zuchtlösung in Serie III auf die untersuchten Tiere nicht ungünstig wirkten, so muß man die Ursache des ungünstigen Einflusses der stärkeren Wasserstoffionenkonzentrationen in Serie III darin suchen, daß die H<sup>+</sup>-Konzentration in den Kulturen dieser Serie sich überhaupt nicht, oder nur minimal änderte. Die sauren Lösungen in Serie III könnten ihre eventuelle ungünstige Einwirkung deshalb stärker ausüben, als analoge saure Lösungen in Serie I, weil hier in Serie I analoge Wasserstoffionenkonzentrationen bedeutende Änderungen in alkalischer Hinsicht erfuhren. Aus diesem Grunde kann man als maßgebend für die Wirkung der Wasserstoffionenkonzentrationen nur die Versuchsergebnisse in Serie III betrachten. Eben diese Versuche scheinen darauf hinzuweisen, daß saure Lösungen, insbesondere aber die Kultur vom pH-Wert 5·7 einen gewissen ungünstigen Einfluß auf *Daphnia pulex* ausübt. Wenn wir uns also endgültig auf die Ergebnisse von Serie III stützen, so kann man folgern, daß der pH-Wert 5·7 und 6·0 tatsächlich bis zu gewissen Grenzen einen ungünstigen Einfluß auf *Daphnia pulex* ausübt.

### Besprechung der Ergebnisse.

Ein Vergleich obiger Ergebnisse mit den Resultaten der Arbeiten von A. Tauson und K. M. Ström weist eine vollkommene Unstimmigkeit mit den Versuchsergebnissen Ströms auf, trotzdem eine bis zu einem gewissen Grade ähnliche Methode verwandt wurde. Meine Ergebnisse stimmen jedoch in gewisser Hinsicht mit den Resultaten von Tauson überein.

Ström (1926) behauptete nämlich, daß die Wirkung vom pH-Wert 6·5, 7·0—7·3 auf reife Tiere von *Daphnia pulex* ungün-

stig sei. Aus meinen Beobachtungen geht jedoch hervor, daß  $\text{pH} = 5.7-5.9$  und  $6.0-6.5$  ausreicht, um das Leben und die Fortpflanzung einer Population von *Daphnia pulex* durch mindestens zwei Generationen hindurch zu gewährleisten. Daraus ergibt sich die Folgerung, daß  $\text{pH} = 6.5$  keine tödliche Konzentration darstellt, und diese jedenfalls unter dem  $\text{pH}$ -Wert  $5.7$  liegen müßte. Desgleichen kann  $\text{pH} = 7.0-7.3$  nicht ungünstig einwirken, da  $\text{pH} = 7.3-7.1$  eine blühende Kultur von *Daphnia pulex* durch mindestens 7 Monate hindurch gewährleistet.

Andererseits weist die Arbeit von Tauson (1931) eine gewisse Übereinstimmung mit meinen Beobachtungen auf, obgleich sie in der Methodik und in ihrer Behandlung von meinen Versuchen bedeutend abweicht.

Die Verfasserin behauptet nämlich auf Grund ihrer Versuche, daß die Reaktion der Medien vom  $\text{pH}$ -Wert  $5.40$  oder  $5.70$  die Erhaltung des Lebens nicht gewährleistet, weder bei reifen Tieren, die aus Wasser vom  $\text{pH}$ -Wert  $7.5$  oder  $9.6$  stammen, noch bei ihren Nachkommen, die in Versuchsverhältnissen geboren waren. Nach Tauson ist die physiologische Grenze der Lebensfähigkeit und der Fortpflanzung für *Daphnia pulex* die Reaktion des Mediums vom  $\text{pH}$ -Wert  $5.80$ . Daraus ist zu ersehen, daß sowohl die Ergebnisse von Tauson als auch meine Resultate mit den von Ström im Widerspruch stehen. Gleichzeitig kann aber auch eine nicht völlige Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen von Tauson und meinen eigenen Beobachtungen festgestellt werden. Nach Tauson liegt nämlich die genaue Grenze der Lebensfähigkeit und Fortpflanzungsmöglichkeit von *Daphnia pulex* bei  $\text{pH} = 5.80$ .

Aus meinen Versuchen geht wiederum hervor, daß die Reaktion des Mediums vom  $\text{pH}$ -Wert  $5.7-5.9$  nur auf einen begrenzten Prozentsatz von Tieren tödlich einwirkt, und daß die angeführten Versuchsverhältnisse die Lebensfähigkeit und parthenogenetische Fortpflanzung von reifen Tieren und deren Nachkommen nicht unbedingt beeinträchtigen. Es muß folglich angenommen werden, daß unter jeder größeren Anzahl von *Daphnia pulex* sich auch solche Tiere befinden, die geradezu eine größere Widerstandsfähigkeit auf die Einwirkung einer verstärkten Wasserstoffionenkonzentration besitzen als andere Tiere. Und diese widerstandsfähigen Tiere können sich vermehren und so die ge-

sante Population am Leben erhalten, selbst unterhalb einer eventuellen Grenze der Wasserstoffionenkonzentration, die für weniger widerstandsfähige Tiere tödlich ist. Freilich änderte sich die Reaktion des Mediums in meinen Versuchen vom pH-Wert 5·7 in 5·9, jedoch konnte durch tägliche Erneuerung der Zuchtlösung die Erhöhung des pH-Wertes 5·7 auf 5·9 keine entscheidende Rolle spielen und das prinzipielle Resultat der Versuche nicht beeinflussen. Besondere Beachtung verdient Tabelle VIII. Daraus geht hervor, daß im Laufe der 8-tägigen Verlängerung der Versuche in Serie III die Kultur, deren Medium den pH-Wert 5·7—5·9 besaß, überhaupt in keiner Weise einen ungünstigen Einfluß auf die beobachteten Tiere und auf die sich schon 10 Tage lang in identischen Versuchsverhältnissen befindlichen Tiere zeigte. Diese Verhältnisse (pH 5·7—5·9) sollten nach Tauson die Tiere zumindest schwächen und ihre Fortpflanzung herabsetzen. Es zeigte sich jedoch, daß sich die Tiere in der erwähnten sauren Kultur völlig gleich verhielten, wie die Tiere in den alkalischen Kulturen in den Serien I und III. Es muß noch auf die bekannte Tatsache hingewiesen werden, daß die Wasserflöhe im Herbst, da sie zu den späteren Generationen des Entwicklungszyklus gehören, schwächer sind als die Wasserflöhe im Frühling. Ich konnte das in der Tat feststellen, da zweimal Versuche, im Juni und im September, durchgeführt wurden. Bei den Versuchen im Juni war der Prozentsatz der Sterblichkeit der Tiere ohne Vergleich geringer, als der Prozentsatz der Sterblichkeit der Tiere, mit denen die Versuche im September durchgeführt wurden. Im ersten und zweiten Falle stammten die Tiere aus demselben Teiche und die Versuchsbedingungen, in denen sie sich befanden, waren, wie aus der Beschreibung hervorgeht, identisch.

Es muß daher festgestellt werden, daß die Reaktion des Mediums vom pH-Wert 5·80 nicht die absolute Grenze der Lebensfähigkeit und der Vermehrung für *Daphnia pulex* darstellt. Bei der Beurteilung meiner Beobachtungen über das Verhalten von Daphnien in pH 5·7—5·9 könnte angenommen werden, daß auch die Wasserstoffionenkonzentration unter dem pH-Wert 5·7—5·9 kein gänzlich Absterben der Population herbeiführt und nicht allen Tieren sofort die Vermehrungsfähigkeit abnimmt.

Tauson behandelte in ihrer Arbeit (1931) den Einfluß von äußeren Faktoren auf das Erscheinen der Geschlechtsgeneration

bei *Daphnia pulex*. Nach Ansicht der Verfasserin sind die Faktoren, die bei *Daphnia pulex* das Erscheinen der Geschlechtsgenerationen hervorrufen, folgende: die Temperatur, die Ernährung und die Wasserstoffionenkonzentration des Mediums. Der letztere Faktor spielt nach Tauson eine hervorragende Rolle. Er wirkt nämlich durch den absoluten pH-Wert und zwar durch seine Herabsetzung. Im letzten Falle erscheinen in der Regel die Männchen. Die letzteren erscheinen bei starkem Sinken der Reaktion, nämlich bei Herabsetzung des pH-Wertes, der zwischen 6·70 und 6·30 liegt.

In Verbindung damit müßte auch in meinen Versuchskulturen das Erscheinen von Männchen erwartet werden. Ein Erscheinen von Männchen konnte jedoch nicht festgestellt werden. Auf 469 ganz genau kontrollierte Tiere konnte nur ein einziges Männchen festgestellt werden. Immer und ausschließlich gab es nur eine parthenogenetische Vermehrung, sowohl bei der mütterlichen Generation (die aus Wasser vom pH-Wert 7·5 und 7·6 in Wasser vom pH-Wert 5·7 und 6·0 übertragen wurde), wie auch bei der folgenden Generation, die in Versuchsbedingungen (pH 5·7—5·9) geboren und ständig darin geblieben war. Das obige Ergebnis stimmt also mit den Resultaten von Tauson nicht überein.

Die Determination des Geschlechtes ist im allgemeinen sehr kompliziert. Seit vielen Jahren wurde sie von zahlreichen Autoren behandelt. Die äußerst zahlreiche Literatur über dieses Thema scheint darauf hinzuweisen, daß bei der Determination des Geschlechtes nicht ein gesonderter Faktor entscheidet, sondern ein ganzer Faktorenkomplex.

Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß die völlig verschiedenen Ergebnisse unserer Untersuchungen durch die verschiedenartigen Zuchtbedingungen in beiden Experimenten bewirkt wurden.

Im Besonderen ginge es in dem Falle um die Wirkung des Lichtes. Lichtabschluß in den sauren Kulturen von Tauson (1931), also folglich in den Kulturen, in denen die Verfasserin das Erscheinen von Männchen feststellte, konnte hierbei eine entscheidende Rolle spielen. Darauf scheinen die Ergebnisse der Arbeit von H. Schulz (1928) hinzuweisen. Aus diesen geht hervor, daß Lichtentzug ungünstige, also folglich anormale Bedingungen für das Leben und die Entwicklung von *Daphnia pulex* bildet. Nach der Ansicht von Schulz verursacht Dunkelheit das Vorkommen von Abortiveiern, ferner eine Verminderung der Anzahl der Nach-

kommenschaft, eine Hemmung der Ausnutzung von Reservestoffen, eine Hemmung der Verarbeitung von Nährstoffen u. s. w.

Man darf also annehmen, daß Fehlen von Licht in den sauren Kulturen der Verfasserin das Auftreten von Männchen verursachen konnte, während die normale Belichtung meiner sauren Kulturen der Grund für das Fehlen von Männchen sein konnte.

Dieses dürfte also auch die Lebensfähigkeit von *Daphnia pulex* in sauren Kulturen betreffen. Die Ursache für die Sterblichkeit der Tiere in sauren Kulturen von Tauson könnte man auch in den anormalen Belichtungsbedingungen ihrer Kulturen suchen.

Da die vorliegende Arbeit in erster Linie als Beitrag zur Kenntnis der Lebensfähigkeit und Anpassungsfähigkeit bei dem Wasserfloh *Daphnia pulex* dient, beschränke ich mich in den Fragen der Geschlechtsdetermination lediglich auf die Angabe, daß bei der erwähnten Art durch Einfluß von erhöhter Wasserstoffionenkonzentration das Erscheinen einer Geschlechtsgeneration von mir nicht festgestellt werden konnte.

#### Zusammenfassung.

1) Die synthetische Zuchtlösung (von oben angeführter chemischer Zusammensetzung) garantiert eine normale Entwicklung einer *Daphnia pulex*-Population durch mindestens 7 Monate hindurch.

2) Das erwähnte synthetische Zuchtmedium garantiert bei Gebrauch von Natriumphosphaten als Puffersubstanzen eine unvergleichlich bessere Beständigkeit des zu den Versuchen gewählten pH-Wertes, im Bereich seiner biologischen Skala, als gewöhnliches Wasser.

3) Der pH-Wert 7·3 garantiert eine normale Entwicklung der *Daphnia pulex*-Population bei Benutzung der synthetischen Zuchtlösung durch mindestens 7 Monate hindurch.

4) Der pH-Wert 5·7 und 6·0 (in den angegebenen Schwan-  
kungsgrenzen und Versuchsbedingungen) setzt den Grad der Lebensfähigkeit der mütterlichen und folgenden Population herab.

5) Der pH-Wert 5·7 und 6·0 (in den angegebenen Schwan-  
kungsgrenzen und Versuchsbedingungen) ist aber nicht für eine ganze Population von reifen *Daphnia pulex*-Tieren tödlich, und beeinträchtigt nicht die parthenogenetische Fortpflanzungsfähigkeit der überlebenden Tiere.

6) Der pH-Wert 5·7 und 6·0 (in den angegebenen Schwankungsgrenzen und Versuchsbedingungen) wirkt auch nicht tödlich auf eine ganze Population von jungen Tieren, geboren von reifen Organismen in identischen Bedingungen und beeinträchtigt nicht die parthenogenetische Fortpflanzungsfähigkeit der überlebenden jungen Tiere.

Obige Arbeit habe ich im Zoologischen Institut der Jagellonischen Universität ausgeführt. Dem Direktor des Institutes, Herrn Professor Dr. M. Siedlecki spreche ich für die Erteilung des Themas, sowie für die wertvollen Ratschläge meinen herzlichsten Dank aus.

Zu größtem Dank bin ich ferner Herrn Dozenten Dr. M. Ramułt für seine ständige Hilfsbereitschaft verpflichtet.

Desgleichen danke ich Frau Professor Dr. J. Wołoszyńska für ihre freundliche Unterstützung, die sie mir bei der Zucht der Algen gewährt hat.

Aus dem Zoologischen Institut der Jagellonischen Universität in Kraków.

### Literaturverzeichnis.

1. Berger E. Unterschiedliche Wirkungen gleicher Ionen und Ionenmische auf verschiedene Tierarten. Pflügers Archiv. Bd. 223. 1930. —
2. Hartmann O. Über den Einfluß von Temperatur und Konzentration auf die Giftigkeit von Lösungen, besonders von Elektrolyten. Pflügers Archiv. Bd. 170. 1918. —
3. Hirsch E. Untersuchungen über die biologische Wirkung einiger Salze. Zoologische Jahrbücher. 1914. —
4. Herverden M. A. Umkehrbare Änderungen im Sarkoplasma von *Daphnia pulex*. Protoplasma. Bd. IV. 1928. —
5. Hutchinson G. Ev. Experimental Studies in Ecology. I. The Magnesium Tolerance of Daphniidae and its ecological Significance. Int. Revue d. ges. Hydrobiologie u. Hydrographie. Bd. 28. 1933. —
6. Naumann E. Die Zucht einiger Cladoceren des Teichplanktons. Abderhalden, Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. IX. Teil. II. 2. Häl. 3 H. 1929. —
7. Ramułt M. Untersuchungen über die Entwicklungsbedingungen der Sommereier von *Daphnia pulex* und anderen Cladoceren. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. 1914. —
8. Ramułt M. Development and resisting power of Cladocera embryos in the solutions of certain inorganic salts. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. 1925. —
9. Rubinstein D. L. Über den Einfluß der Reaktion auf die Giftigkeit und die antagonistischen Wirkungen der Salze. Pflügers Archiv. Bd. 216. 1927. —
10. Rubinstein D. L. Das Problem des physiologischen Ionenantagonismus. Protoplasma.

Bd. IV. 1928. — 11. Schulz H. Über die Bedeutung des Lichtes im Leben niederer Krebse. (Nach Versuchen an Daphniden). Ztschr. f. Vergl. Physiologie. 1928. — 12. Skadowsky S. N. Hydrophysiologische u. hydrobiologische Beobachtungen über die Bedeutung der Reaktion des Mediums für die Süßwasserorganismen. Verh. Int. Ver. Limn. Kiel 1922. — 13. Skadowsky S. N. Über die aktuelle Reaktion der Süßwasserbecken und ihre biologische Bedeutung. Verh. Int. Ver. Limn. Stuttgart 1926. — 14. Ström K. M. The Influence of altered H-ion Concentrations on *Stentor*, *Diaptomus* and *Daphnia*. Nyt Mag. f. Naturv. B. 64. 1926. — 15 u. 16. Tauson A. Der Einfluß der Wasserstoffionen und die antagonistische Einwirkung der Kationen auf das Überleben von Tieren. Bull. de l'Institut des recherches biol. et de la St. Biol. de l'Univ. de Perm. 1924 und 1925. — 17. Tauson A. Die Wirkung der äußeren Bedingungen auf die Veränderung des Geschlechtes und auf die Entwicklung von *Daphnia pulex* de Geer. Roux' Archiv. Bd. 123. 1931. — 18. Tauson A. Die Abhängigkeit der Verbreitung von *Holopedium gibberum* Zadd. von einigen Faktoren des äußeren Mediums. Roux' Archiv. Bd. 125. 1932. — 19. Woltereck R. Technik der Variations- und Erblichkeitsanalyse bei Crustaceen. Abderhalden, Handb. d. biol. Arbeitsmethoden. Abt. IX. Bd. 3. H. 3. 1929.

*Spostrzeżenia nad zarodkowym i larwalnym rozwojem u skorupiaka Sacculina w zmienionem osmotycznie środowisku. — Observations on the Embryonic and Larval Development in Sacculina (Rhizocephala) in Changed Osmotic Conditions of Medium.*

Mémoire

de M. M. RAMUŁT,

présenté le 1 avril 1935, par M. M. Siedlecki m. t.

### Introduction

The parasitic Crustaceans belonging to the suborder Rhizocephala of the order Cirripedia have not yet been investigated as to the influence of the changes in the concentration and in the chemical compound of the medium upon their embryonic and larval development. The eggs of Rhizocephala are a convenient material for investigations of this kind for two reasons: 1) the two first segmentation divisions are holoblastic and the formation of the new blastomeres in this initial period of development is well visible, 2) the larvae leaving in the stage of Nauplii the mantle cavity of the adult form have no intestinal duct, and cannot take any food; for that reason the artificial cultures of these larvae can be more easily kept in a state of chemical purity, than the cultures of animals which must be fed.

Rhizocephala as parasites of marine crustaceans are adapted to the normal concentration of sea water (ca 3.5‰ of mineral constituents). *Carcinus maenas* however, the host of the Rhizocephalon *Sacculina carcini* shows euryhalinity to a certain degree as it penetrates into the brackish waters (Baltic sea) or into waters of inconstant salinity (estuaries). A certain degree of euryhalinity is therefore to be expected also in the parasite of this animal. As the adult parasite cannot be investigated in that

respect, separately from the host, the studies of the vitality of this species in a changed concentration of the medium can be carried out only on the eggs or on the freely swimming larval stages. Thus one of the purposes of the present investigations was to examine experimentally whether and to what degree the species *Sacculina carcini* in the embryonic and larval period of its development can adapt itself to the changes in the surrounding medium as regards the salinity and the osmotic pressure connected with the latter. It may be of interest to compare this possible euryhalinity of the early stages of the development of *Sacculina carcini* with that of the above mentioned host of its adult form

### Material and Methods

My investigations were carried out in the Laboratory of the Marine Biological Association of the United Kingdom in Plymouth. The material used for them was *Sacculina carcini* a common parasite of the crab *Carcinus maenas*. This crab lives abundantly at the bottom of Cattewater, an area adjoining the estuary of the river Plym. Accordingly to the tides the level of the water and the degree of water salinity in this area undergo considerable daily fluctuations. The crabs after being brought into Laboratory were deprived of their parasites immediately or were kept with the latter in the tanks with the current sea water.

The experimental as well as the test cultures of the development stages of *Sacculina carcini* were kept in round glass vessels, so called »fingerbowls«, which are commonly used in the Plymouth Laboratory for the cultivation of minute marine organisms. The volume of the culture fluid amounted in most cases to 100 ccm. It proved improper to keep the cultures in smaller amounts of fluid. In spite of the change of the fluid cytolysis often occurred in cultures of a smaller volume. Each bowl was covered with a glass plate to prevent evaporation.

As culture fluids were used: a) for the test cultures: seawater brought every day to the Laboratory from the open sea outside of the harbour area, b) for the experimental cultures: solutions of sea water in distilled water, solutions of one inorganic salt (NaCl), and mixtures of sea water with these salt solutions. For the preparation of the solutions was used water which was distilled in a special apparatus for purposes of physiological in-

vestigations; the experimental salts were used in a quality corresponding to the continental »purissimum«.

I wish to express my best thanks to the Director of the Laboratory in Plymouth, Dr. E. J. Allen F. R. S., for granting me a place in the Laboratory and for all facilities he most kindly put at my disposal during my stay there. I am also indebted to the Members of the Staff for their kind readiness they showed me always in facilitating my work. My indebtedness is due to the Polish Ministry of Education whose subsidy made me possible my work in Plymouth Laboratory.

### **Extrusion of the eggs of *Sacculina* into the mantle cavity and development in the normal sea water**

The organisation and development in the genus *Sacculina* have been described with great detail by a number of authors (E. van Beneden (2), A. Giard (6), Y. Delage (4), P. Abrie (1), G. Smith (16)); as the most important and fundamental can be regarded the works of Y. Delage (4) and G. Smith (16).

In *Sacculina* which is hermaphrodite like other Rhizocephala, the eggs are laid from the ovaries into the mantle cavity where they undergo the fertilization by spermatozoa of the same animal, passing also in that time from the testes into the mantle cavity. The fertilised eggs do not lie loosely in that space but are contained in the branched tubes which are formed of a delicate transparent membrane and are divided into small compartments by means of numerous transverse membranous septa. Each compartment contains one egg which passes inside it the whole period of its development till the Nauplius stage. Having attained this stage the lively freely swimming larva leaves the bursting compartment and subsequently the maternal mantle cavity. Contrary to the view of the former authors that the membranous walls of the egg-tubes are formed of the slime secreted by the colleteric glands, Delage supposed that these tubes represent the moulted lining of the colleteric glands itself, that their origin is thus solid and not fluid. G. Smith has stated however, that the eggs are surrounded and glued together by the glutinous slime, when passing the colleteric glands on their way from the ovaries into the mantle cavity and that this slime while solidifying assumes the shape of the walls of the elongated and branched egg-tubes.

I have had many times the opportunity of observing the formation of the egg tubes in the above manner. If the mantle cavity was opened in the moment of the extrusion of the eggs from the colleteric glands and these eggs were immediately transferred with the sea water onto a watch glass, at first no envelope was to be seen around them. After a space which sometimes can be measured in minutes, there appears on the circumference of the egg an irregularly and quickly swelling colourless and transparent envelope, which soon assumes a rounded regular shape and the diameter of which surpasses considerably the diameter of the egg (Fig. 1, 2, 3). If the artificially extracted eggs remain

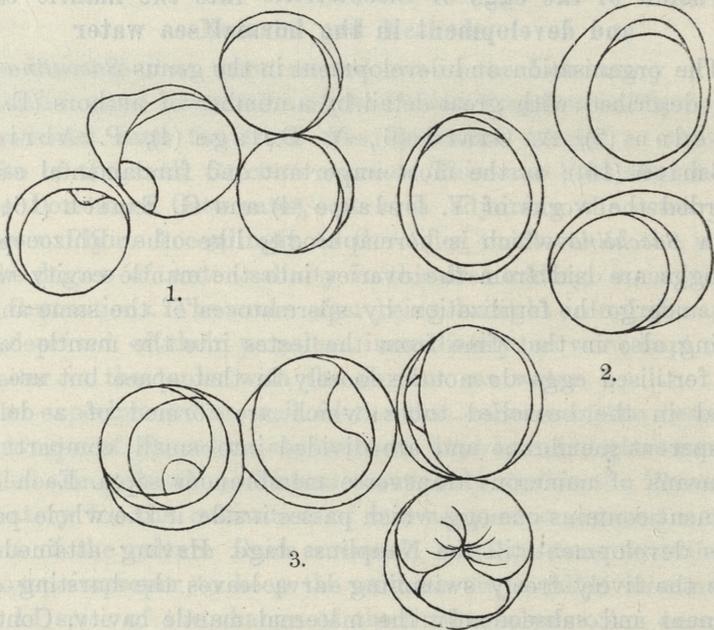


Fig. 1<sup>1)</sup>. Formation of a glutinous envelope around the eggs of *Sacculina carcini* extracted from the mantle cavity immediately after having been extruded into it.

Fig. 2. Formation of a glutinous envelope around the eggs of *Sacculina benedeni* extracted from the mantle cavity like the eggs of *S. carcini* from Fig. 1.

Fig. 3. Formation of the glutinous envelope and beginning of cleavage in the eggs of *Sacculina benedeni* extracted during their passage from the colleteric glands into the mantle cavity.

<sup>1)</sup> All figures were drawn by Abbe drawing apparatus, enlargement about  $\times 150$ .

close to each other these envelopes become glued together into complexes assuming the shape of flattened flakes; in natural conditions in the mantle cavity the freshly laid egg masses have the form of branched tubes repeating the branched form of the colleteric glands through which they are forced on their way from the ovaries. The formation of the above mentioned envelopes »in vitro« could be seen only in cases when the eggs were extracted in the moment of passing from the colleteric glands into the mantle cavity (it is of course possible to hit upon this moment only when a great number of specimens are dissected). Single eggs which had been isolated immediately after the extrusion acquired no envelope. These various phenomena indicate that the walls of the egg tubes have really their origin in a fluid or semifluid substance, which subsequently solidifies. This outer envelope is not without significance for the development in the eggs of *Sacculina* as has been proved in artificial cultures.

At the beginning I carried out a number of test cultures in order to examine whether the eggs of *Sacculina* can develop outside of the mantle cavity which plays in these animals a protective rôle similar to that played by the brood pouch in planctonic Cladocera. Having cut off the parasite from the abdomen of the crab I dissected the mantle of *Sacculina* and transferred the tubes with eggs or embryos to the vessels with a culture fluid. For the test cultures was used sea water of normal concentration. If the necessary precautions were kept (the water was changed), the eggs being artificially extracted from the mantle cavity soon after passing into it i. e. before undergoing the first division of the cleavage, passed normally through the whole of the embryonic development till the Nauplius stage. Of this complete development however proved capable only the eggs which remained closed in the egg tubes; the loose eggs, cultivated outside of the tubes perished before the completion of the development. Of the eggs which remained in the tubes only a part completed their development normally whereas the eggs left in natural conditions, i. e. in the living maternal organism, all or nearly all attained the Nauplius stage. This circumstance would indicate, that the tube walls have a certain protective value for the developing eggs, though they cannot protect them entirely against some deleterious

influences from outside. It is evident therefore, that in principally the complete embryonic development in *Sacculina* is possible outside of the mantle cavity, but that in the early embryonic stages the mantle cavity affords protection against unfavorable external conditions.

The freshly laid eggs are very sensitive and therefore when isolated it is much more difficult to cultivate them than the eggs extracted from the mantle cavity in a later stage (a similar sensitiveness has been observed formerly in artificial cultures in the summer eggs of Cladocera, which have been extracted from the maternal brood pouch in the earliest stage of development (Ramult (14)).

The eggs of *Sacculina* which had been taken out of the mantle cavity in the 4 blastomeres stage (1-to 2 days after passing into the mantle cavity) attained the Nauplius stage in much greater percentage. The eggs which had been transferred to the artificial culture in a still later stage, (the stage of rudiments of extremities) completed their development successfully and the escaping of the Nauplii out of the egg membranes proceeded without difficulty; the liberated, freely swimming larvae, owing to the positive phototropism characteristic also for the Nauplii of other Cirripeds e. g. *Balanus* (vid. Loeb (12)), gathered towards the light like the normal Nauplii freshly extracted from the mantle cavity of a living *Sacculina*.

The rate of development in the eggs kept in artificial cultures did not seem to depend upon the stage in which they were transferred from the mantle cavity to the culture. A certain difference in the rate of development was to be noticed between the eggs which were extracted from the mantle cavity and those which were left in it. I noticed this difference in the related species *Sacculina benedeni*<sup>1)</sup>: in the embryos extracted in an early stage from the mantle cavity and placed in a vessel with seawater the Nauplius eye rudiment appeared in the time when the embryos, which had been left in the mantle cavity of the same adult specimen, did not yet possess this rudiment. (The *Sacculina*

<sup>1)</sup> For purposes of comparison I availed myself in the present work of some observations which I had made formerly in the Zoological Station in Naples on the species *Sacculina benedeni* parasite of *Pachygrapsus marmoratus* and *Peltoaster paguri* parasite of *Eupagurus prideauxii*.

in this case was not cut off from the host and the wall of its mantle cavity was only very slightly dissected to avoid damaging of the parasite organism). One could speak therefore of a certain acceleration of the development in the artificial culture; the cause of this acceleration may lie however in the difference of the temperature, as the maternal *Sacculina* with its host remained in running water, which was cooler than that used for the egg cultures.

The behaviour of the eggs which were extracted not from the mantle cavity but from the ovary is different. These ovarian eggs, according to the age vary in size; for a short time before they leave the ovary they attain the final size and they differ externally from the eggs, which have passed into the mantle cavity, by the presence of a minute additional cell, which has been described by v. Beneden and Y. Delage (2, 4). This cell probably falls off during the passage of the eggs into the mantle cavity. Obviously such eggs transferred into sea water do not develop and sooner or later are subject to cytolysis. If however they are extracted in the last stage before leaving the visceral sac (probably during the passage through the colleteric glands) and subsequently transferred into sea water, not only an envelope from the secreted slime is formed around them, but they also pass the first initial stages of the cleavage. I noticed this phenomenon in the eggs of *Sacculina carcini* as well as in *S. benedeni* (Fig. 3). This limited cleavage lasting 1 to 2 days did not proceed beyond the 4-cell stage.

#### **Development in hypotonic and hypertonic sea water.**

The experimental cultures of the *Sacculina* eggs were to elucidate: 1) in what scale of concentration of sea water the development of these eggs outside of the mantle cavity of the maternal individual is possible. 2) what specific influence upon this development is exercised by solutions containing only one component of sea water.

To obtain the answer to the first question there were arranged series of cultures with sea water of three kinds: 1) of normal concentration (test cultures corresponding more or less to 3.5% NaCl), 2) hypotonic, and 3) hypertonic cultures. The hypotonic solutions were obtained by diluting sea water with distilled water,

the hypertonic solutions by adding an adequate quantity of the 1-molar solution of NaCl to the normal sea water. The hypotonic solutions were used in the concentrations of 90, 80, 70, 60 and 50% of the normal sea water which correspond to the following percentages of salt contents: 3.15, 2.80, 2.45, 2.10 and 1.75%. The hypertonic solutions were used mostly in two degrees of concentration, corresponding to the salt percentages: 4.075 and 4.65%. In one series of the experimental cultures were used also solutions of intermediate concentrations corresponding to the salt contents: 4.22, 4.36 and 4.5%.

All cultures of a given series contained material derived from the same individual of *Sacculina*.

Results of the cultures as to the influence of salt concentration upon the development were following:

in the hypotonic cultures of a higher concentration (90, 80, 70% sea water) the development proceeded as in the normal sea water with a certain delay however which was the more evident the lower the concentration of the culture medium:

by way of example: a comparison of cultures with normal and with 70% sea water, series 13.

Time elapsed since the beginning of the culture	Stage attained in normal sea water	Stage attained in 70% sea water
18 hours	4-blastomeres stage	2-4 blastomeres stages
66 hours	multicellular stage	4-blastomeres stage
240 hours (10 days)	rudiment of Nauplius eye, extremities developed	eyeless stage, rudiments of extremities

(Compare Fig. 4-5).

The eyeless stage with rudiments of extremities was the last stage of development in 70% sea water in my cultures, if the cultivated eggs were taken out of the mantle cavity before the beginning of the cleavage. In this case the retardation of the development could not be influenced by temperature, as all the experimental cultures were kept in uniform room temperature.

In a thinner dilution of sea water I did not notice in the eggs, which had been taken out of the mantle cavity before the

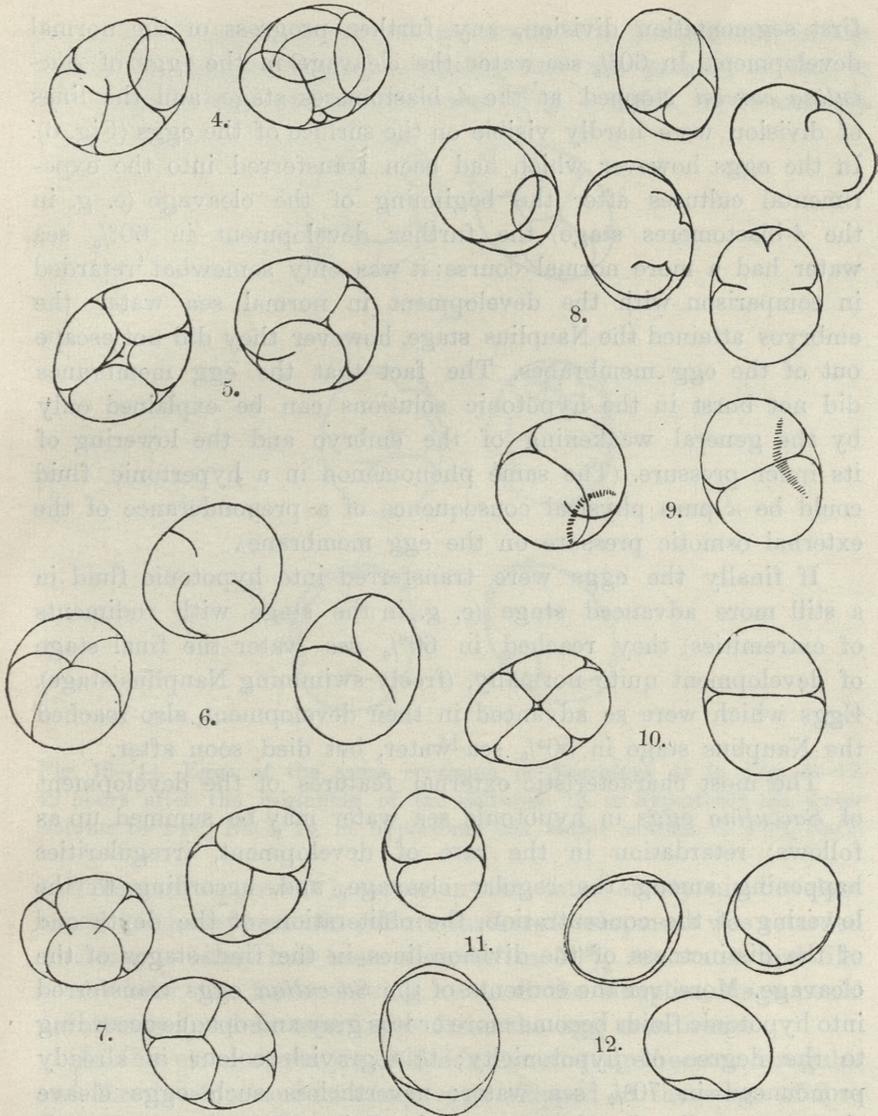


Fig. 4—12. Cleavage in the eggs of *Sacculina carcini* extracted from the mantle cavity soon after passage out of the ovary and reared in the artificial cultures, about 24 hours after the beginning of the cultures: 4. in normal sea water, 5. in 70% sea water, 6. in 60% sea water, 7. in hypertonic sea water isotonic to 4.1% NaCl, 8. in hypertonic sea water isotonic to 4.6% NaCl, 9. in 3.5% NaCl solution (isotonic to normal sea water), 10. in 2.45% NaCl solution isotonic to 70% sea water, 11. in 4.1% NaCl solution, 12. in 4.6% NaCl solution.

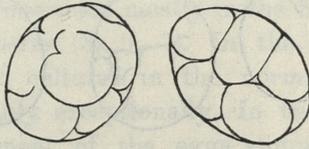
first segmentation division, any further progress of the normal development. In 60% sea water the cleavage in the eggs of *Sacculina carcini* stopped at the 4 blastomeres stage, and the lines of division were hardly visible on the surface of the eggs (Fig. 6). In the eggs however which had been transferred into the experimental cultures after the beginning of the cleavage (e. g. in the 4-blastomeres stage) the further development in 60% sea water had a more normal course; it was only somewhat retarded in comparison with the development in normal sea water; the embryos attained the Nauplius stage, however they did not escape out of the egg membranes. The fact that the egg membranes did not burst in the hypotonic solutions can be explained only by the general weakening of the embryo and the lowering of its inner pressure. (The same phenomenon in a hypertonic fluid could be a pure physical consequence of a preponderance of the external osmotic pressure on the egg membrane).

If finally the eggs were transferred into hypotonic fluid in a still more advanced stage (e. g. in the stage with rudiments of extremities) they reached in 60% sea water the final stage of development quite normally, (freely swimming Nauplius stage). Eggs which were so advanced in their development, also reached the Nauplius stage in 50% sea water, but died soon after.

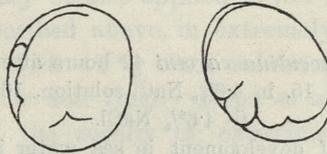
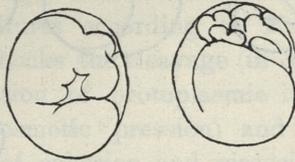
The most characteristic external features of the development of *Sacculina* eggs in hypotonic sea water may be summed up as follows: retardation in the rate of development, irregularities happening among the regular cleavage, and, according to the lowering of the concentration, the obliteration of the depth and of the distinctness of the division lines in the first stages of the cleavage. Moreover the contents of the *Sacculina* eggs transferred into hypotonic fluids become more or less gray and opaque according to the degree of hypotonicity; this grayish colour is already pronounced in 70% sea water; nevertheless such eggs cleave almost normally. In the hypertonic fluids this phenomenon is imperceptible no matter whether the eggs have the ability to develop or not.

In the hypertonic fluids the embryonic development had a varying course depending upon the concentration. In sea water solution of a concentration corresponding to 4.075% NaCl, which had been prepared by an addition of 25 parts of 1/m NaCl so-

lution to 75 parts of normal sea water, the development in the first few days proceeded normally, and was parallel to that in the cultures with normal sea water (Fig. 4 and 7, 13, 18 and 19).



13.



14.

Fig. 13-14. Eggs of the same specimen of *Sacculina* as in Fig. 4-12, 42 hours after the beginning of the cultures: 13. in hypertonic sea water isotonic to 4.1% NaCl, 14. in hypertonic sea water isotonic to 4.6% NaCl.

A difference appeared however in the later embryonic development; in the hypertonic culture further development was retarded similarly to what had been observed in 70% sea water and like in the later the larvae having attained the Nauplius stage could not escape by their own forces from the egg membranes.

In the more concentrated fluids the cleavage became irregular and the development in many eggs stopped in the stage of 2 or of 4 blastomeres. The series of cultures, of a concentration corresponding to 4.22, 4.36 and 4.5% NaCl, did not give uniform and clear results (the differences in development among the eggs of each culture were rather great). But in the sea water solution with a concentration corresponding to 4.64% NaCl, normal development even in the initial period was no more possible, the cleavage in rare cases attained the stage of 4 blastomeres, usually

it stopped earlier and many irregularities appeared as e. g. a division in 2 or 3 unequal blastomeres, or the division of one

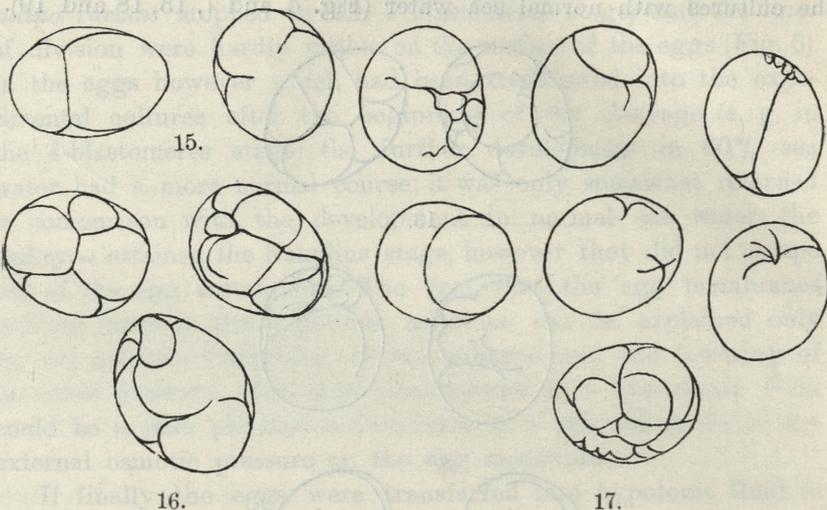


Fig. 15—16. Eggs of *Sacculina carcini* 42 hours after the beginning of the cultures (another series): 15. in 4.6% NaCl solution, 16. in sea water isotonic to 4.6% NaCl.

Fig. 17. Final stages of development in sea water isotonic to 4.6% NaCl.

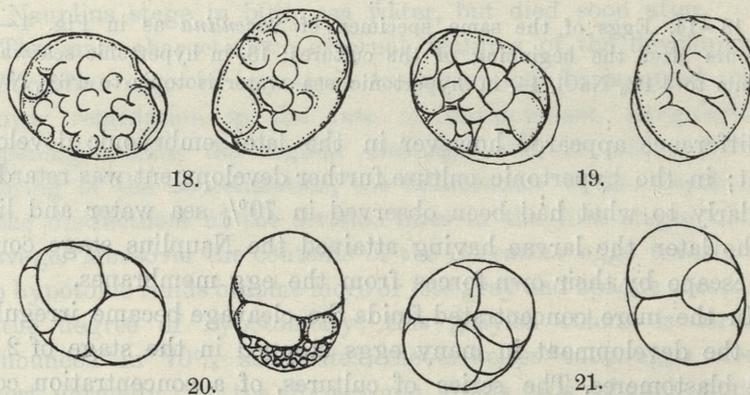


Fig. 18—21. Eggs of *Sacculina carcini* 102 hours after the beginning of the cultures: 18. in normal water, 19. in sea water isotonic to 4.1% NaCl, 20. in sea water isotonic to 4.6% NaCl, 21. in 3.5% NaCl solution (isotonic to normal sea water).

blastomere into a number of small parts whereas the other one remained undivided (Fig. 8, 14, 16, 17, 20). (In the normal cleavage

the multicellular division at the animal pole of the egg follows the regular and nearly equal 4-cell stage). P. Abric had observed irregularities of the cleavage in the *Sacculina* eggs in normal sea water (1). They consisted mostly in the formation of unpaired numbers of blastomeres (3, 5, 7). In the series which I have described above test cultures in the normal sea water showed such irregularities only exceptionally. In the hypertonic cultures even if the development of the eggs stopped in the first stage or if they did not cleave at all they did not undergo the cytolysis and retained for a longer time a fresh and clear appearance.

In hypertonic cultures according to Fauré-Fremiet the direct factor which checks the cleavage (in *Sabellaria* eggs) seems to consist in diminution of protoplasmic imbibition (evoked by the increased outer osmotic pressure) and consequently in an exaggerated increase of cohesion and viscosity inside the egg (5). This explanation may be also applied to the cleavage of *Sacculina* eggs which, as described above, in extremely hypertonic cultures (sea water isotonic with 4.6% NaCl solution) proceeds in a slow and irregular manner and finally stops at an early stage.

On the base of the results of experimental cultures in sea water solutions it may be accepted that the scale of sea water concentration in limits of which it is possible for the eggs of *Sacculina* to attain complete embryonic development till the Nauplius stage is from 2.6% to 4.075% (at least) of mineral contents. Of course these limits can be corrected by using instead of the named above extreme solutions of the experimental scale the solutions of somewhat different concentration. From the present results one may however conclude that the capability for development in the eggs of this species is less affected by hypotonicity than by hypertonicity in relation to normal sea water (3.5%). It seems to remain in accordance with the proved fact that the host of *Sacculina carcini* the *Carcinus maenas* can live in sea water of a degree of salinity below normal.

#### Cleavage of *Sacculina* eggs in sodium chlorid solutions

In the experimental cultures described above the essential fluid was sea water with well defined physical and chemical properties. The salinity of the sea water in the Plymouth Sound amounts to about 3.5%; sometimes in the upper 5 meters of its

surface layer it drops to 3.36‰ (L. H. N. Cooper). The chemical compound of this water according to the data published by some English authors (Atkins, Cooper (3)) does not differ on an average from that of other seas with normal salinity. pH measured colorimetrically 8.1 to 8.2.

In hypotonic and in hypertonic experimental cultures the change in the osmotic pressure of the external medium was introduced as a factor influencing development. However with the methodics used in these experiments it was difficult to avoid introducing changes of other factors which could possibly play a secondary rôle in influencing the development. These changes were: 1) in the hypertonic fluids the addition of a certain amount of NaCl solution which changed the proportion of the sea water components in favour of the NaCl, 2) both in the hypo- as in the hypertonic fluids decrease of the value of pH. This second change could be the consequence of the circumstance that both in the distilled water used for the hypotonic fluids and in the NaCl solution used for the hypertonic cultures pH is much lower than in sea water (below 7.0). The pH value in experimental 60‰ sea water isotonic with 2.10‰ NaCl, and in sea water solution isotonic with 4.65‰ NaCl drops below 8.0. Further experiments were necessary therefore in order to examine whether these secondary changes occurring in the experimental cultures besides the change of concentration contributed in any noticeable manner to the influencing the course of embryonic development.

As to the presumable influence of the increased percentage of NaCl in the hypertonic experimental solutions some light upon this question could be thrown by the results of the cultures of *Sacculina* eggs in pure NaCl-solutions. As is well known since the classic researches of S. Ringer (in 15), J. Loeb (10, 11), E. Herbst (7), W. Ostwald (13) and many other investigators carried out on various marine as well as freshwater organisms, Na ions exercise a decidedly toxic action upon the vital processes unless balanced by the counteraction of an appropriate, strictly defined amount of certain other kations (in the natural sea water by K and Ca ions).

From a general point of view the hypertonic sea water solutions used in experimental cultures of *Sacculina* eggs which were prepared by addition of 1/m NaCl solution to normal sea

water could exercise only a very slightly poisonous action by their increased percentage of NaCl. The normal proportion of potassium to sodium ions in natural sea water calculated in chlorids (KCl:NaCl) is about 1:45 of molar units. According to the results of Loeb's experiments the coefficient of antagonisation KCl:NaCl is about 1:125 (the presence of 1 molar unit of KCl renders harmless toxic action of 125 molar units of NaCl in experimental solution (9)). In the extreme hypertonic sea water solution used for the cultures of *Sacculina* eggs of the concentration corresponding to 4.65% NaCl solution and prepared by addition of 50 parts 1/m NaCl to 50 parts normal sea water the relation KCl to NaCl was about 1:130 in molar units. Thus the amount of potassium ions in these cultures was nearly sufficient for the counteraction of poisonous influence of Na ions.

At any rate observations done on *Sacculina* eggs cultivated in pure NaCl solutions were necessary in order to elucidate in the direct way whether the increased amount of NaCl acts really poisonously in hypertonic solutions of sea water. The toxic action of Na ions manifests itself as a rule in checking the development of the eggs in an early stage. From the comparison of the character of the limited development in hypertonic sea water solutions and in pure NaCl solutions of various concentrations (external appearance of the eggs, rate and character of the cleavage) one can estimate whether in these experimental hypertonic sea water cultures described above the increased percentage of NaCl could play really any rôle.

Pure NaCl solutions were used as experimental fluids in concentrations analogical to those of the sea-water solutions described above i. e.: 2.45% (isotonic with 70% sea water), 2.8% (isotonic with 80% sea water), 3.15% (isotonic with 90% sea water), 3.5% (isotonic with normal sea water), 4.075% and 4.65%. The pH of these solutions did not differ much from the pH of distilled water; its value did not attain 7.0.

The cleavage in freshly laid *Sacculina* eggs did not proceed in NaCl solutions beyond the 4-cell stage. The most regular was the course of the initial cleavage in NaCl solution isotonic with normal sea water (3.5%); it stopped however at the 4-cell stage (Fig. 9, 21). In the solutions of lower concentration the initial cleavage proceeded in general parallelly to that in sea water of

isotonic concentrations e. g. in 2.45% NaCl solution parallel to isotonic 70‰ sea water, it stopped however also at the 4-cell stage, and in most cases did not even attain this stage (Fig. 10).

In the hypertonic solutions the difference in the development between NaCl solutions and the isotonic sea water solutions was much pronounced at the very beginning: in 4.075% NaCl solution the cleavage attained only the 2 to 3 cells stage (Fig. 11) (in the isotonic sea water solution the development attained the Nauplius stage), and in the 4.65% NaCl the irregular depressions on the surface of the egg were scarcely marked, in exceptional cases only did the eggs pass through the first segmentation division (Fig. 12, 15). In *Sacculina* eggs undergoing a cleavage in NaCl solutions isotonic or slightly hypotonic to normal sea water the division lines were distinctly marked like in the eggs developing in normal sea water and the external appearance of the eggs was clear and normal. After 4 or 5 days of development however, which did not proceed beyond the 4-cell stage, the eggs were subject to the cytolysis.

The comparison of the cleavage in hypo- and hypertonic NaCl solutions with cleavage in the analogically concentrated solutions of sea water shows 1) that for the stopping of the development in NaCl solutions, the changes of concentration are responsible only in extreme cases (at both ends of the experimental concentration scale), and 2) that in the cultures in NaCl solutions of a concentration equal or near that of normal sea water (intermediate part of the experimental concentration scale) the checking of development has another character than that in strong hypertonic sea water solutions. Whereas in the latter the cleavage from the very beginning is delayed and irregular, in NaCl solutions isotonic or hypotonic to the normal sea water the first 2 divisions proceed regularly and with normal rapidity and subsequently the development stops. Thus the phenomena connected with the checking of development of *Sacculina* eggs in hypertonic sea water solutions (4.65‰ of salinity) do not seem to be evoked by the specific toxic action of NaCl.

The influence of another factor presumably contributing to the checking of the development in hypo- and hypertonic sea water solutions viz. of a certain decrease of pH in those solutions is very little probable. The drop of pH in the experimental cul-

tures of *Sacculina* eggs kept in the above solutions did not exceed a few tenths of the unit of the pH scale (in relation to the pH value of normal sea water). The results of investigations of a number of authors, carried out on marine animals belonging to various systematic groups, prove however that the deleterious influence of hydrogen ions concentration on the development of eggs begins near the neutral point in the acid section of the pH scale (experiments of Clowes and Smith (17) on the eggs of *Asterias* and *Arbacia*, of Fauré-Fremiet (5) on the eggs of *Sabellaria*, of Vlès, Dragoiu and Rose (18) on the eggs of *Paracentrotus*). This may be in connection with the fact that the pH of the developing eggs of marine invertebrates is lower than that of sea water and is near the neutral point (pH of the developing *Sabellaria* egg according to Fauré-Fremiet is near 7.0).

With respect to the facts mentioned above no noticeable rôle can be ascribed either to the increased percentage of NaCl or to the decrease of pH value as to the factors checking the development in the above experimental cultures in sea water solutions. The checking factor in the cultures of *Sacculina* eggs in sea water solutions is to be looked for almost exclusively in the changes of osmotic pressure depending upon the changes of concentration of mineral salts in experimental medium.

As to the cultures in pure NaCl solutions described in the present chapter two factors could play a rôle in checking the development of *Sacculina* eggs: the specific toxic action of Na ions and the considerable decrease of pH of these solutions in comparison with the pH of normal sea water (below 7.0). In order to find out whether the toxicity of not balanced Na ions could be regarded as the chief or perhaps the only checking factor in cultures of this kind, one ought to separate artificially the above mentioned two factors: the decrease of pH from the specific action of NaCl.

The action of the decreased pH could be excluded by an appropriate alkalisiation of the solutions. I did this by adding to the experimental solutions strictly measured off quantities of the  $\frac{1}{100}$  m solution of NaOH (by addition of this reagent no new kation was introduced into the cultures). The pH value in the NaCl solutions alkalisied in this way could be established for 7.3 to 7.4 (immediately after alkalisiation the pH of NaCl solutions

was of course higher and attained the value of pH of normal sea water). By using this method it was possible to obtain only experimental cultures with NaCl solutions, the pH of which had an intermediate value between the pH of neutral NaCl solution (below 7.0) and the pH of sea water (8.1 to 8.2). These alkalisied experimental NaCl solutions did not exercise however any improving influence upon the cleavage of the *Sacculina* eggs. In the NaCl solutions of the concentrations 2.45%, 3.5%, 4.075% and 4.65%, the pH of which was raised artificially to 7.3 to 7.4, the cleavage proceeded as in the neutral solutions. The development stopped in those solutions also as in the neutral NaCl solutions i. e. before the first or second segmentation division, and in the best cases at the 4 cell stage.

In the experiments cited above could not be used NaCl solutions of a concentration of H ions equal to that of the sea water (pH = 8.2). When considering however the fact that the artificial increase of the pH of those solutions to 7.4 is of no perceptible influence for the process of egg cleavage, one can suppose that in the development checking action in the above described NaCl cultures the decrease of pH plays only a secondary rôle. What is to be regarded as the main checking factor is specific toxic action of Na ions not balanced by the counteraction of other kations. In the experimental cultures with pure NaCl solutions the development checking factor can consist in this toxicity of Na ions as regards the solution isotonic with normal sea water, and in the combined action of Na toxicity and of abnormally decreased or increased osmotic pressure as regards the hypo- and hypertonic NaCl solutions. This addition of two deleterious factors is well noticeable in 4.65% NaCl solution in which the cleavage of *Sacculina* eggs is much more rudimentary than in the hypertonic sea water of the same concentration.

In connection with the fact that the two first segmentation divisions in *Sacculina* eggs cultivated in pure NaCl solution isotonic with normal sea water proceeded apparently regularly and with normal rapidity, may be mentioned the opinion of Herbst (7) that the developing egg makes in such cases use of the small reserve of substances lacking in the surrounding medium and contained in the egg itself i. e. of various other constituents of natural sea water. Moreover this initial cleavage in pure NaCl so-

lutions proceeding normally in spite of their low pH (below 7.0) may prove that the differences in the pH value in experimental cultures of *Sacculina* eggs (from about 6.6 to 8.2) are of no noticeable importance for their first period of cleavage. This fact seems to be in accordance with observations made by several authors (as mentioned already in this chapter) on the cleavage of eggs of various marine animals (Starfishes, Sea urchins, Polychaeta), which can stand the decrease of pH of the culture fluid till below 7.0.

### Metamorphosis of *Sacculina* larvae in a changed osmotic medium. General remarks

Having attained the Nauplius stage the larvae of *Sacculina* escape from the maternal mantle cavity and pass over to planktonic life. During this short period of their life lasting 4 to 5 days they take no food having no developed intestinal duct. During this period the larva undergoes a metamorphosis which ends with their attaining the Cypris stage. Also in the artificial cultures with normal sea water in laboratory conditions the *Sacculina* larvae can be brought to the Cypris stage. Usually a limited percentage only of the cultivated larvae attain this stage. The Cypris larvae are not capable of independent life; they perish in a few days unless they find a host i. e. young, freshly moulted *Carcinus maenas*. These circumstances were investigated and described with great detail by Y. Delage (4).

My experimental cultures contained also this period of development in *Sacculina*; in some cultures the embryos were brought through the greater part of the non-parasitic period of their life starting from the earlier embryonic till the Cypris stage. This was possible however only in sea water of normal concentration, e. g. the embryos of *Sacculina carcini* closed in egg membranes taken from the mantle cavity in the eyeless stage with the rudiments of extremities (6 to 8 days after passing from the ovary) attained the Nauplius stage during the 6 following days, then in 4 or 5 days they passed through their metamorphosis to the Cypris stage, the Cypris larvae remained alive during two following days (Fig. 22—23). In other culture fluids both hypo- and hypertonic, which in previous experiments proved not to check the embryonic development, as sea water isotonic with 2.45% NaCl, the development stopped as a rule at the Nauplius stage.

The transformation into Cypris stage was possible however in artificial cultures in Nauplius larvae freshly taken out of mantle cavity just after their hatching in natural conditions; the regular metamorphosis of such Nauplii was observed in hypotonic solutions of sea water of a concentration corresponding to 90%, 80% and 70% of normal sea water (Fig. 24).

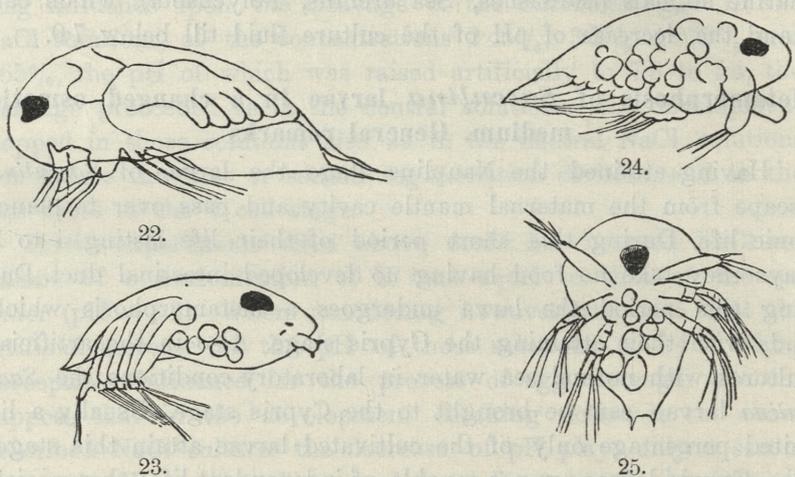


Fig. 22—23. Larvae of *Sacculina carcini* reared in a sea water culture outside the mantle cavity — the culture started from the blastoderm stage.

22. Metanauplius stage. 23. 3 days later: Cypris stage.

Fig. 24—25. Larvae of *Sacculina carcini* after 5 days cultivation in hypotonic sea water solutions — the culture started from Nauplius stage while still closed in egg tubes. 24. In 90% sea water (Cypris stage). 25. In 50% sea water (Nauplius stage).

In less concentrated sea water (60% and 50%) the larvae lived as in the above mentioned more concentrated solutions 4 to 5 days but they were weakened and did not outlive the Metanauplius stage (Fig. 25).

These facts concerning the larval development in *Sacculina carcini* seem to confirm the observations on the embryonic development of the same species described in the preceding chapters. Taking account of these facts concerning the behaviour of eggs, embryonal stages and larvae in solutions of various degrees of concentration one can ascribe to the species *Sacculina carcini* in its embryonic as well as in larval period of life an euryhalinity

of a limited degree. The concentration scale of the latter extends more towards hypotonicity than towards hypertonicity with regard to the normal concentration of sea water.

The limited euryhalinity in the young stages of the investigated parasitic species can be in connection, as has been mentioned in the introduction to this paper, with the resisting power of its host *Carcinus maenas* to the changes of salinity in the surrounding medium. In general the Cirripeds, to which the parasitic Rhizocephala belong, are not characterised by a large scale of euryhalinity. As exceptions in this respect may be regarded some Balanids, as e. g. *Balanus improvisus*, the species living in the Baltic Sea, or *Balanus iberneus*, the Nauplii of which according to Loeb (12), can stand changes in concentration of sea water ranging from  $\frac{1}{8}$  to  $1\frac{1}{2}$  of the normal concentration. The Balanids however, are non-parasitic animals and as such are physiologically independent of other organisms. The cause of their euryhalinity should be looked for in the physiological properties of their own tissues which can adapt themselves to the changing osmotic pressure of the external medium. *Sacculina carcini* on the contrary is an endoparasitic organism living in a poikilosmotic host (marine Invertebrate), but is partially exposed to external influences. The osmotic properties of its tissues must be adjusted to the osmotic conditions of the inner medium of its host surrounding its root system which penetrates throughout the body of this host, and at the same time must be resistant to the influences of the external medium to which the outer part of its body containing the gonads is exposed. Thus the euryhalinity of this animal consists not only in the direct adaptation to the changing osmotic conditions of the outer medium but also in the adaptation to the inner medium of its euryhalinic host.

### Summary

1) The eggs of *Sacculina carcini* (and some related species of Rhizocephala) can develop normally in sea water outside of the maternal mantle cavity if taken out of the latter in the first stage before the beginning of the cleavage, and can attain in these artificial conditions the Nauplius stage, if left in the egg tubes, formed by the solidified slimy excretion of the colleteric glands.

2) The eggs of *Sacculina carcini* can pass their development, from the first stage of cleavage till the Nauplius stage, in hypotonic and hypertonic sea water solutions, comprised in the concentration scale of about 2.45‰ to 4.075‰ (at least) of mineral constituents.

3) In more hypotonic sea water solutions (2.10‰, 1.75‰) the *Sacculina* eggs can develop and attain the Nauplius stage if transferred into them from normal sea water in the 4-blastomeres or a later stage. Thus the later stages seem to have a greater resisting power against the influence of hypotonicity of external medium than the freshly laid eggs.

4) In pure NaCl solutions the *Sacculina* eggs can develop only to the 4-cell stage. This initial period of development has a regular course, in the concentration limits from 2.45‰ to 4.075‰ (at least).

5) The *Sacculina* eggs extracted from the visceral sac immediately before passing into the mantle cavity can develop when transferred into sea water till the 4-cell stage.

6) The Nauplius larvae of *Sacculina carcini* cultivated in hypotonic sea water solutions can pass the metamorphosis till the Cypris stage in the scale of hypotonicity from 3.5‰ to 2.45‰ of mineral constituents.

7) It can be concluded from the extent of the concentration scale in which the development of the *Sacculina* eggs and larvae is possible that the latter show in general greater power to resist the hypotonic than the hypertonic sea water solutions.

8) The power to resist hypotonicity in the eggs and larvae of *Sacculina carcini* resembles other cases of euryhalinity in the larval stages of free living species of the same systematic group (Cirripeds) e. g. of the Balanids, and presumably remains also in connection with the conditions of life of the host of the investigated species i. e. *Carcinus maenas*, occurring in normal sea water as well as in brackish waters.

From the Institute of Zoology of the Jagellonian University in Kraków,  
Director Prof. Dr. M. Siedlecki.

## Bibliography

1. Abric P. Les premiers stades du développement de la Sacculine C. R. Acad. Sc. Paris 1904. — 2. Van Beneden Ed. Développement de l'oeuf et de l'embryon des Sacculines. (*Sacculina carcini* Thomps), Bull. Acad. Sc. Belg. 1879. — 3. Cooper L. H. N. Chemical constituents of Biological Importance in the English Channel. Nov. 1930 to Jan. 1932. — 4. Delage Y. Evolution de la Sacculine. Arch. de Zool. Exper. 1884. — 5. Fauré-Fremiet E. L'oeuf de *Sabellaria alveolata* L. Arch. Anat. microsc. T. XX. 1924. — 6. Giard A. Sur l'embryologie des Rhizocéphales. C. R. Acad. Sc., Paris 1874. — 7. Herbst Curt. Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. Arch. f. Entwicklungsmechanik Leipzig 1904. — 8. Legendre R. La concentration en ions hydrogène de l'eau de mer. Paris 1925. — 9. Loeb J. und Wasteneys Hardolph. Die Entgiftung von Natriumchlorid durch Kaliumchlorid. Biochem. Ztschr. Berlin 1911. — 10. Loeb J. Über den Mechanismus der antagonistischen Salzwirkungen. Biochem. Ztschr. Berlin 1911. — 11. Loeb J. The rôle of salts in the perservation of life. Science. Vol. XXXIV. 1911. — 12. Loeb J. Webers law and antagonistic salt action. Proc. Nat. Academy of Sciences. V. I. 1915. — 13. Ostwald Wolfg. Studies on the toxicity of sea-water for freshwater animals (*Gammarus pulex* de Geer). Univ. of California Publications Physiol. 1905. — 14. Ramult M. Development and resisting power of Cladocera embryos in the solutions of certain inorganic salts. Bull. Acad. Pol. Sc. et Lett. Cracovie 1925. — 15. Rubinstein D. L. Das Problem des physiologischen Ionenantagonismus. Protoplasma IV. 1928. — 16. Smith G. Rhizocephala Fauna u. Flora des Golfes von Neapel. Berlin 1996. — 17. Clowes G. H. A. and Smith H. W. The influence of hydrogen ion concentration on the fertilization and growth of certain marine eggs. The Amer. Journ. Physiol. LXIV. 1923. — 18. Vlès F., Dragoiu J. et Rose M. Recherches sur le pH d'arrêt de la division de l'oeuf d'oursin. Compt. Rendus Acad. Sc. Paris. T. 176. 1923.
-



*O wartości pokarmowej ziarna Mozgi kanaryjskiej (Phalaris canariensis). — Sur la valeur nutritive de la graine d'Alpiste (Phalaris canariensis).*

Mémoire.

de MM. **F. ROGOZIŃSKI** m. t. et **ZB. GŁOWCZYŃSKI**,

présenté le 6 mai 1935, par M. F. Rogoziński m. t.

L'alpiste, une graminée originaire comme on admet des îles Canariennes, est répandue à l'état sauvage dans l'Europe méridionale, en Espagne et en Sicile. Elle est l'objet d'une culture de quelque importance surtout en Espagne et en Hollande. D'après Becker (1) les cultures de cette plante occupaient en Espagne vers 1923 trois mille hectares environ, en Hollande un mille. Grâce à sa courte période de végétation, l'alpiste peut être cultivé aussi dans les pays d'Europe centrale: on le trouve en Allemagne, dans les environs d'Erfurt, il apparaît sporadiquement en Pologne.

La farine tirée de la graine d'alpiste était employée jadis en Angleterre dans l'apprêtage des tissus de coton. Dans l'Europe méridionale on s'en sert parfois dans la fabrication de la pâtisserie, on l'ajoute aussi à la farine de blé pour la cuisson du pain. La graine d'alpiste trouve enfin une application très générale comme aliment de petits oiseaux, des serins des Canaries en particulier. Récemment on l'a introduite dans l'aviculture, comme un des premiers aliments des poussins, avec un résultat favorable en apparence.

Les données sur la composition de cette graine et sur ses propriétés sont très peu nombreuses dans la littérature scientifique: nous n'y avons trouvé qu'une seule analyse, communiquée par A. Mayer (2) en 1889, ainsi qu'une notice sur la compo-

tion minérale de la graine (3), datant de 1863. Nous avons entrepris quelques expériences sur des animaux pour constater si l'alpiste est en effet un bon aliment, comme on le prétend d'une manière assez générale, s'il se prête comme nourriture première d'origine végétale pour les poussins en particulier. L'analyse de l'alpiste d'origine locale que nous avons eu à notre disposition, exécutée d'après la technique ordinaire, a donné les résultats suivants; nous les plaçons à côté de ceux obtenus par Mayer.

	Notre analyse	Analyse de Mayer
Eau . . . . .	11·87 p. c.	15·1 p. c.
Protéine brute . . . . .	18·05 »	13·8 »
Protéine vraie . . . . .	17·38 »	—
Matière grasse . . . . .	5·86 »	5·4 »
Cellulose brute . . . . .	5·32 »	8·2 »
Substances extractives ternaires	54·99 »	50·7 »
Cendre brute . . . . .	3·91 »	6·8 »

On voit que les graines par nous analysées étaient plus riches en protéine brute et en substances extractives et par contre plus pauvres en cellulose brute et en cendres que celles étudiées par Mayer. Comme l'a déjà constaté cet auteur, la teneur en principes bruts de l'alpiste ne diffère pas sensiblement de celle des graines des céréales.

Nous avons dosé les substances minérales dans un autre échantillon qui contenait 10·41 p. c. d'eau. Des dosages exécutés en double et bien concordants ont donné les résultats suivants:

cendre brute 5·14 p. c., Ca 0·083 p. c., Mg 0·157 p. c., P 0·465 p. c., K 0·374 p. c., Na 0·095 p. c., SiO<sub>2</sub> 3·03 p. c.

Soit en p. c. de la cendre brute: K 7·30, Na 0·19, Ca 1·61, Mg 3·05, P 9·03, SiO<sub>2</sub> 58·9.

Nous retrouvons ici encore les caractères propres à la cendre des céréales: la supériorité quantitative du potassium sur le sodium et du magnésium sur le calcium, ainsi qu'une quantité importante d'acide phosphorique.

La digestibilité de l'alpiste de la composition citée ci-dessus a été étudiée dans une expérience exécutée sur un mouton. On procédait ici de la manière habituelle: l'animal ingérait comme nourriture unique dans la première période de l'expérience du foin, dont la digestibilité a été déterminée; dans la deuxième pé-

riode on ajoutait à la ration 200 g par jour de la graine d'alpiste grossièrement moulue. Chaque période durait sept jours, elle était précédée d'une période préliminaire de sept jours aussi; l'expérience a été répétée. D'après les analyses des fèces dans les deux périodes on a calculé les coefficients de digestibilité pour les différents composants de la graine.

On a trouvé en moyenne les coefficients suivants: substance sèche 90·7, substance organique 91·9, protéine brute 92·6, protéine vraie 92·3, matière grasse 100·0, cellulose brute 63·1, matières extractives ternaires 93·8.

Les coefficients de digestibilité obtenus par nous se rapprochent beaucoup de ceux qu'on trouve dans la littérature pour les graines des autres graminées, par exemple du maïs. La digestibilité de la graine d'alpiste ne diffère donc pas sensiblement de la digestibilité des céréales. La haute digestibilité de la protéine mérite une attention particulière.

Avec de la graine d'alpiste ainsi étudiée sous le rapport de sa composition et de sa digestibilité nous avons entrepris ensuite quelques expériences sur des rats blancs pour déterminer sa valeur nutritive et pour mettre en lumière ses défauts éventuels.

### Expérience 1.

Cette expérience avait pour but l'étude de l'influence qu'exerce une ration composée d'alpiste sur le développement des os. Nous y avons soumis neuf rats provenant de deux portées, âgés de 4 à 5 semaines. Ils ont été répartis en trois groupes, de trois rats chacun. Le régime de chaque groupe était composé de la manière suivante:

	Groupe 1.	Groupe 2.	Groupe 3.
Graine d'alpiste . . . . .	88·0	87·0	87·0
Huile d'olives . . . . .	10·0	10·0	—
Beurre . . . . .	—	—	10·0
Chlorure de sodium . . . . .	1·9	1·9	1·9
Carbonate de calcium . . . . .	—	1·0	1·0
Citrate ferrique . . . . .	0·1	0·1	0·1

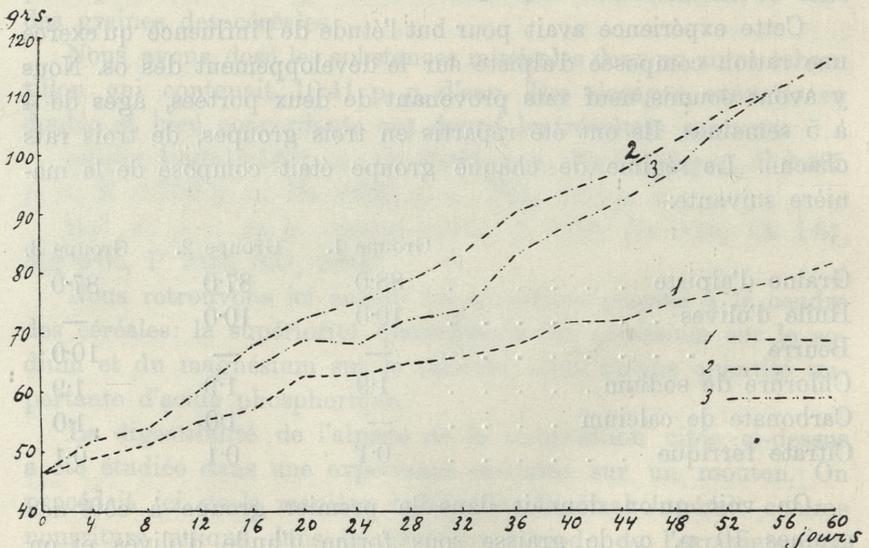
On voit qu'on donnait dans le premier groupe à côté des graines 10 p. c. de graisse sous forme d'huile d'olives et on ajoutait en outre à la ration 1·9 p. c. de chlorure de sodium,

ainsi que 0.1 p. c. de citrate ferrique. Le régime du groupe 2. contenait tous les composants indiqués et en outre 1.0 p. c. de carbonate de calcium, comme source de cet élément. Le régime du groupe 3. enfin ne différait de celui du groupe 2. que par le fait que le beurre y était substitué à l'huile d'olives en quantité équivalente. Comme boisson on donnait aux animaux de l'eau distillée ad libitum.

Une perturbation imprévue a eu lieu au cours de l'expérience, notamment un rat du groupe 3. a péri après 20 jours déjà, sans cause apparente. De cette manière huit rats seulement ont survécu jusqu'à la fin de l'expérience qui a duré 60 jours en somme: trois rats dans chacun des groupes 1. et 2., et deux rats dans le groupe 3. On pesait les animaux individuellement tous les cinq jours. Les poids moyens calculés pour chaque groupe d'après ces pesées servaient à la construction de la courbe de croissance.

Le poids moyen initial était: Groupe 1. 46 g, Gr. 2. 46 g, Gr. 3. 44 g,  
 poids final 82 g, 116 g, 116 g,  
 gain de poids par rat 36 g, 70 g, 72 g.

La courbe de croissance est donnée dans le tracé suivant:



Tracé 1.

Ce tracé démontre que c'est le calcium ajouté au régime qui a exercé une action décisive sur la croissance. Les animaux du groupe 1., privés de ce supplément, croissaient beaucoup moins bien que les animaux des deux autres groupes. On ne peut constater par contre aucune différence entre la croissance du groupe 2. et 3. La substitution du beurre à l'huile d'olives, soit l'augmentation de la vitamine A dans le régime, n'a exercé dans nos conditions aucune influence favorable sur la croissance. La consommation de la nourriture, calculée pour chaque groupe, est en accord complet avec les données ci-dessus. La consommation moyenne par rat et jour, durant toute l'expérience, était égale: dans le groupe 1. à 5.88 g, dans le groupe 2. à 8.67 g, dans le groupe 3. enfin à 8.67 g également.

TABLEAU I.

Nr	Poids g	Sexe	Age, jours	Fémur dégraissé g	Cendre g	En p. c. de subst. sèche	Moyenne
Groupe 1. Alpiste, huile d'olives, NaCl.							
65	92	m.	102	0.1275 0.1179	0.0473 0.0445	37.01 37.74	37.38
68	82	m.	102	0.1183 0.1211	0.0440 0.0443	37.19 36.59	36.89
73	77	f.	90	0.0888 0.0866	0.0343 0.0335	38.63 38.68	38.66
Groupe 2. Alpiste, huile d'olives, NaCl, CaCO <sub>3</sub> .							
64	133	m.	102	0.2587 0.2572	0.1486 0.1476	57.45 57.40	57.43
66	125	f.	102	0.2406 0.2423	0.1485 0.1495	61.73 61.72	61.73
70	96	f.	90	0.1796 0.1769	0.1048 0.1011	58.33 57.15	57.74
Groupe 3. Alpiste, beurre, NaCl, CaCO <sub>3</sub> .							
69	120	f.	101	0.2501 —	0.1552 —	62.05 —	62.05
71	111	f.	89	0.2048 0.2079	0.1224 0.1232	59.75 59.26	59.51

L'expérience terminée, les rats ont été sacrifiés. On sectionna leurs fémurs et, après dessiccation et dégraissage préalable, on les incinéra dans un four électrique.

Le tableau 1. donne la teneur en cendre des fémurs, ainsi que le pourcentage de la cendre dans les fémurs secs dégraissés.

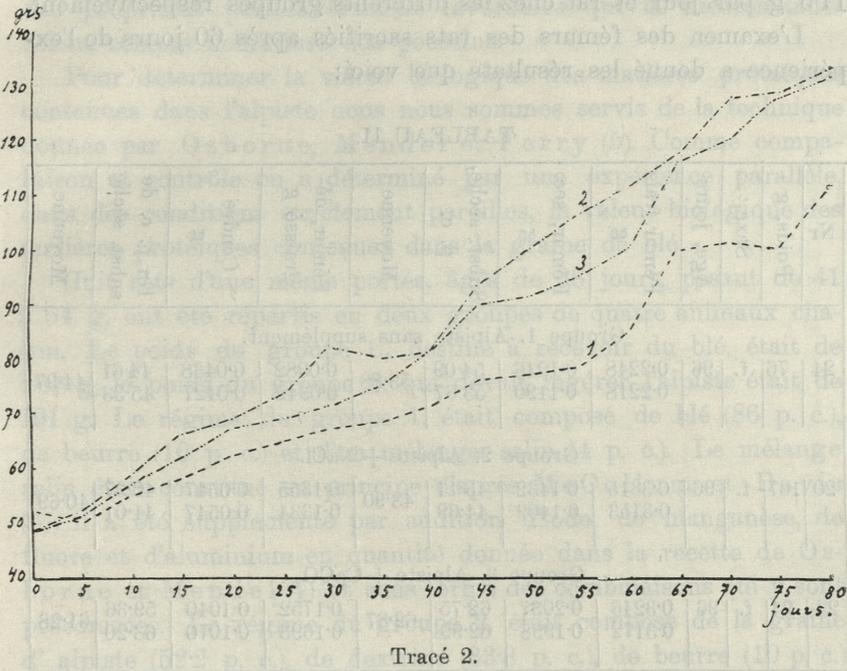
Les données du tableau ci-dessus démontrent d'une manière très claire que chez les rats nourris de la graine d'alpiste sans supplément de sel calcique (groupe 1.) la teneur des fémurs en cendre a été abaissée d'une manière très sensible, jusqu'à 37.64 p. c. en moyenne.

Par contre chez les rats qui ingéraient un supplément de ce sel (groupe 2. et 3.) la teneur en cendre approchait de la normale et montait à 58.97 p. c., resp. à 60.78 p. c. On voit une analogie complète entre ces rats et ceux que nous avons nourris de blé seul dans nos expériences antérieures (4). Pareillement au grain de blé la graine de l'alpiste possède en haut degré la propriété de provoquer le rachitisme expérimental par suite de sa carence en calcium.

### Expérience 2.

Nous avons étudié dans cette expérience l'influence qu'exerce sur la croissance et sur la minéralisation des os une addition soit du chlorure de sodium, soit du carbonate de calcium à un régime composé d'alpiste. Nous nous sommes servis de dix rats, provenant des deux portées différentes, âgés de 30 à 36 jours. Ils ont été répartis en trois groupes. Le groupe 1. comprenait quatre animaux; ils recevaient comme nourriture de la graine d'alpiste (99.9 p. c.) avec du citrate ferrique (0.1 p. c.). Le régime était carencé de cette manière aussi bien en chlorure de sodium qu'en calcium. Le régime du groupe 2. (trois rats) était composé d'alpiste (98.0 p. c.), de chlorure de sodium (1.9 p. c.) et de citrate ferrique (0.1 p. c.). Le groupe 3. enfin, composé également de trois rats, ingérait de l'alpiste (98.9 p. c.), du carbonate de calcium (1.0 p. c.) et du citrate ferrique (0.1 p. c.). Comme boisson on donnait dans tous les trois groupes de l'eau distillée. On nourissait les animaux de la manière indiquée durant 60 jours. Au bout de ce temps on a sacrifié un animal de chaque groupe et on a déterminé la teneur en cendre de ses fémurs secs et dégraissés. Les animaux survivants ont été nourris alors pendant

20 jours d'une nourriture composée d'alpiste (97.0 p. c.), de chlorure de sodium (1.9 p. c.), de carbonate de calcium (1.0 p. c.) et de citrate ferrique (0.1 p. c.); le régime était complété de cette manière aussi bien en chlorure de sodium qu'en carbonate de calcium. Les courbes de la croissance sont données dans le tracé ci-dessous.



On voit que dans la première période de l'expérience les animaux du groupe 1., dépourvus des sels minéraux, ne croissaient que fort lentement; la croissance était meilleure chez les rats du groupe 3., recevant comme supplément le carbonate de calcium; les animaux du groupe 2. enfin qui ingéraient un supplément de chlorure de sodium croissaient le mieux. La carence en chlorure de sodium était donc plus nuisible à la croissance que la carence en calcium. La consommation de la nourriture durant cette période, calculée par jour et rat, montait dans le premier groupe à 6.56 g, dans le groupe 2. à 8.15 g, dans le groupe 3. enfin à 8.87 g. Les rats du groupe 3. accusaient donc un plus faible accroissement de poids que ceux du groupe 2., bien qu'ils eussent consommé plus de nourriture.

Dans la deuxième période de l'expérience une amélioration de la croissance a eu lieu dans tous les groupes. Les groupes 2. et 3. ont atteint le même poids; le groupe 1., affaibli dans la période précédente, n'a pas pu les égaler. La consommation de la nourriture s'est accrue aussi pendant cette période. Elle a monté à 8·61 g, 11·1 g, 11·5 g par jour et rat chez les différents groupes respectivement.

L'examen des fémurs des rats sacrifiés après 60 jours de l'expérience a donné les résultats que voici:

TABLEAU II.

Nr	Poids, g	Sexe	Age, jours	Fémur, frais g	Fémur, sec, g	Subst. sèche, p. c.	Moyenne	Fémur, dé- graissé g	Cendre g	En p. c. de subst. sèche	Moyenne
Groupe 1. Alpiste sans supplément.											
24	76	f.	96	0·2248 0·2218	0·1216 0·1190	54·09 53·67	53·88	0·0982 0·0942	0·0438 0·0427	44·61 45·33	44·97
Groupe 2. Alpiste + NaCl.											
20	107	f.	96	0·3315 0·3153	0·1432 0·1409	43·11 44·69	43·90	0·1355 0·1334	0·0547 0·0547	40·37 41·01	40·69
Groupe 3. Alpiste + CaCO <sub>3</sub> .											
23	94	f.	96	0·3246 0·3172	0·2037 0·1998	62·75 62·99	62·87	0·1752 0·1693	0·1040 0·1070	59·36 63·20	61·28

On voit que les fémurs des rats des groupes 1. et 2. qui ne recevaient pas de calcium comme supplément étaient sensiblement appauvris tant en substance sèche qu'en cendre. Cet appauvrissement est plus prononcé chez le rat du groupe 2. qui, ne recevant pas de calcium, ingérait un supplément de chlorure de sodium. Ce fait s'explique par la meilleure croissance de ce rat. Le rat du groupe 3. qui avait ingéré le carbonate de calcium accusait dans ses fémurs une teneur normale en substance sèche et en cendre. Ces faits confirment donc entièrement les résultats obtenus dans l'expérience première: ils démontrent une fois de plus qu'en complétant la graine d'alpiste par le calcium on peut prévenir l'apparition des symptômes rachitiques chez les animaux qui l'ingèrent.

### Expérience 3.

Cette expérience avait pour but de déterminer comment les animaux en voie de croissance utilisent les matières protéiques ingérées sous forme de graine d'alpiste. On espérait obtenir de cette manière quelques indications si cette graine possède en effet des propriétés particulièrement favorables qui la recommanderaient comme nourriture des poussins.

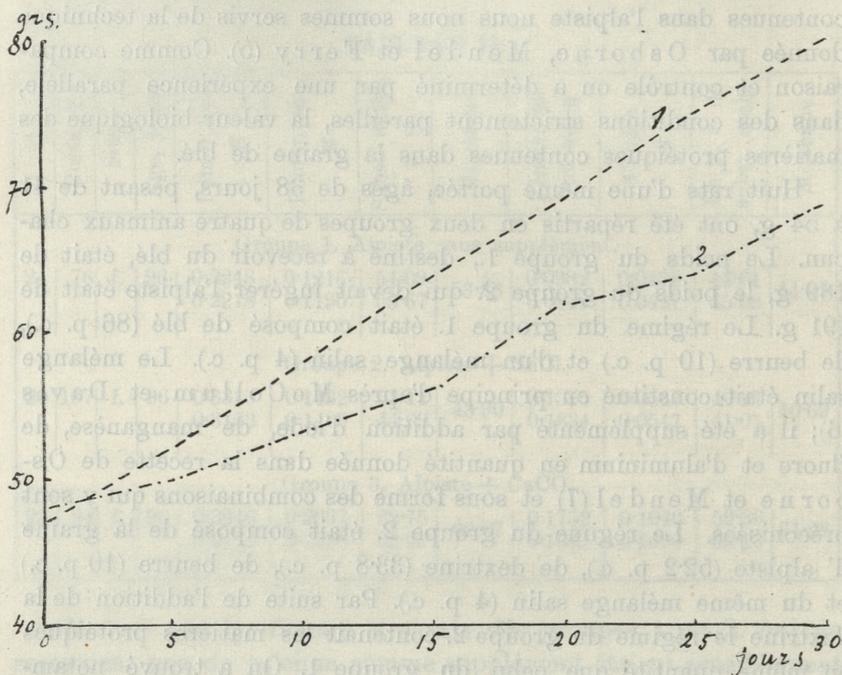
Pour déterminer la valeur biologique des matières protéiques contenues dans l'alpiste nous nous sommes servis de la technique donnée par Osborne, Mendel et Ferry (5). Comme comparaison et contrôle on a déterminé par une expérience parallèle, dans des conditions strictement pareilles, la valeur biologique des matières protéiques contenues dans la graine de blé.

Huit rats d'une même portée, âgés de 38 jours, pesant de 41 à 54 g, ont été répartis en deux groupes de quatre animaux chacun. Le poids du groupe 1., destiné à recevoir du blé, était de 189 g, le poids du groupe 2. qui devait ingérer l'alpiste était de 191 g. Le régime du groupe 1. était composé de blé (86 p. c.), de beurre (10 p. c.) et d'un mélange salin (4 p. c.). Le mélange salin était constitué en principe d'après McCollum et Davis (6); il a été supplémenté par addition d'iode, de manganèse, de fluore et d'aluminium en quantité donnée dans la recette de Osborne et Mendel (7) et sous forme des combinaisons qui y sont préconisées. Le régime du groupe 2. était composé de la graine d'alpiste (52·2 p. c.), de dextrine (33·8 p. c.), de beurre (10 p. c.) et du même mélange salin (4 p. c.). Par suite de l'addition de la dextrine le régime du groupe 2. contenait les matières protéiques en même quantité que celui du groupe 1. On a trouvé notamment: dans le blé 9·68 et 9·78 p. c. de protéine ( $N \times 6·25$ ), moyenne 9·73 p. c.; dans l'alpiste 16·01 et 16·03 p. c. de protéine, moyenne 16·02 p. c.; dans la dextrine enfin 0·33 et 0·30 p. c., moyenne 0·32 p. c. Conformément à ces chiffres le régime du groupe premier contenait en somme 8·37 p. c. de protéine, celui du groupe 2. 8·49 p. c.

Pendant toute l'expérience qui a duré 30 jours on déterminait la quantité de la nourriture présentée, ainsi que de restes non-absorbés qu'on recueillait tous les jours.

Les animaux étaient nourris de telle manière qu'une perte de nourriture par éparpillement était exclue. L'expérience terminée,

on a dosé l'azote dans les restes non-absorbés et on y a calculé la quantité de protéine ( $N \times 6.25$ ). En la déduisant de la protéine totale présentée aux animaux on a obtenu la quantité de la protéine réellement ingérée par les rats de chaque groupe durant toute l'expérience. Les animaux ont été pesés individuellement tous les cinq jours; on pouvait donc calculer le gain de chaque groupe pendant l'expérience. Le tracé ci-dessous donne une idée de la marche de la croissance.



Tracé 3.

On voit que l'accroissement du groupe 1, qui ingérait le blé était sensiblement meilleur. D'après les données obtenues on a pu calculer la valeur biologique de la protéine du blé et de l'alpiste.

La quantité moyenne de protéine ingérée chaque jour par un rat sous forme de blé était égale à 0.760 g; le moyen gain de poids s'élevait à 1.082 g par jour. On trouve donc pour chaque gramme de protéine ingérée un gain de poids égal à 1.42 g. D'autre part pour l'alpiste: protéine ingérée 0.710 g, gain de poids 0.700 g, soit par gramme de protéine ingérée 0.986 g. La valeur

biologique de la protéine de la graine d'alpiste était donc dans nos conditions d'expérience sensiblement inférieure à celle de la graine entière de blé.

Le nombre obtenu par nous pour l'alpiste est une première tentative de déterminer la valeur biologique de la protéine de cette graine; nous pouvons comparer par contre les données trouvées pour le blé avec les résultats obtenus par Osborne et Mendel dans des expériences analogues. Ces savants (l. c. 7) en soumettant des rats à un régime composé presque exclusivement de blé, avec un petit supplément de beurre et des sels, ont trouvé un gain de 1.31 g pour chaque gramme de protéine ingérée. Dans un autre mémoire des mêmes auteurs (8), où l'on faisait ingérer aux rats du blé additionné de beurre, de fécule et de sels minéraux, ce rapport variait presque chez tous les rats entre 1.2 et 1.4, se montant à 1.3 en moyenne. Il faut ajouter enfin que dans nos expériences sur l'action des rayons ultraviolets, dont les résultats n'ont pas encore été publiés, nous avons trouvé pour huit animaux nourris de blé 1.34 à 1.37 g de gain en moyenne pour chaque gramme de protéine ingérée. L'accord est donc très bon, les variations sont peu significatives. Ceci semble prouver que la différence que nous avons pu constater entre l'utilisation de l'alpiste et de blé est en effet bien réelle et qu'elle est causée par une valeur biologique inférieure de la protéine de l'alpiste.

### Conclusions.

Les résultats de nos expériences peuvent être résumés de la manière suivante:

1. En s'appuyant sur l'analyse des composants organiques de la graine d'alpiste et sur le dosage de ses principes minéraux on a pu constater que cette graine se rapproche par sa composition de la composition de nos céréales ordinaires.

2. L'essai sur la digestibilité de l'alpiste, exécuté sur un mouton, a prouvé que cette digestibilité aussi est pareille à celle des céréales.

3. Des expériences sur des rats blancs en voie de croissance ont démontré que l'alpiste est déficitaire surtout en calcium et en chlorure de sodium. A cause de sa basse teneur en calcium l'alpiste, tout comme le blé, provoque un appauvrissement des os

en cendre et des symptômes rachitiques; l'addition du calcium au régime prévient entièrement l'apparition de ces symptômes.

4. Dans des expériences sur des rats blancs on a déterminé par la méthode de Osborne et Mendel la valeur biologique de la protéine d'alpiste par comparaison avec celle du blé. On a pu constater que la protéine contenue dans la graine d'alpiste a une valeur biologique sensiblement inférieure à la valeur de la protéine de la graine du blé entier.

### Bibliographie.

1. J. Becker. Handbuch des Getreidebaues. S. 586. Berlin 1927. — 2. A. Mayer. Futterwert von Canariensamen. Landwirtsch. Versuchsstationen. **36**, 159, 1889. — 3. Hanamann. Chem. Pharm. Centralbl. 1863. S. 814. (d'après C. D. Harz. Landwirt. Samenkunde. Bd. II. S. 1274. Berlin 1885). — 4. F. Rogoziński et J. Ciechanowska. Sur le rachitisme expérimental. IV. Le blé comme aliment rachitigène. Bull. de l'Acad. Polon. d. Sc. et d. L. Cl. d. Sc. Math. et Natur. Série B. II. 1932. — 5. Th. B. Osborne, L. B. Mendel and E. L. Ferry. A method of expressing numerically the growth-promoting value of proteins. Journ. of Biolog. Chem. **37**, 223, 1919. — 6. E. V. McCollum and M. Davis. Observations on the isolation of the substance in butter fat which exerts a stimulating influence on growth. Journ. of Biolog. Chem. **19**, 245, 1914. — 7. Th. B. Osborne and L. B. Mendel. The nutritive value of the wheat kernel and its milling products. Journ. of Biolog. Chem. **37**, 557, 1919. — 8. Th. B. Osborne and L. B. Mendel. Nutritive value of the proteins of the barley, oat, rye, and wheat kernel. Journ. of Biolog. Chem. **41**, 275, 1920.

*Naświetlanie a wzrost. — L'irradiation et la croissance.*

Mémoire

de MM. **F. ROGOZIŃSKI** m. t. et **ZB. GŁÓWCZYŃSKI**,

présenté le 6 mai 1935, par M. F. Rogoziński m. t.

(Planche 3).

L'influence qu'exercent les radiations soit visibles, soit ultraviolettes sur les organismes animaux a été l'objet de recherches fort nombreuses qui ont donné des résultats singulièrement divergents. On a étudié dans de nombreux travaux la manière dont se comporte sous l'influence de ces agents la croissance tant de cellules isolées, que de tissus animaux, que, enfin, celle des individus multicellulaires, occupant de différents degrés sur l'échelle évolutionnaire.

Nous n'avons pas l'intention de soumettre ici à une étude détaillée toute la bibliographie, très ample, se rapportant à ce sujet. Les principaux travaux respectifs sont résumés p. e. dans la monographie de Pincussen (1). En confrontant leurs résultats, cet auteur arrive à la conclusion suivante: »Betrachtet man alle die Angaben, welche über das tierische Wachstum gemacht und hier angeführt worden sind, so ist es nicht möglich, irgendwelche allgemein gültigen Schlüsse zu ziehen«. Nous trouvons une opinion moins pessimiste chez Mlle J. H. Clark (2). En traitant spécialement l'action des rayons ultraviolets, elle formule son opinion de la manière suivante: »In higher animals on adequate diets there is no convincing evidence of growth stimulation, but an animal on a vitamin D deficient diet shows accelerated growth, as well as recovery from rickets, on exposure to ultraviolet irradiation«.

On voit par ces deux exemples que les opinions sur l'influence qu'exercent les rayons, en particulier les rayons ultraviolets, sur les phénomènes de la croissance animale, sont très divergentes jusqu'à présent. Ceci prouve, comme il en est toujours dans de pareils cas, la nécessité de recherches expérimentales poursuivies.

La conviction que dans cette voie seulement on peut espérer d'approcher à la solution définitive de ce problème compliqué a été pour nous le mobile d'entreprendre quelques expériences dans cette direction. Leurs résultats sont rapportés ci-dessous.

Nos expériences avaient pour but l'étude de l'influence qu'exerce l'irradiation par les rayons ultraviolets sur les facteurs suivants: la consommation de la nourriture par les animaux, soit leur appétit, leur croissance mesurée par le gain de poids, l'utilisation de la protéine contenue dans la nourriture, déterminée d'après Osborne, Mendel et Ferry (3), comme gain de poids pour chaque gramme de protéine consommée, enfin sur le degré de la minéralisation de leurs fémurs.

Nous avons cherché instamment à satisfaire aux conditions que voici: 1. les animaux soumis à l'irradiation et les animaux de contrôle, non-irradiés, étaient dans toutes les expériences exactement comparables. Ils provenaient dans la mesure du possible d'une même portée; là, où comme dans l'expérience 3. il a fallu employer un plus grand nombre d'animaux et prendre deux portées, ces portées étaient mises bas le même jour. Le poids des animaux dans le groupe irradié et le groupe de contrôle était toujours très semblable au début de l'expérience, le nombre de mâles et de femelles dans les deux groupes était toujours égal.

2. les conditions dans lesquelles étaient tenus les animaux des deux groupes étaient toujours strictement identiques; l'unique différence formait l'irradiation des animaux de l'un des groupes par les rayons ultraviolets.

3. comme des différences même peu importantes dans le dosage de ces rayons peuvent exercer une influence marquée sur le résultat de l'expérience, nous avons appliqué dans tous nos essais la même dose des rayons. L'irradiation était exécutée au moyen d'une lampe à vapeur de mercure, système Hanau (2.5 Amp., 220 Volt, courant continu). On irradiait les animaux dans un récipient ouvert, à la distance d'un mètre du brûleur, deux fois par jour, chaque fois dix minutes, à 11 heures et à six heures du soir. On

commençait l'irradiation cinq minutes après avoir mis la lampe en action, quand le brûleur eut atteint son plein régime.

En terminant là-dessus ces remarques préliminaires, nous passons à la description détaillée de nos essais.

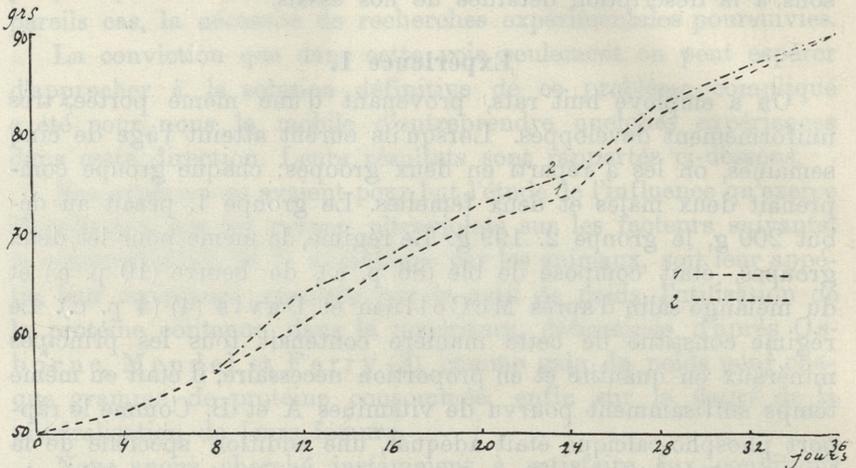
### **Expérience 1.**

On a employé huit rats, provenant d'une même portée, très uniformément développés. Lorsqu'ils eurent atteint l'âge de cinq semaines, on les a réparti en deux groupes; chaque groupe comprenait deux mâles et deux femelles. Le groupe 1. pesait au début 200 g, le groupe 2. 199 g. Le régime, le même pour les deux groupes, était composé de blé (86 p. c.), de beurre (10 p. c.) et du mélange salin d'après McCollum et Davis (4) (4 p. c.). Le régime constitué de cette manière contenait tous les principes minéraux en quantité et en proportion nécessaire, il était en même temps suffisamment pourvu de vitamines A et B. Comme le rapport phospho-calcique était adéquat, une addition spéciale de la vitamine D était superflue. La protéine de la graine entière du blé formait l'unique source d'azote dans ce régime. La nourriture était présentée aux animaux de telle manière qu'une perte par éparpillement était exclue. On donnait chaque jour une quantité pesée de la nourriture et on recueillait sans perte les restes non-absorbés. On a dosé l'azote dans la nourriture au début de l'expérience, dans les restes à sa fin. On pouvait calculer de cette manière la quantité de protéine ( $N \times 6.25$ ) absorbée par les rats de chaque groupe durant toute l'expérience. Les animaux étaient pesés individuellement tous les quatre jours. D'après ces pesées on calculait le poids moyen d'un rat dans chaque groupe.

On tenait les animaux dans la lumière diffuse du jour, dans un local passablement sombre, éclairé par une fenêtre donnant au nord, garnie de doubles vitres en verre ordinaire. L'unique différence dans le traitement des deux groupes consistait en ce que les animaux du groupe 1. n'étaient pas irradiés, ceux du groupe 2. au contraire étaient irradiés deux fois chaque jour, de la manière indiquée ci-dessus. L'expérience a duré 35 jours, à sa fin les rats ont été sacrifiés, leurs fémurs ont été sectionnés et soumis à l'analyse.

L'expérience a donné les résultats suivants: le poids final du groupe 1., non-irradié, a monté à 361 g, le poids du groupe 2.,

irradié, à 362 g. Les courbes de croissance sont données dans le tracé ci-dessous qui montre le poids moyen d'un rat dans chaque groupe.



Tracé 1.

On voit que le parcours de la croissance dans les deux groupes était à peu près identique. Les écarts minimes des deux courbes peuvent être expliqués aisément par des variations individuelles. L'irradiation n'a donc exercé dans cette expérience aucune influence sur la croissance des rats.

La consommation de la nourriture par les animaux, soit leur appétit, se comportait d'une manière tout à fait pareille. Le groupe 1. a ingéré durant toute l'expérience 1290 g, le groupe 2. 1291 g, la consommation dans les deux cas répondait donc presque exactement à 9 g par rat et jour. Dans les périodes successives de quatre jours les différences entre les deux groupes étaient minimes, elles aussi. De cette manière l'irradiation des rats du groupe 2. n'a exercé aucune influence favorable sur leur appétit.

L'utilisation de la protéine par les animaux de chaque groupe a été calculée de la manière suivante: dans la nourriture on a trouvé 8.90 et 8.79 p. c. de protéine, en moyenne 8.85 p. c. de protéine ( $N \times 6.25$ ), dans les restes non-absorbés par le groupe 1. 7.52 et 7.65 p. c., en moyenne 7.59 p. c., dans les restes non-absorbés par le groupe 2. 7.90 et 7.88 p. c., en moyenne 7.89 p. c. de protéine. Comme on connaissait la quantité de la nourri-

ture présentée, ainsi que la quantité de restes non-absorbés, on pouvait, en se basant sur ces données, calculer la quantité de la protéine réellement ingérée durant l'expérience par les animaux de chaque groupe. On a trouvé pour le groupe 1. 119.89 g, soit 0.8563 g par rat et jour, pour le groupe 2. 118.53 g, soit 0.8467 g. Le gain de poids moyen par rat et jour était égal dans le groupe 1. à 1.150 g, dans le groupe 2. à 1.164 g; on trouve donc pour chaque gramme de protéine ingérée dans le groupe 1. un accroissement de 1.34 g, pour le groupe 2. de 1.37 g.

Ces chiffres s'accordent bien avec les résultats obtenus par Osborne et Mendel dans leurs travaux (5, 6) sur la valeur biologique de la protéine de blé; ils trouvaient dans tous les cas un gain de 1.3 g par gramme de protéine ingérée en moyenne.

TABLEAU I.

Nr	Poids, g	Sexe	Age, jours	Fémur frais g	Fémur sec g	Subst. sèche, p. c.	Moyenne	Fémur dé- graisé g	Cendre g	En p. c. de subst. sèche dégraisée	Moyenne
Groupe 1., non-irradié.											
33	85	f.	70	0.2665 0.2692	0.1508 0.1507	56.57 55.98	56.28	0.1427 0.1430	0.0822 0.0824	57.60 57.62	57.61
34	90	f.	70	0.2930 0.2837	0.1690 0.1661	57.68 58.55	58.12	0.1625 0.1596	0.0972 0.0954	59.82 59.78	59.80
35	91	m.	70	0.3035 0.3165	0.1701 0.1755	56.07 55.43	55.75	0.1545 0.1594	0.0898 0.0916	58.12 57.47	57.80
36	95	m.	70	0.3105 0.3112	0.1776 0.1803	57.20 57.93	57.57	0.1596 0.1623	0.0920 0.0940	57.65 57.92	57.79
Groupe 2., irradié.											
37	85	f.	70	0.3242 0.3220	0.1844 0.1836	56.87 57.02	56.95	0.1764 0.1751	0.1038 0.1040	58.84 59.43	59.14
38	94	f.	70	0.3200 0.3252	0.1835 0.1877	57.36 57.71	57.54	0.1735 0.1755	0.1048 0.1060	60.40 60.40	60.40
39	85	m.	70	0.2982 0.3027	0.1622 0.1657	54.38 54.74	54.56	0.1515 0.1549	0.0858 0.0868	56.63 56.04	56.34
40	98	m.	70	0.3180 0.3120	0.1762 0.1712	55.41 54.87	55.14	0.1657 0.1606	0.0950 0.0942	57.33 58.65	57.99

Dans notre recherche sur la valeur nutritive de la graine d'alpiste (7) nous avons trouvé pour la protéine de blé un gain de 1.42.

L'accord des nombres obtenus pour les rats des deux groupes prouve d'une manière évidente que l'irradiation par les rayons ultraviolets n'a exercé chez les rats du groupe 2. aucune influence sur l'utilisation de la protéine.

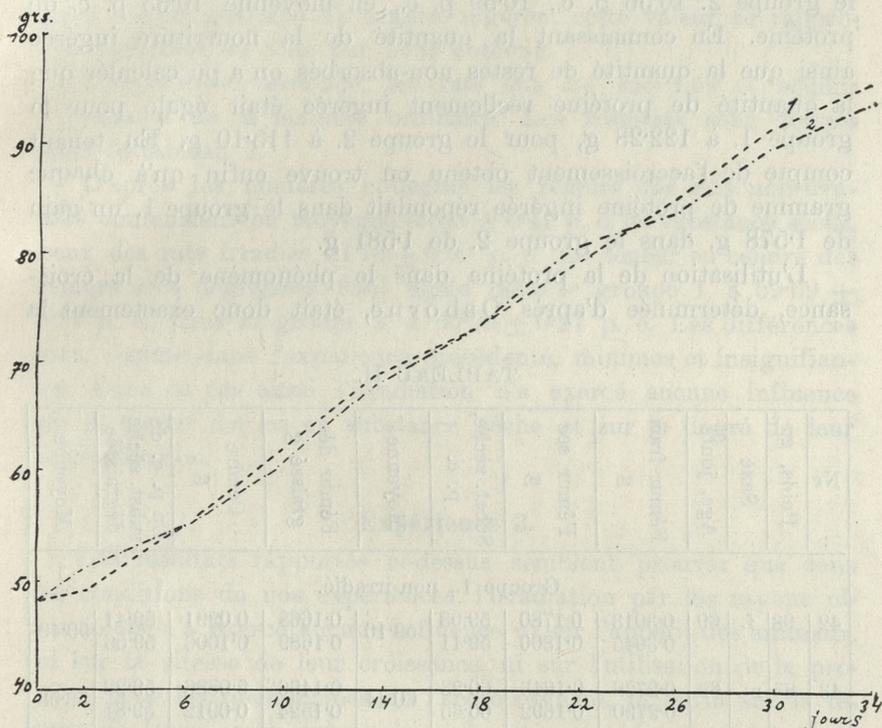
L'expérience terminée, les rats ayant atteint l'âge de 70 jours ont été sacrifiés, comme il a été dit plus haut. On sectionna leurs fémurs, on y dosa la substance sèche, on les dégraisa par l'extraction à l'alcool et à l'éther et on détermina la teneur en cendre des os dégraisés. Voici les résultats obtenus:

La substance sèche dans les fémurs des animaux du groupe 1. était donc égale en moyenne à  $56.93 \pm 0.38$  p. c., dans le groupe 2. à  $56.05 \pm 0.47$  p. c., la teneur en cendre des os dégraisés respectivement  $58.25 \pm 0.35$  p. c. et  $58.47 \pm 0.58$  p. c. Le calcul statistique prouve que les différences minimales constatées chez les deux groupes sont insignifiantes. On peut donc conclure que, dans les conditions données, l'irradiation par les rayons ultraviolets n'a exercé aucune influence appréciable ni sur la teneur des os en substance sèche, ni sur leur teneur en cendre.

### Expérience 2.

Cette expérience a été exécutée exactement d'après les mêmes principes que la précédente. La seule différence consistait dans ce cas en ceci qu'on faisait ingérer aux animaux un régime composé en majeure partie des principes purs, isolés. On s'est servi de huit rats, provenant d'une même portée, âgés de cinq semaines. Ils ont été répartis en deux groupes, de deux mâles et de deux femelles chacun. Le poids initial du groupe 1. était 191 g, du groupe 2. 192 g. Le régime des deux groupes était constitué de la manière suivante: caséine (Physiological Caseinate L. W. Glaxo) 10 p. c., levure séchée (Merck) 2 p. c., beurre 10 p. c., dextrine 37 p. c., fécule de riz 37 p. c., mélange salin 4 p. c. Les deux groupes étaient nourris de manière égale; on tenait les animaux dans des conditions strictement identiques. La différence unique consistait en ce que le groupe 1. n'était pas irradié, le groupe 2. était irradié tous les jours, de la manière indiquée ci-dessus. Pendant toute l'expérience qui a duré 34 jours on déterminait exactement la consommation de la nourriture; les animaux

étaient pesés individuellement tous les quatre jours. Le poids final du groupe 1. est monté à 384 g, celui du groupe 2. à 374 g. Les courbes de la croissance sont données dans le tracé 2.



Tracé 2.

On voit que ces courbes sont presque identiques pour les deux groupes. L'irradiation des animaux n'a donc exercé dans cette expérience non plus aucune influence appréciable sur le parcours de la croissance. Il en était de même avec la consommation de la nourriture: elle était de 1227 g pour le groupe 1., de 1154 g pour le groupe 2. L'irradiation n'a donc pas augmenté l'appétit.

L'utilisation de la protéine pour l'accroissement a été déterminée comme suit: la teneur en protéine ( $N \times 6,25$ ) des principes utilisés était: caséine 81,98 p. c., 81,85 p. c., moyenne 81,92 p. c.

levure sèche	52,74	»	53,01	»	»	52,88	»
fécule	0,70	»	0,60	»	»	0,65	»
dextrine	0,33	»	0,30	»	»	0,32	»

Le régime entier contenait en somme 10·07 p. c., 10·07 p. c., en moyenne 10·07 p. c. de protéine; les restes non-absorbés par le groupe 1. 10·56 p. c., 10·71 p. c., en moyenne 10·64 p. c.; par le groupe 2. 10·56 p. c., 10·69 p. c., en moyenne 10·63 p. c. de protéine. En connaissant la quantité de la nourriture ingérée ainsi que la quantité de restes non-absorbés on a pu calculer que la quantité de protéine réellement ingérée était égale pour le groupe 1. à 122·28 g, pour le groupe 2. à 115·10 g. En tenant compte de l'accroissement obtenu on trouve enfin qu'à chaque gramme de protéine ingérée répondait dans le groupe 1. un gain de 1·578 g, dans le groupe 2. de 1·581 g.

L'utilisation de la protéine dans le phénomène de la croissance, déterminée d'après Osborne, était donc exactement la

TABLEAU II.

Nr	Poids, g	Sexe	Age, jours	Fémur frais g	Fémur sec g	Subst. sèche, p. c.	Moyenne	Fémur dé- graissé g	Cendre g	En p. c. de subst. sèche dégraissée	Moyenne
Groupe 1., non-irradié.											
42	98	f.	69	0·3013 0·3045	0·1780 0·1800	59·08 59·11	59·10	0·1668 0·1689	0·0991 0·1006	59·41 59·56	59·49
43	85	m.	69	0·2728 0·2790	0·1643 0·1692	60·23 60·65	60·44	0·1496 0·1524	0·0886 0·0912	59·22 59·84	59·53
44	108	m.	69	0·3510 0·3470	0·2028 0·2039	57·78 58·76	58·27	0·1932 0·1926	0·1141 0·1136	59·06 58·98	59·02
49	93	f.	69	0·2847 0·2913	0·1740 0·1768	61·12 60·69	60·91	0·1647 0·1668	0·1009 0·1004	61·26 60·19	60·73
Groupe 2., irradié.											
45	98	m.	69	0·3294 0·3189	0·1987 0·1938	60·32 60·77	60·55	0·1828 0·1802	0·1101 0·1092	60·23 60·60	60·42
46	83	f.	69	0·2710 0·2683	0·1657 0·1660	61·14 61·87	61·51	0·1589 0·1578	0·0958 0·0970	60·29 61·47	60·88
47	108	m.	69	0·3511 0·3370	0·2115 0·2042	60·24 60·59	60·42	0·2004 0·1924	0·1191 0·1152	59·43 59·87	59·65
48	85	f.	69	0·2630 0·2750	0·1640 0·1709	62·36 62·15	62·26	0·1537 0·1595	0·0944 0·0978	61·42 61·40	61·41

même chez les rats des deux groupes. Il faut ajouter qu'Osborne, Mendel et Ferry (l. c. 3) ont trouvé en soumettant des rats à un régime où la caséine entrait pour 9·3 p. c. un gain de 1·45 g pour chaque gramme de caséine ingérée; cette valeur se rapproche beaucoup de celle par nous obtenue.

L'expérience terminée, les rats ont été sacrifiés et soumis à l'examen de la manière ordinaire. Les résultats sont donnés dans le tableau 2.

D'après les nombres ci-dessus les fémurs des rats non-irradiés contenaient en moyenne  $59·68 \pm 0·41$  p. c. de substance sèche, ceux des rats irradiés  $61·18 \pm 0·30$  p. c. La teneur en cendre des fémurs secs dégraissés était égale dans le groupe 1. à  $59·69 \pm 0·27$  p. c., dans le groupe 2. à  $60·59 \pm 0·27$  p. c. Les différences sont, comme dans l'expérience précédente, minimales et insignifiantes. Dans ce cas aussi l'irradiation n'a exercé aucune influence sur la teneur des os en substance sèche et sur le degré de leur minéralisation.

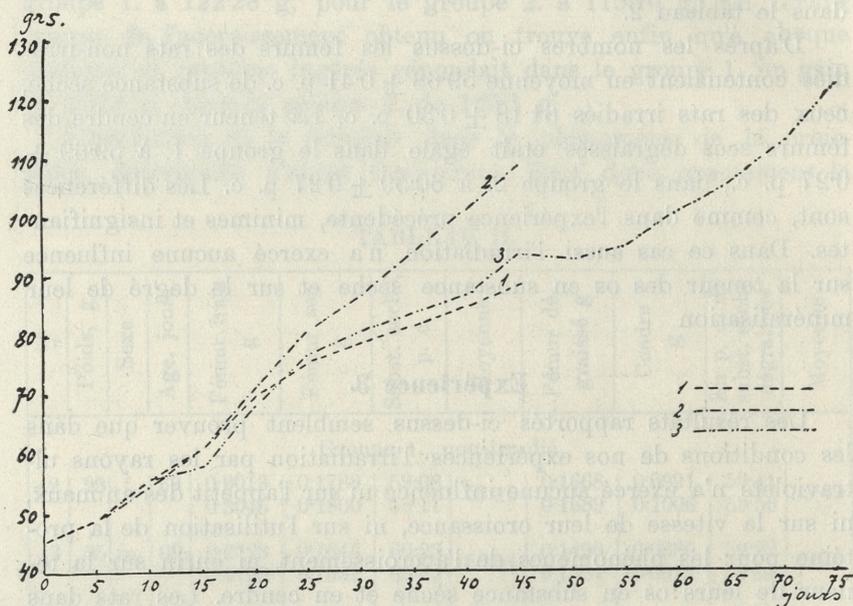
### Expérience 3.

Les résultats rapportés ci-dessus semblent prouver que dans les conditions de nos expériences l'irradiation par les rayons ultraviolets n'a exercé aucune influence ni sur l'appétit des animaux, ni sur la vitesse de leur croissance, ni sur l'utilisation de la protéine pour les phénomènes de l'accroissement, ni enfin sur la teneur de leurs os en substance sèche et en cendre. Les rats dans ces expériences étaient soumis à des régimes complets et bien équilibrés par rapport aux principes minéraux.

Dans l'expérience 3. que nous abordons maintenant nous avons entrepris l'étude du problème comment agit l'irradiation sur des animaux ingérant un régime déséquilibré typique, notamment le régime rachitigène de Steenbock et Black. Nous nous sommes servis dans ce cas de 12 rats provenant de deux portées différentes, mais nés le même jour. A l'âge de cinq semaines, au début de l'expérience, ils pesaient de 42 à 48 g.

On les a réparti en trois groupes, de quatre animaux chacun; chaque groupe était composé de trois mâles et d'une femelle. Le poids initial des groupes était 179 g, 178 g et 179 g. Tous les animaux ont été soumis au régime ordinaire de Steenbock et Black, composé de maïs jaune (76 p. c.), de gluten de blé (20

p. c.), de carbonate de calcium (3 p. c.) et de chlorure de sodium (1 p. c.). Comme boisson on donnait de l'eau distillée. Les animaux étaient tenus dans l'obscurité complète; le groupe 2. était irradié tous les jours de la manière ordinaire. On pesait les rats individuellement tous les cinq jours et on a construit d'après les résultats de ces pesées les courbes de croissance, données dans le tracé ci-dessous.



Tracé 3.

On voit que jusqu'à la vingtième journée de l'expérience la croissance de tous les trois groupes était presque exactement égale: les courbes ne démontrent aucune différence prononcée. Le poids global était à cette période: groupe 1. 280 g, groupe 2. 282 g, groupe 3. 271 g. Dans la deuxième partie de l'expérience, entre la 20. et la 45. journée, on constate une différence marquée: le groupe 2. (irradié) continue à croître d'une manière normale, il atteint le 45. jour le poids de 437 g; par contre, la croissance des groupes 1. et 3. est sensiblement retardée, ils pèsent le 45. jour 357 g, resp. 376 g. L'irradiation a donc exercé dans ce cas une influence favorable prononcée sur la croissance des animaux. La consommation de la nourriture, calculée par rat et jour, était

au cours des 20 premiers jours égale à 8.7 g dans le groupe 1., à 8.8 g dans le groupe 2., à 8.5 g dans le groupe 3.; durant les 25 jours suivants resp. 8.7 g, 10.1 g et 8.7 g; dans le groupe irradié la consommation a donc augmenté de 16 p. c. Calculée pour toute la durée de l'expérience la consommation a été égale respectivement à 8.7 g, 9.5 g et 8.6 g. On voit donc que l'irradiation a exercé dans ce cas une influence positive sur l'appétit des animaux.

Comme dans les expériences précédentes, nous avons déterminé pour les animaux des groupes 1. et 2. l'utilisation de la protéine d'après Osborne. Le régime contenait selon des dosages concordants 25.6 p. c. de protéine, les restes non-absorbés par le groupe 1. 40.6 p. c., par le groupe 2. 38.1 p. c.; le calcul montre que la quantité de protéine ingérée par les rats du groupe 1. pendant les premiers 20 jours montait à 140.5 g, le gain était égal à 101 g, on trouve donc pour chaque gramme de protéine ingérée 0.72 g de gain. Pour les rats du groupe 2. ces chiffres étaient: protéine ingérée 151.4 g, gain 104 g, soit 0.69 g de gain par gramme de protéine ingérée. On voit que les résultats dans cette période étaient presque identiques pour les deux groupes. Dans la période suivante de 25 jours on trouve: groupe 1.: protéine ingérée 167.5 g, gain 77 g, par gramme de protéine 0.46 g; groupe 2.: protéine ingérée 229.6 g, gain 155 g, par gramme de protéine 0.68 g, soit 50 p. c. de plus. L'utilisation de la protéine pendant toute la durée de l'expérience (45 jours) a été égale chez le groupe 1. à 0.58 g, chez le groupe 2. à 0.68 g. L'irradiation a donc exercé une influence favorable sur l'utilisation de la protéine par les rats du groupe 2.

Le 39. jour de l'expérience on a soumis à l'examen radiographique un rat de chaque groupe. Les photographies de la planche 3 démontrent dans les os des rats des groupes 1. (Nr 115, fig. 1) et 3. (Nr 110, fig. 3) des symptômes rachitiques prononcés; les os du rat du groupe 2. (Nr 124, fig. 2) présentent un aspect tout à fait normal.

L'action préventive de l'irradiation par les rayons ultraviolets est ressortie ici d'une manière éclatante.

Après 45 jours de régime les rats appartenant aux groupes 1. et 2. ont été sacrifiés; leurs fémurs ont été prélevés et soumis à l'examen de la manière ordinaire. Les résultats sont présentés

dans le tableau 3.; ce tableau donne en outre les résultats obtenus pour les rats du groupe 3., après 30 jours subséquents de l'expérience. Ces nombres seront discutés plus bas.

TABLEAU III.

Nr	Poids, g	Sexe	Age, jours	Fémur frais g	Fémur sec g	Subst. sèche, p. c.	Moyenne	Fémur dé- graisé g	Cendre g	En p. c. de subst. sèche dégraisée	Moyenne
Groupe 1., non-irradié.											
111	83	f.	81	0.2585 0.2488	0.1088 0.1061	42.09 42.65	42.37	0.1021 0.0997	0.0348 0.0346	34.08 34.72	34.40
115	83	m.	81	0.2832 0.2885	0.1230 0.1252	43.43 43.40	43.42	0.1145 0.1182	0.0454 0.0472	39.65 39.93	39.79
118	93	m.	81	0.2714 0.2647	0.1163 0.1157	42.85 43.71	43.28	0.1079 0.1076	0.0432 0.0426	40.04 39.59	39.82
119	98	m.	81	0.2612 0.2722	0.1296 0.1352	49.62 49.67	49.65	0.1206 0.1239	0.0560 0.0564	46.43 45.52	45.98
Groupe 2., irradié préventivement.											
112	108	f.	80	0.3267 0.3227	0.1929 0.1916	59.04 59.37	59.21	0.1841 0.1845	0.1087 0.1090	59.04 59.08	59.06
117	118	m.	80	0.3555 0.3637	0.2000 0.2015	56.35 55.40	55.88	0.1893 0.1892	0.1102 0.1100	58.21 58.14	58.18
124	115	m.	80	0.3549 0.3467	0.1924 0.1847	54.21 53.28	53.75	0.1814 0.1767	0.1028 0.0996	56.67 56.37	56.52
126	96	m.	80	0.2928 0.3006	0.1620 0.1646	55.33 54.76	55.05	0.1538 0.1576	0.0872 0.0900	56.70 57.11	56.91
Groupe 3., irradié curativement.											
116	100	f.	110	0.3010 0.3003	0.1770 0.1725	58.80 57.44	58.12	0.1686 0.1641	0.0952 0.0926	56.47 56.43	56.45
110	123	m.	110	0.3567 0.3700	0.1976 0.2060	55.40 55.68	55.54	0.1897 0.1983	0.1070 0.1132	56.40 57.09	56.75
121	130	m.	110	0.3775 0.3855	0.2192 0.2218	58.07 57.54	57.81	0.2079 0.2075	0.1218 0.1196	58.59 57.64	58.12
122	119	m.	110	0.3437 0.3370	0.1912 0.1871	55.63 55.52	55.58	0.1780 0.1764	0.0964 0.0954	54.16 54.08	54.12

D'après les chiffres de ce tableau on trouve que chez les rats du groupe 1. la teneur des fémurs en substance sèche était égale à  $44.68 \pm 1.10$  p. c. en moyenne, la teneur en cendre à  $39.99 \pm 1.55$  p. c.; dans le groupe 2. substance sèche  $55.97 \pm 0.78$  p. c. cendre  $57.67 \pm 0.39$  p. c. L'analyse chimique démontre donc, en accord avec les résultats de l'examen radiographique, des symptômes rachitiques prononcés chez les rats du groupe 1. Chez les animaux du groupe 2., conformément au radiogramme, ces symptômes n'apparaissent guère; la composition chimique de leurs os est parfaitement normale. La différence est nette et, comme le démontre le calcul exécuté en tenant compte des erreurs moyennes, elle est significative. L'irradiation prophylactique dans la dose par nous appliquée a donc entièrement prévenu l'apparition des symptômes rachitiques, malgré le régime rachitigène typique.

Les rats du groupe 3. accusaient après 45 jours de l'expérience un affaiblissement de la croissance, une diminution d'appétit et, conformément au radiogramme, des troubles rachitiques dans leurs os, tout comme les rats du groupe 1. On les a soumis alors à l'irradiation curative, appliquée de la manière ordinaire pendant 30 jours. La courbe de croissance a commencé à monter rapidement après un arrêt de quelques jours, comme le prouve le tracé 3.; la consommation de la nourriture s'est améliorée sensiblement. Enfin, quand au bout de 30 jours on a sacrifié les animaux, on a trouvé dans leurs fémurs  $56.76 \pm 0.48$  p. c. de substance sèche et  $56.36 \pm 0.55$  p. c. de cendre. La composition des os était donc normale, les troubles rachitiques ont disparu entièrement. L'irradiation appliquée de la manière curative a donc exercé une influence favorable très nette tant sur la croissance et sur l'appétit des animaux que sur la composition chimique de leurs os.

Toutes nos expériences semblent prouver qu'en soumettant de jeunes animaux en voie de croissance à l'irradiation par les rayons ultraviolets on peut obtenir des résultats tout à fait différents, selon la nature du régime que ces animaux ingèrent.

Chez des animaux soumis à un régime complet et bien équilibré l'irradiation par les rayons ultraviolets n'exerce aucune influence ni sur la croissance, ni sur l'appétit, ni sur l'utilisation de la protéine, ni enfin sur la composition chimique des os. Par

contre, chez des animaux ingérant un régime typiquement déséquilibré, notamment un régime rachitigène, la même dose des radiations ultraviolettes exerce une influence favorable très prononcée dans toutes les directions indiquées.

Il nous semble que les nombreuses divergences dans les résultats obtenus jusqu'à présent sur l'action des rayons ultraviolets pourraient trouver leur explication dans les faits par nous constatés.

### Bibliographie.

1. Pincussen L. Photobiologie. Leipzig 1930. — 2. Clark J. H. Ultraviolet radiation in relation to health. Nutrition Abstracts and Reviews. **3**, 13, 1933. — 3. Osborne Th. B., L. B. Mendel and E. L. Ferry. A method of expressing numerically the growth-promoting value of proteins. Journ. of Biolog. Chem. **37**, 223, 1919. — 4. McCollum E. V. and M. Davis. Observations on the isolation of the substance in butter fat which exerts a stimulating influence on growth. Journ. of Biolog. Chem. **19**, 245, 1914. — 5. Osborne Th. B. and L. B. Mendel. The nutritive value of the wheat kernel and its milling products. Journ. of Biolog. Chem. **37**, 557, 1919. — 6. Osborne Th. B. and L. B. Mendel. Nutritive value of the proteins of the barley, oat, rye, and wheat kernel. Journ. of Biolog. Chem. **41**, 275, 1920. — 7. Rogoziński F. et Zb. Głowczyński. Sur la valeur nutritive de la graine d'alpiste (*Phalaris canariensis*). Bull. de l'Acad. Polon. d. Sc. et d. L. Cl. d. Sc. Math. et Natur. Série B. II. 1935.



F. Rogoziński et Zb. Glowczyński phot.



*Turritella scalaria* de Buch i kilka uwag o rozkreconych skorupach ślimaków. — *Turritella scalaria* de Buch und einige Bemerkungen über evolute Gastropodenschalen.

Mémoire

de M. **W. FRIEDBERG** m. c.

présenté le 6 mai 1935.

(Planche 4).

Unter den Vertretern der Gattung *Turritella* im polnischen Miocän zeichnet sich *T. scalaria* de Buch durch das vollständig losgelöste Gewinde aus. Diese Art wurde vom de Buch (1) aus dem Materiale des Dubois de Montpéreux aus Szuszkowce in Wolhynien beschrieben; seine Beschreibung hat Dubois (2) wiederholt, er gab auch eine gute Zeichnung. Eichwald (3) hat diese Art mit seiner *Turritella bicarinata* vereinigt und dasselbe hat auch M. Hoernes (4) getan, obwohl er eine etwas evolute Form als var. *scalaria* de Buch ausgeschieden hat (seine Fig. 12), die jedoch der typischen *T. scalaria* nicht entspricht. Ich habe *T. scalaria* in zwei meiner Arbeiten (5, 6) als eine Varietät der *T. bicarinata* beschrieben und abgebildet, jetzt aber, da mir ein größeres Material vorliegt, möchte ich diese Form für eine selbständige Art halten.

Aus Szuszkowce, also aus der typischen Lokalität des Dubois, habe ich jetzt zirca 50 wohl ausgebildete Exemplare (Taf. 4, Fig. 1—3); das größte von ihnen ist 52 mm hoch, der letzte Umgang 15, er ist 14 mm breit. Die Schale besteht aus 13 Umgängen, von welchen 11 untere losgelöst sind. Diese sind von den Seiten abgeflacht, oben trichterförmig verengt, unten senkrecht zur Axe abgestutzt. Auf den Seitenflächen liegt oben und unten je ein

stumpfer Kiel, von denen der untere langsam schwächer wird und sich auf den obersten, nicht evoluten Umgängen verliert. Diese letzten, 4—5 an der Zahl (Fig. 4), haben deshalb in der Mitte nur einen, scharfen Kiel. Die Embryonalwindungen sind bei allen unseren Exemplaren abgestoßen. Die Oberfläche aller Windungen ist fein gefurcht, weshalb sie eng spiral gerippt erscheint.

Nach der Beschreibung kann man leicht ersehen, daß *T. scalaria* der *T. bicarinata* Eichw. sehr ähnlich ist und daß sie sich von ihr nur durch die losgelösten Windungen unterscheidet. Die erste Art hat sich aus der zweiten entwickelt, ist also jünger als dieselbe.

*T. scalaria* hat eine sehr enge geographische Verbreitung. Ich habe sie außer in Szuszkowce nur noch in einigen Orten Wolhyniens gesammelt und dort nur in wenigen Exemplaren und zwar in Stary Poczajów, Wiśniowiec und Żukowce. Diese Exemplare sind kleiner als die typischen von Szuszkowce und bei einigen von ihnen sind die Umgänge schwächer losgelöst (Fig. 7). Am besten entsprechen der typischen Form die Exemplare von Wiśniowiec (Fig. 5—6), obwohl sie kleiner sind als dieselbe. Zu beachten ist noch der Umstand, daß ich in Szuszkowce kein Exemplar der *T. bicarinata* fand, während sie in Stary Poczajów und in Żukowce neben der *T. scalaria* vorkommt. Es gibt zwar Mikhailowski (7) in seinen Verzeichnis (Seite 115) *T. bicarinata* aus Szuszkowce an, aber dort muß diese Art sehr selten sein, da ich sie trotz mehrmaligen Aufsammlungen daselbst nicht gefunden habe. In Wiśniowiec habe ich zwar nur einmal in den unter dem Sarmat liegenden Sanden gesammelt, ich fand dort aber nur *T. scalaria* und kein Exemplar der *T. bicarinata*. Bei den späteren Exkursionen fand ich dort die Sande verschüttet.

In Stary Poczajów sind reich an Fossilien mergelige Lithothamnienkalke, welche auf den Lignit führenden Sanden liegen; beide Turritellaarten fand ich in dem oberen Horizonte. In Żukowce sind fossilienreich grünliche Sande, darüber liegen Sande der Buhłówkaschichten. Aus den unteren Sanden, welche Eichwald den größten Teil des Materials für seine »*Lethaea rossica*« ergaben, stammen auch beide Turritellaarten. Was Alter anbelangt sind die fossilienführenden Schichten in Stary Poczajów und in Żukowce etwa identisch. In Szuszkowce liegen an Fossilien sehr reiche, helle Sande über grünlichen Sanden ohne Fossilien. Die Schichten des Miocäns sind hier etwa 8 m mächtig und

liegen über einem Kreidemergel. Die obersten hellen Sande sind von Molluskenschalen überfüllt, unter welchen *T. scalaria* sehr häufig vorkommt. Mikhailowski (7, Seite 266) glaubt, daß die fossilienreichen Sande von Szuszkowce jünger sind als diejenigen von Stary Poczajów, was leicht möglich ist.

Was *T. bicarinata* anbelangt, ist diese Art im Untertorton Polens häufig, besonders in dem tieferen Horizonte desselben (Małoszów, Korytnica, Podhorce, Hołubica, Dryszczów). Auf den Exemplaren aus diesen Lokalitäten habe ich keine Spur der Loslösung des Gewindes gesehen, einige aus Hołubica (Fig. 11—12) ausgenommen, welche dieser Form entsprechen, die M. Hoernes als var. *scalaria* irrtümlich ausgeschieden hat. Die Exemplare aus dem etwas höheren Horizonte der gegen NO liegenden Orte (Stary Poczajów, Żukowce) haben schon die Tendenz zum Aufrollen des Gehäuses, es kommt schon hier zur Entstehung der *T. scalaria*, obwohl in kleineren, noch nicht typischen Exemplaren. Vollkommen ausgebildet ist diese Art nur in den Sanden von Szuszkowce. In den noch jüngeren Buhłówkaschichten fehlt schon diese Art, wie auch in dem darauf folgenden Sarmat.

Wir sehen also, daß die Art *T. bicarinata* in den höheren Horizonten des Untertortons <sup>1)</sup> schon im Sterben begriffen ist und daß sie dort die Tendenz zur Loslösung des Gewindes zeigt. Gegen Ende des Untertortons ist sie bereits ausgestorben, auch die aus ihr entstandene *T. scalaria*.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Loslösung des Gewindes ein Zeichen (nicht Ursache) des Absterbens des Stammes der *T. bicarinata* ist, wir hätten sonach vor uns dieselbe Erscheinung, welche an manchen evoluten Kreideammoniten bekannt ist. Da die evoluten Formen von den normalen stammen, können wir darauf schließen, daß die Schichten mit evoluten Formen jünger sind als diejenigen, welche die ancestralen Formen mit normalem Gewinde enthalten. Im unseren Fall bestätigt das Vorkommen der *T. scalaria* in Szuszkowce das etwas jüngere Alter der dortigen Sande, welches Mikhailowski angenommen hat.

<sup>1)</sup> Ich teile Torton von Polen in zwei ungleiche Teile: Untertorton (Opolien), von längerer Dauer, umfaßt bei mir alle Bildungen bis zum Gips, der Obertorton die über dem Gipse liegenden (zu vergleichen ist meine Arbeit: Beiträge zur Kenntnis des Miocäns von Polen, II T. Rocznik Pol. Towarzystwa Geolog. Bd. IX. Kraków 1933).

*T. scalaria* de Buch ist zwar nur aus dem Torton Wolhyniens bekannt, aber in einer meiner früheren Arbeiten (5) habe ich als Fundorte noch Fulsztyn und Trościaniec in Russisch-Podolien angegeben, Mikhailowski (7) zitiert sie noch aus dem Orte Nasławacze in Bessarabien. Da ich die Exemplare aus dieser Ortschaft nicht kenne, kann ich nicht angeben, ob es sich um typische Exemplare dieser Art handelt, oder nur um eine Übergangsform von *T. bicarinata*. Aus dem Torton des Wienerbeckens ist *T. scalaria* nicht bekannt. Das auf der Fig. 12 der Tafel 43 der Monographie von M. Hoernes dargestellte Exemplar aus Steinabrunn ist eine *T. bicarinata*, welche etwas zur Loslösung des Gewindes neigt, wie die aus Hołubica dargestellten Exemplare dieser Art. Unlängst hat Nitulescu (8) *T. scalaria* aus Lapugy angegeben, er war aber so freundlich mir über meine Anfrage mitzuteilen, daß er nur ein juveniles Exemplar gefunden hat und bei solchem ist die Bestimmung unsicher.

Es ist angezeigt die chronologische und geographische Verbreitung der *T. bicarinata* zu untersuchen. Sie ist aus dem Unteriocän nicht bekannt, zum erstenmal erscheint sie im Helvet, dort schon weit verbreitet. Wir kennen dieselbe aus dem Helvet des Wienerbeckens (Grund), der Schweiz, der Touraine, der Umgegend von Bordeaux, da die von Cossmann und Peyrot (9) beschriebene *T. pythagoraica* Hilb. eine *T. bicarinata* ist, was ich schon früher (10) nachgewiesen habe. Dollfus, Cotter et Gomez (11) haben zwar diese Art aus dem Helvet und Torton von Portugal angegeben, aber ihre Figur (Tafel 30, Fig. 4) giebt Anlaß zum Zweifel über die Richtigkeit der Bestimmung. Es gehört auch die vom Cossmann (14, livr. IX, Taf. 6, Fig. 29—30) als *T. bicarinata* vom Oberpliocän aus Sidi-Moussa in Algerien abgebildete Form nicht zu dieser Art, sondern zur *T. erronea* Cossm., was dieser Autor später (ibidem, livr. X, Seite 258) berichtigt hat. Da *T. bicarinata* Eichw. manchmal noch nicht richtig bestimmt wird, gebe ich eine photographische Reproduktion zweier Exemplare von Żukowce (Fig. 8—9), von wo Eichwald diese Art beschrieben hat<sup>1)</sup> und eines von Korytnica (Fig. 10), welche Lokalität dieser Autor auch als Fundort angibt.

<sup>1)</sup> Die Exemplare von Żukowce sind bedeutend kleiner als die von anderen Fundorten.

In Norditalien ist nach Sacco (12) die typische Form nicht bekannt, aus dem Torton und aus dem Helvet einige Varietäten, welche wahrscheinlich nur Formen der stark variablen *T. bicarinata* sind. Aus dem Pliocän beschreibt jedoch derselbe Autor eine Form, welche er »*T. bicarinata*? var. *conoligustica* (an species distinguenda)« nennt (l. c. Seite 15, Taf. 1, Fig. 52). Diese ist jedoch von dieser Art verschieden und gehört wahrscheinlich nicht zur Untergattung *Eichwaldiella* sondern zur *Zaria*. Wir müssen auch die Angabe Cocconi's (13) unberücksichtigt lassen, welcher *T. bicarinata* aus dem Pliocän von Castellarquato angibt, da sie von den späteren Autoren nicht bestätigt wurde und dem Sacco bedenklich erschien.

Aus dem Torton wird *T. bicarinata* außer Norditalien nur aus dem Wienerbecken, Böhmen, Ungarn und aus Siebenbürgen angegeben, dazu kommen noch die Funde in Südpolen. Es scheint also, daß sich im Torton der Verbreitungsbezirk unserer Art nach Osten verlegt hat. Im Torton finden sich schon bei ihr Anfänge der Loslösung des Gewindes (Wolhynien), welche schließlich zur Entstehung der *T. scalaria* führte. Die Kartenskizze im Texte gibt die Verbreitung beider Arten an.

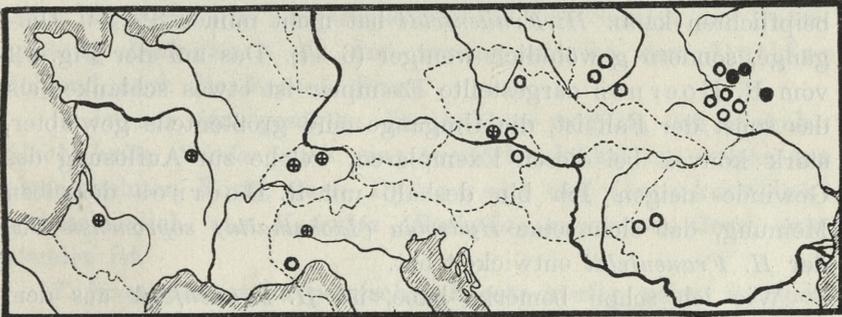


Fig. 1. Verbreitung der *T. bicarinata* Eichw. und der *T. scalaria* de Buch in Miocän von Europa. (*T. bicarinata* im Helvet Kreise mit Kreuz, im Torton Kreise, *T. scalaria* schwarze Kreise).

Falls meine Ansicht richtig sein sollte, müßten auch andere Beispiele dieses Vorganges (Absterben eines Gastropodenstammes nach dem Aufrollen des Gewindes) beigebracht werden.

Im Jahre 1897 hat R. Hoernes (15) eine evolute Form aus den obersarmatischen Schichten von Zemendorf im Burgenlande

beschrieben, welche er *Hydrobia (Liobaikalia) sopronensis* genannt hat. Diese Art ist durch die vollständige Loslösung des Gewindes aus der *Hydrobia Frauenfeldi* entstanden. R. Hoernes zeichnet auch (Taf. 2, Fig. 13) eine losgelöste, aber nicht gestreckte Form, welche er für eine Übergangsform von der *H. Frauenfeldi* zur *H. sopronensis* betrachtet.

*Hydrobia Frauenfeldi* wurde vom M. Hoernes aus dem Sarmat des Wienerbeckens beschrieben. In Polen ist sie aus dem Torton und Sarmat bekannt, im Sarmat ist sie häufiger und bei den sarmatischen Exemplaren habe ich manchmal eine Tendenz zur Loslösung des Gewindes gesehen, welche freilich noch wenig vorgeschritten ist und die sich dadurch kundgiebt, daß die letzten Umgänge gewölbter sind und die Nat tiefer. Ich gebe auf der Fig. 13—15 eine photographische Reproduktion einiger Exemplare aus dem Sarmat von Dwikozy. Diese Erscheinung ist schon Eichwald nicht entgangen, welcher von seiner *Rissoa elongata* (= *Hydrobia Frauenfeldi* Hoern.) sagt, daß die Umgänge »détachés aux sutures« sind (3, Seite 460).

Nun behaupten aber Dybowski und Grochmalicki (16), daß nicht *H. Frauenfeldi*, sondern daß *H. ventrosa* Mont. die Stammform der *H. sopronensis* sei, welcher Meinung ich nicht beipflichten kann. *H. Frauenfeldi* hat nicht immer  $8\frac{1}{2}$ —9 Umgänge, sondern gewöhnlich weniger (6—7). Das auf der Fig. 12 vom R. Hoernes dargestellte Exemplar ist etwas schlanker als das sonst der Fall ist, die Umgänge sind größtenteils gewölbter, stark konvex bei diesen Exemplaren, welche zur Auflösung des Gewindes neigen. Ich bin deshalb mit R. Hoernes derselben Meinung, daß sich seine *Hydrobia (Liobaikalia) sopronensis* aus der *H. Frauenfeldi* entwickelt hat.

Wie ich schon bemerkt habe, ist *H. Frauenfeldi* aus dem Torton bekannt, lebt im ganzen Sarmat und stirbt im Obersarmat aus. Zur Zeit als dieselbe ihrem Untergange nahe ist, erscheint die evolute *H. sopronensis* als ihr Nachfolger, welcher jedoch bald stirbt.

Aus diesen zwei Fällen ist der Schluß erlaubt, daß die Loslösung des Gewindes bei einigen Gastropoden ein Zeichen des Absterbens der diesbezüglichen Art ist, wenigstens in diesem Verbreitungsbezirke, aus welchem die evoluten Formen bekannt sind. Es ist jedoch bekannt, daß dieser Vorgang auch zu einer anderen

(liegenden) Lebensweise führen konnte, ohne schon davon zu sprechen, daß bei einigen Individuen teilweise losgelöste Gehäuse als Abnormität vorkommen, was ich auch bei Gastropoden unseres Miocäns beobachten konnte.

*Turritella scalaria* halte ich jetzt für eine separate Art, welche sich aus der *T. bicarinata* entwickelt hat und durch Übergänge mit ihr verbunden ist. Beide Arten gehören zu der von mir aufgestellten Untergattung *Eichwaldiella*.

Manche Autoren haben die Loslösung des Gewindes als systematisches Merkmal bedeutend überschätzt, wie Dybowski und Grochmalicki (16), die nicht nur für die *Hydrobia sopronensis* eine neue Untergattung *Liosarmata* aufgestellt haben, sondern auch für diese Übergangsform von *H. Frauenfeldi* zur *H. sopronensis*, welche R. Hoernes auf der Fig. 13 dargestellt hat und welche sie *Subliosarmata Hoernesiana* genannt haben.

Für die wohlbekanntere Art des Bajkalsees *Liobaikalia Stiedae* Dyb. wurde die Gattung *Liobaikalia* v. Martens aufgestellt. Wahrscheinlich ist G. Dollfus (17) im Unrecht, wenn er mit Crosse und Fischer die Möglichkeit annimmt, daß sich bei dieser Form nur um eine Abnormität handelt. Der sonst zur Zersplitterung der Gattungen und Arten neigende Cossmann hält jedoch (14, Livr. 12, Seite 101) *Liobaikalia* nur für eine Sektion der Untergattung *Hydrobia* s. str. und vereint mit ihr, dem Dollfus folgend, auch die *Baglivia* Brus.

Es ist aus dem gesagten die Annahme möglich, daß *Hydrobia* (*Liobaikalia*) *Stiedae* auch eine aussterbende Art ist, welche aus einer evoluten Form, nach Dybowski und Grochmalicki wahrscheinlich aus *Hydrobia* (*Baikalia*) *angarensis* Gerst. entstanden ist.

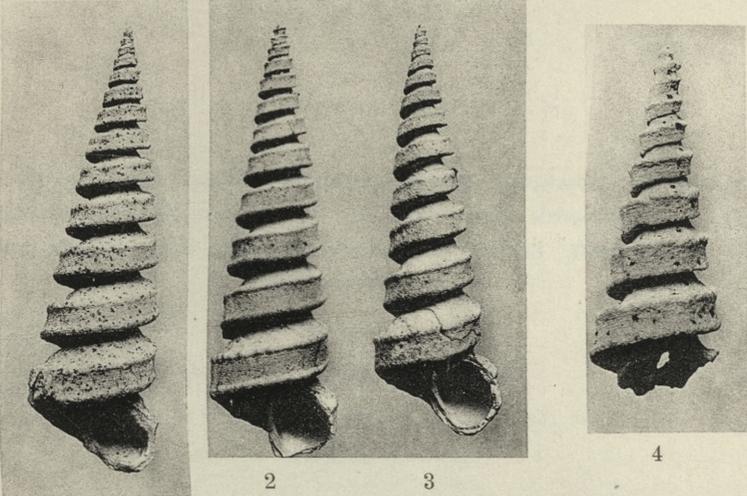
*T. bicarinata* ist im polnischen Miocän häufig, neben ihr auch zwei andere *Turritella*-Arten, nämlich *T. badensis* Sacco und *T. pythagoraica* Hilb. Ich habe mehrere Hunderte Exemplare dieser zwei Arten untersucht, aber bei keinem eine Spur des Loslösens des Gewindes gesehen, beide Arten gehören jedoch zu Untergattungen, welche noch in Blüte sind. Es kam jedoch auch hier individuell als Abnormität zu einer Loslösung des Gehäuses im kleinen Maße, wie es z. B. ein Exemplar der lebenden *T. communis* Risso beweist, bei dem der letzte Umgang losgelöst ist, welchen Fall Pérez (18) beschreibt.

## Literaturverzeichnis.

1. de Buch: Sammlung von Versteinerungen aus Podolien von Eichwald und Dubois. Karstens Archiv. Bd. II, Seite 132. — 2. Dubois de Montpéreux: Conchiologie fossile du plateau wolyynie-podolien. Berlin 1931. Seite 36—37, Taf. 2, Fig. 18. — 3. Eichwald: Lethaea rossica: dernière période. Stuttgart 1853, Seite 280—281. — 4. M. Hoernes: Die fossilen Mollusken des Tertiärbeckens von Wien, Bd. I, Wien 1856, Seite 426—427. — 5. W. Friedberg: Rodzaj *Turritella* w miocenie ziem polskich. Rozp. Wyzd. mat.-przyr. Ak. Um. tom 48, ser. B, Kraków 1909, Seite 472—473, Taf. 14, Fig. 16. — 6. Idem: Mięczaki miocénskie ziem polskich (Mollusca miocaenica Poloniae), Bd. I, Lwów—Poznań, 1911—1928, Seite 334—335, Taf. 19, Fig. 22. — 7. Mikhaïlowski: Die Mediterranablagerungen von Tomakówka. Mémoires du Comité Géologique. Petersbourg 1903. — 8. Nitulescu: Contribuțiuni la studiul geologic al regiunii Lapugiul de Sus. Revista muzeului geologic-mineralogic al univers. din Cluj. vol. IV, Cluj 1931. — 9. Cossmann et Peyrot: Conchol. néog. de l'Aquitaine, Bd. IV, Bordeaux 1922, Seite 27—28, Taf. 2, Fig. 41—42. — 10. Friedberg: Notes sur quelques Gastéropodes de l'helvetien de la Touraine. Journal de Conchyliologie, vol. 77, Paris 1933. — 11. Dollfus, Berkeley, Cotter et Gomes: Mollusques tertiaires du Portugal. Lisbonne 1903—1904. — 12. Sacco: I molluschi dei terreni terz. del Piemonte e della Liguria, parte 19, Torino 1895. — 13. Cocconi: Enumerazione sistematica dei molluschi miocenici e pliocenici di Parma e di Piacenza. 1873. Seite 599. — 14. Cossmann: Essais de paléoconchologie comparée, livr. 9. Paris 1912, Taf. 6, Fig. 29—30. — 15. R. Hoernes: Sarmatische Conchylien aus dem Oedenburger Comit. Jahrbuch d. Geolog. Reichsanstalt. Bd. 47, Wien 1897, Seite 72—75, Taf. 2. Fig. 14—16. — 16. Dybowski i Grochmalicki: Badania nad ślimakami bajkalskimi o rozwiniętych skorupach. Kosmos, Bd. 45. Lwów 1920. — 17. G. Dollfus: Recherches critiques sur quelques genres et espèces d'Hydrobia. Journal de Conchyliologie, vol. 59, Paris 1911, Seite 210. — 18. Pérez: Anomalies de détorsion de la coquille chez la turritelle et chez l'es-cargot. Bulletin de la Société Zool. de France, vol. 54, Paris 1929.

## Erklärung der Tafel 4.

- Fig. 1—3. *Turritella scalaria* de Buch, Szuszkowce,  $\times 1$ .  
 Fig. 4. Dasselbe Jugendexemplar Spitze,  $\times 4$ .  
 Fig. 5—6. Dasselbe, Wiśniowiec,  $\times 1$ .  
 Fig. 7. Übergang von *T. bicarinata* zur *T. scalaria*, Stary Począjów,  $\times 1$ .  
 Fig. 8—9. *Turritella bicarinata* Eichw. Żukowce,  $\times 1$ .  
 Fig. 10. Dasselbe, Korytnica,  $\times 1$ .  
 Fig. 11—12. Dasselbe var. *Holubica*,  $\times 1$ .  
 Fig. 13—15. *Hydrobia Frauenfeldi* Hoern. Dwikozy,  $\times 4$ .



1

2

3

4



5



6



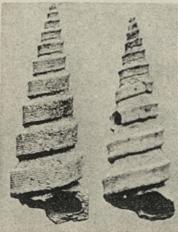
10



11



12



7

8



9



13



14



15



*Unerwienie narządów przyczepnych splewki Argulus foliaceus L. (Branchiura). — Über die Innervation der Haftapparate der Karpfenlaus Argulus foliaceus L. (Branchiura).*

Mémoire

de M. J. ZACWILICHOWSKI,

présenté le 6 mai 1935, par M. S. Maziarski m. t.

(Planche 5).

Die neueren Arbeiten über das periphere Nervensystem und die Sinnesorgane der Krustaceen, betreffen hauptsächlich die Krusterggruppe *Malacostraca* (*Decapoda*, *Isopoda*, *Amphipoda* u. a); die Entomostraken sind dagegen in dieser Hinsicht weniger bekannt. Insbesondere haben wir keine neuere Arbeiten über die Sinnesnervenelemente der Arguliden (*Branchiura*), abgesehen von den Arbeiten Herter's<sup>1)</sup>, von denen die eine die Augen der Karpfenlaus und die andere die Perzeption verschiedener Reize und die Reagierungsweise auf dieselben behandelt. Die relativ besten und ausführlichsten Angaben über das Nervensystem und die Sinnesorgane verdanken wir den älteren Autoren, vor allem Leydig und Claus. Diese Angaben sind jedoch sehr unvollkommen, in vielen Punkten ungenau, in anderen gar irrtümlich. Meine Untersuchungen, die mittels Rongalitweißfärbungsmethode ausgeführt worden sind, lassen eine genauere Kenntnis des Nervensystems der Karpfenlaus und dessen Topographie gewinnen. In vorliegender Arbeit stelle ich die Innervation der Haftapparate von *Argulus foliaceus* L. dar. Die Haftapparate sind bei der Karpfenlaus

<sup>1)</sup> Herter K. Über die Komplexaugen der Karpfenlaus (*Argulus foliaceus*). Zool. Jahrb. Abt. f. allg. Zool. B. 45, 1928. — Herter K. Reizphysiologische Untersuchungen an der Karpfenlaus (*Argulus foliaceus*). Zeitschr. f. vergl. Physiol. B. 5, 1927.

hauptsächlich durch die vorderen Antennen (die Antennulen) und die in Haftscheiben (Haftnäpfe) umgebildeten vorderen Maxillarfüße repräsentiert; ich beschreibe jedoch zugleich die Innervation der hinteren Antennen (kurz: der Antennen).

### Die Angaben von Claus und Leydig.

Über die Nerven der Antennulen der Karpfenlaus berichten Claus und Leydig. Nach Claus<sup>1)</sup> »treten noch aus dem Gehirn zwei kleine Nerven zu den vorderen Antennen, doch habe ich mir von der Austrittsstelle keine direkte Rechenschaft geben können. Jedenfalls gehört dieser Nerv dem oberen Schlundganglion selbst an, und ist nicht ein Zweig des erwähnten zweiten Antennennervs« (p. 253). »Die Nerven der vorderen Antennen durchsetzen in dem basalen Abschnitt des großen Hakengliedes ein kleines Ganglion und lassen sich bis in die Endglieder hinein verfolgen, wo einige Fasern nochmals mit zwei großen Ganglienzellen in Verbindung stehen« (p. 244). Die Nerven des zweiten Antennenpaares entspringen nach Claus aus zwei ventralen Anschwellungen gangliöser Natur, welche an der Übergangsstelle des Gehirns in den Schlundring sich an diesem erheben und besonders schon an jüngeren Exemplaren an der Basis der Stachelscheide nachzuweisen sind. Die erwähnten Anschwellungen nennt Claus weiter: Ganglien der Schlundkommissuren (p. 252).

Leydig (1850) gibt an<sup>2)</sup>, daß aus dem Gehirn ein zweites Nervenpaar (das erste Nervenpaar wird durch die Sehnerven repräsentiert) entspringt, aber weiter nach hinten als die Sehnerven, und zu den Antennen, geht (p. 329). In einer späteren Arbeit (1889) gibt Leydig weiter folgendes an<sup>3)</sup>: »der Antennennerv kommt von dem Ganglion, welches ich vorhin dem *Lobus olfactorius* verglichen habe. Von ihm geht nach einwärts, etwa in der Höhe des Ganglion *opticum*, ein schwacher Zweig ab, ohne daß mir klar geworden wäre, wohin er sich verliert« (p. 12).

Es bleibt zweifelhaft, ob die oben angeführten Angaben Leydig's nur das eine oder die beiden Paare der Antennen betreffen.

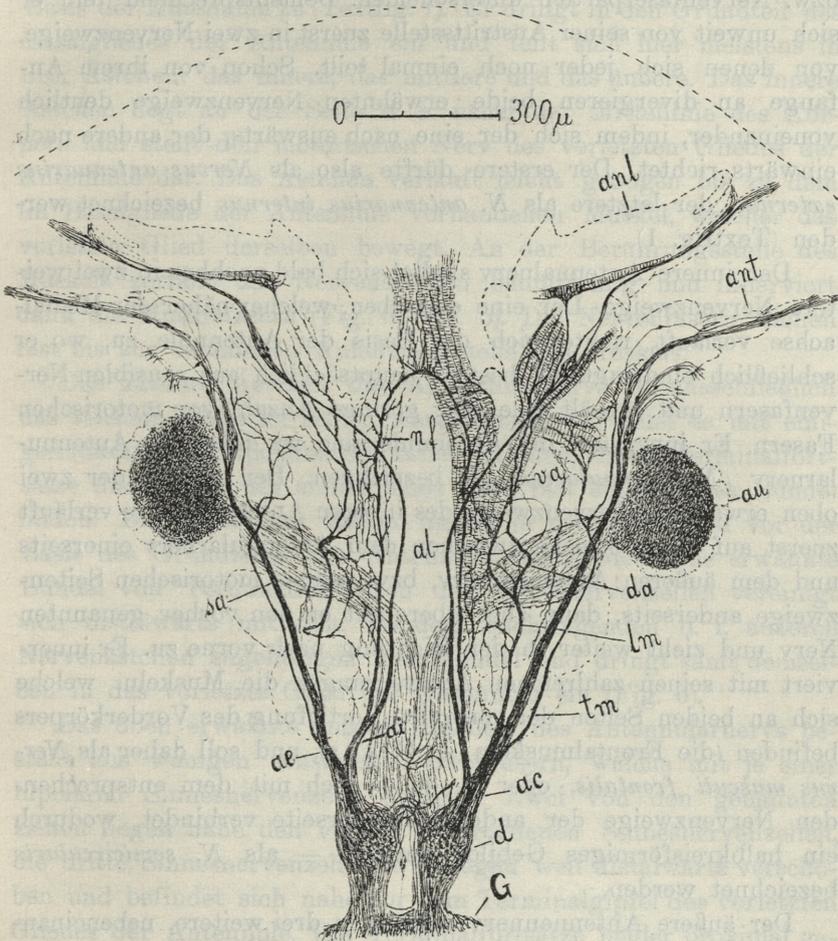
<sup>1)</sup> Claus C., Über die Entwicklung, Organisation und systematische Stellung der Arguliden. Zeitschr. f. wiss. Zool. B. 25, 1875.

<sup>2)</sup> Leydig F., Über *Argulus foliaceus*. Zeitschr. f. wiss. Zool. B. 2, 1850.

<sup>3)</sup> Leydig F., Über *Argulus foliaceus*. Neue Mitteilung. Archiv f. mikr. Anat. B. 33, 1889.

**Die Nervenzweige der beiden Antennenpaare.**

An meinen Präparaten ist ersichtlich, daß aus dem ventral und seitlich an das Protocerebrum anliegenden Hirnlobus ein starker Nervenstamm nach vorne entspringt (Textfig. 1). Der Lo-



Textfigur 1. Der Vorderkopfabschnitt der Karpfenlaus, von der Ventralseite gesehen. Es sind die aus dem Deutocerebrum entspringenden Nerven der beiden Antennenpaare samt ihren Verzweigungen sichtbar. Die anderen Nerven des Kopfschildes sind nicht gezeichnet worden.

bus stellt hier das Deutocerebrum dar. Der Nervenstamm ist von Claus unberechtigterweise als der Nerv der hinteren Antenne

genannt und auf Tafel XVI (N'') abgebildet worden; er soll als der gemeinsame Antennennerv, kurz Antennennerv (*Nervus antennarius communis*) bezeichnet werden. Er ist zwar einheitlich, doch kann man deutlich drei einander anliegende Nervenfaserbündel, bzw. Nervenfasernpartien unterscheiden. Dementsprechend teilt er sich unweit von seiner Austrittsstelle zuerst in zwei Nervenzweige, von denen sich jeder noch einmal teilt. Schon von ihrem Anfange an divergieren beide erwähnten Nervenzweige deutlich voneinander, indem sich der eine nach auswärts, der andere nach einwärts richtet. Der erstere dürfte also als *Nervus antennarius externus*, der letztere als *N. antennarius internus* bezeichnet werden (Textfig. 1).

Der innere Antennalnerv spaltet sich bald nachher in zwei weitere Nervenzweige. Der eine derselben, welcher näher der Medialachse verläuft, richtet sich der Basis der Antennule zu, wo er schließlich eindringt. Er besteht hauptsächlich aus sensiblen Nervenfasern und enthält eine sehr geringe Anzahl von motorischen Fasern. Er innerviert die Antennule und ist daher als Antennularnerv (*N. antennularius*) zu bezeichnen. Der andere der zwei oben erwähnten Nervenzweige des inneren Antennennervs verläuft zuerst auf einer Strecke zwischen dem Antennularnerv einerseits und dem äußeren Antennennerv, bzw. seinem motorischen Seitenzweige andererseits, dann aber überquert er den vorher genannten Nerv und zieht weiter in der Richtung nach vorne zu. Er innerviert mit seinen zahlreichen Abzweigungen die Muskeln, welche sich an beiden Seiten der ventralen Vertiefung des Vorderkörpers befinden (die Frontalmuskeln — Claus), und soll daher als *Nervus muscoli frontalis*, oder — da er sich mit dem entsprechenden Nervenzweige der anderen Körperseite verbindet, wodurch ein halbkreisförmiges Gebilde entsteht — als *N. semicircularis* bezeichnet werden.

Der äußere Antennennerv zerfällt in drei weitere, nebeneinander laufende Nervenzweige. Der eine von ihnen fungiert als motorischer Antennularnerv (*N. antennulo-motoricus*), der zweite als sensibler Antennalnerv (*N. sensillo-antennarius*) und der dritte als motorischer Antennalnerv (*N. antenno-motoricus*). Der gemeinsame Antennalnerv bildet also den Hauptstamm für 5 Hauptzweige, von denen jeder eine andere besondere Rolle spielt.

### Die Innervation der Antennule.

Der Antennularnerv spaltet sich von dem inneren Antennennerv an der Innenseite ab, verläuft dann bogenartig und indem er den *Nervus musculi frontalis* überkreuzt hat, richtet er sich der Basis der Antennule zu (Textfig. 1). Er dringt in den Grundteil des Basalgliedes der Antennule ein und teilt sich hier meistens in drei Ästchen: das innere, das mittlere und das äußere. Das innere Ästchen liegt an der Seite d. h. näher der Mittellinie des Körpers und stellt den motorischen Nerv des vorletzten Gliedes der Antennule dar. Das Ästchen verläuft leicht gebogen bis zu dem im Basalgliede der Antennule vorhandenen Muskel, welcher das vorletzte Glied derselben bewegt. An der Berührungsstelle des Muskels zerfällt das Nervenästchen baumförmig und innerviert dann die Muskelfasern (Fig. 6, Taf. 5). Die Nervenfasern reichen fast bis zur terminalen Anheftungsstelle des Muskels.

Das mittlere Ästchen des Antennularnervs ist ausschließlich das sensible. Nahe an seiner Abspaltungsstelle endet es mit einigen (meistens 5) bipolaren Sinnesnervenzellen, deren Terminalfortsätze distalwärts ein einheitliches oder fast einheitliches Bündel bilden. Die genannten Zellen liegen in der oder noch vor der Basis des Grundteiles des Antennularbasalgliedes. Das erwähnte Bündel von Terminalfortsätzen der Sinnesnervenzellen vereinigt sich distalwärts mit dem zu dem nachfolgenden d. i. äußeren Nervenästchen zugehörigen Faserbündel und dringt samt demselben in das vorletzte Glied der Antennule ein (Fig. 6).

Das oben erwähnte äußere Ästchen des Antennularnervs besteht aus wenigen sensiblen Nervenfasern, welche mit je einer bipolaren Sinnesnervenzelle endigen. Zwei von den genannten Zellen liegen nahe den vorher besprochenen Sinnesnervenzellen, die dritte Sinnesnervenzelle ist dagegen weit distalwärts verschoben und befindet sich nahe vor dem Terminalgipfel des vorletzten Gliedes der Antennule. Die Terminalfortsätze beider proximal gelegenen Sinnesnervenzellen sowie die proximale (zentripetale) Faser der dritten, distal liegenden Zelle schließen sich an das oben erwähnte Bündel der Terminalfortsätze des mittleren Ästchens an und bilden so ein anfänglich mehr oder minder einheitliches Faserbündel, welches in das vorletzte Antennularglied eindringt. Distalwärts spaltet sich aber das erwähnte Bündel zuerst in zwei Abzweigungen. Die eine derselben bleibt in dem genannten Gliede

und zerfällt bald in einzelne, nebeneinander laufende Nervenfasern, von denen sich drei dem terminalen fingerförmigen Fortsatze des Gliedes zuwenden und außer der Spitze desselben auch die beiden auf dem genannten Fortsatze stehenden haarförmigen Sensillen d. h. die größere und die kleinere innervieren, die zwei anderen Nervenfasern dringen dagegen in das Endglied der Antennule ein, in welches auch die Nervenfasern der zweiten oben erwähnten Abzweigung geraten. Die Anzahl der letzteren Nervenfasern beträgt 4. Es sind also sämtlich 6 terminale sensible Nervenfasern in dem Endgliede der Antennule vorhanden (Fig. 6). Sie innervieren eine entsprechende Anzahl von haarförmigen Sensillen, welche an der Spitze des Antennularendgliedes stehen. Ich halte es aber für nicht ausgeschlossen, daß auch eine oder einige wenige motorische Nervenfasern an der Zusammensetzung des äußeren Ästchens des Antennularnervs teilnehmen.

Öfters kommt es auch vor, daß die beiden sensiblen Ästchen des Antennularnervs sich miteinander vereinigen und dadurch ein einheitliches Nervenzweigchen bilden (Textfig. 1, links). In solchen Fällen zerfällt dasselbe in dem Grundteile des antennulären Basalgliedes in einzelne Nervenfasern. Gewöhnlich endigen bald sieben von denselben mit je einer Sinnesnervenzelle. Die achte Nervenfaser endigt auch in derselben Weise, doch liegt die entsprechende d. h. die achte Sinnesnervenzelle weiter distalwärts und zwar nicht an der Basis des Basalgliedes der Antennule, sondern vor dem terminalen Ende des vorletzten Antennulargliedes.

Der Hauptabschnitt des Basalgliedes besitzt keine Sinnesorgane noch Sinnesnervenelemente; auch sind die Häkchen der Antennule nicht innerviert.

Der motorische Nerv der gesamten Antennule stammt aus dem der hinteren Antenne zugehörigen Nervenaste, er wird also im nachfolgenden Kapitel besprochen.

### Die Innervation der Antenne.

Der schon oben erwähnte, aus dem gemeinsamen Antennennerv stammende *Nervus antennarius externus* teilt sich kurz nach seinem Selbständigwerden in drei Nervenzweige. Der eine von ihnen ist nach einwärts, der andere nach auswärts gerichtet und zwischen denselben läuft der dritte, d. h. der mittlere, zugleich der stärkste Nervenzweig. Die zwei ersteren Nervenzweige stellen

die motorischen Nerven, der dritte dagegen den sensiblen Nerv dar (Textfig. 1).

Der nach einwärts gerichtete motorische Nerv ist als motorischer Antennularnerv zu bezeichnen. Er gibt fast von seinem Anfange an kleine, reichlich verzweigte Abzweigungen ab, welche die proximalen Abschnitte der benachbarten Muskelfasern (Frontalmuskel — Claus) innervieren, dann spaltet er sich in zwei Arme. Der eine derselben richtet sich etwas dorsalwärts und innerviert den dorsalen Hauptmuskel der Antennule, während der andere Arm ein wenig ventralwärts verläuft und die ventralen Muskelfasern innerviert. Die Nervenfasern beider Arme reichen fast bis zu der Stelle, wo die Querstreifen der Muskelfasern verschwinden und der Sehnen teil beginnt.

Der folgende Nervenzweig ist der eigentliche d. h. der sensible Antennalnerv. Die Antenne der Karpfenlaus ist aus fünf Gliedern und zwar aus dem Koxalgliede, dem Basalgliede, dem drittletzten, dem vorletzten und dem letzten Gliede (dem Endgliede) zusammengesetzt. Der genannte Nervenzweig läuft in fast gerader Richtung von seinem Anfang an bis in die Höhe des Komplexauges, an welches er hier beinahe anliegt, dann richtet er sich etwas nach einwärts und teilt sich, nachdem er in das rudimentäre Koxalglied eingedrungen ist, in zwei Ästchen. Das eine derselben weist kurz nach seiner Abspaltung einige (5—7) bipolare Sinnesnervenzellen auf, deren Terminalfortsätze in das Basalglied eindringen und vorwiegend die Härchen der beiden an dem hinteren Rande der Antenne vorhandenen Härchengruppen einzeln innervieren (Fig. 4, Taf. 5). Außer den die oben erwähnten Sinnesnervenzellen aufweisenden Nervenfasern gehören zu diesem Ästchen als seine Bestandteile auch jene Nervenfasern, deren Sinnesnervenzellen weiter distalwärts sich befinden, und zwar in dem Basalgliede der Antenne.

Der zweite von den erwähnten Ästchen des Antennalnervs verläuft anfänglich parallel zu dem ersteren und dringt in das Basalglied der Antenne. Die Nervenfasern dieses Ästchens weisen in ihrem Verlaufe je eine Sinnesnervenzelle auf. Manche von den erwähnten Sinnesnervenzellen befinden sich schon in dem Nervenabschnitte, welcher dem Koxalgliede angehört, die anderen erscheinen erst in dem Basalgliede; es wird aber gewöhnlich auch in dem nachfolgenden, drittletzten Gliede we-

nigstens eine solche Zelle angetroffen. Die Terminalfortsätze der erwähnten Zellen verlaufen distalwärts und dringen in das drittletzte Antennalglied ein, wo zwei derselben endigen, indem sie die zwei terminal gelegenen Härchen innervieren. Der übrige Rest von Terminalfortsätzen gelangt in das vorletzte Antennenglied, in welchem auch einige von denselben auf dieselbe Weise endigen, die anderen dagegen dringen schließlich in das Endglied der Antenne und enden hier in den Basalabschnitten der apikal angesetzten Sinneshärchen (Fig. 4).

Die zwei auf dem apikalen Rande des Basalgliedes der Antenne stehenden Härchen werden mit den Terminalfortsätzen der Sinnesnervenzellen innerviert, deren Zellen bald dem letzterwähnten, bald dem ersteren Ästchen des Antennennervs angehören.

Gewöhnlich kreuzen sich die terminalen Nervenfasern der beiden erwähnten Ästchen miteinander (Textfig. 1, linke Hälfte); auch gesellen sich manchmal einige Fasern des einen Ästchens zu den Fasern des anderen. Niemals bilden jedoch die oben besprochenen Terminalfortsätze ein einheitliches Faserbündel oder einen einheitlichen Strang; sie verlaufen stets nebeneinander als lose, einzelne Fasern. Das gesamte Bild erinnert etwas an die Verhältnisse, welche Abraham und Wolsky<sup>1)</sup> bei dem Isopoden Kruster *Titanethes graniger* Friv. beschrieben haben, doch sind auch manche Unterschiede deutlich erkennbar. Das wichtigste Differenzmerkmal ist das Nichtvorhandensein von solchen Sinnesnervenzellen in der Antenne der Karpfenlaus, welche Abraham und Wolsky als »Sinneszellen, deren Fortsätze frei an der Oberfläche endigen«, bezeichnen. Ein anderes, auffallendes Merkmal ist eine um vieles geringere Anzahl der in der Antenne der Karpfenlaus verlaufenden Nervenfasern.

Der nachfolgende, aus dem gemeinsamen Antennennerve entspringende Nervenzweig innerviert die Muskel der Antenne, er stellt also den motorischen Antennennerv dar. In der Höhe des Augennervs biegt er sich nach einwärts, kreuzt sich dadurch mit dem sensiblen Antennennerv, dann teilt er sich in zwei Arme. Beide zerfallen kurz darauf baumartig und innervieren die die Antenne bewegendenden Muskelfasern.

<sup>1)</sup> Abraham A. und Wolsky A. Über die Nerven und Nervenendigungen der Antennen einiger Landisopoden. Zool. Anz. B. 84, 1929.

Beide letztbesprochenen Nerven d. h. der sensible und der motorische Antennennerv verlaufen ventral von der Sehmasse des Komplexauges.

### Die Wurzel des Antennennervs.

Es sollen noch einige Worte der Wurzel des gemeinsamen Antennennervs gewidmet werden. Die erwähnte Wurzel entspringt vorne und etwas seitlich aus dem ventral gelegenen Deutocerebrum. Auf den Totalpräparaten kann man in der Wurzel drei gesonderte, doch nebeneinander laufende Bündel von Nervenfasern unterscheiden (Fig. 5, Taf. 5). Das von der Seite der Körperhauptachse verlaufende Faserbündel tritt in den vorderen, zugleich den ventralen Teil des Deutocerebrum ein. Die Fasern dieses Bündels stellen den proximalen Abschnitt des sensiblen Antennularnervs vor. Die größte Anzahl der genannten Nervenfasern endet bald nach vorheriger Eindringung in das Deutocerebrum und zwar zerfallen sie hier in kurze, oft mit den Endknöpfchen endigende Telodendrien.

Das folgende Nervenfaserbündel ist durch die motorischen Nervenfasern des Semizirkulärnervs sowie diejenigen des motorischen Antennularnervs und des motorischen Antennennervs gebildet. Die genannten Nervenfasern bilden die mittlere, zugleich die dorsale Partie des gemeinsamen Antennennervs und dringen in den mittleren Teil des Deutocerebrum ein. In dieser Partie des Deutocerebrum sowie in der vorderen sind auch die Ganglienzellen sichtbar, doch liegen sie ventral. Man sieht öfters, daß die eine oder die andere von den genannten Zellen einen Terminalfortsatz entsendet, welcher unter Krümmungen in das letztbesprochene Faserbündel eindringt und eine Nervenfasern desselben bildet. Es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß solche Ganglienzellen als motorische Zellen für die Nerven der die beiden Paare der Antennen bewegenden Muskel zu bezeichnen sind.

Manche von den in dem Deutocerebrum vorhandenen Ganglienzellen erweisen jedoch anders gerichtete Fortsätze. Man sieht manchmal, daß der Zellfortsatz nach vorne oder nach einwärts zu gerichtet ist. In anderen Fällen ist der Zellfortsatz in zwei entgegengesetzt gerichtete Arme geteilt, welche meistens — oder wenigstens anfänglich — in der Richtung der Längskonnektive

gewendet sind. Wahrscheinlich stellen diese Ganglienzellen die assoziativen Elemente dar.

Das letzte, d. h. das dritte Nervenfaserbündel des gemeinsamen Antennennervs, welches den proximalen Abschnitt des sensiblen Antennennervs repräsentiert, verläuft in dem Nervenstamme seitlich, d. h. von außen, zugleich etwas ventral und dringt in die hintere Partie des Deutocerebrum. Das Bündel bildet zugleich die seitliche und die hintere Wandung des genannten Nerven-zentrums. In dieser Gegend verschwinden die einzelnen Nervenfasern. Es dürfte ganz genau nicht festgestellt werden, ob sie hier mit Telodendrien enden oder vielleicht weiter in die Längskonnektive bzw. neben derselben eindringen. Ich meine, daß der letztere Fall wahrscheinlicher ist.

#### Die Innervation der Haftscheibe.

Über die Innervation und die Sinnesnervenelemente der Haftscheibe der Karpfenlaus wissen wir bisher eigentlich nichts. Leydig (1850) gibt nur an, daß von dem ersten Knoten des Bauchmarkes jederseits ein starker Nerv kommt, der sich bald in zwei Äste teilt, wovon der vordere zum Saugnapffußpaar geht und der hintere zum darauffolgenden ersten Fußpaar (p. 329). In seiner späteren Arbeit (1889) behauptet er dasselbe: »...Nerven, welche wahrscheinlich den Mundteilen bestimmt sind und aus dem unteren Schlundganglion den Ursprung nehmen. Aus dem gleichen Abschnitt (= dem ersten Ganglion des Bauchmarkes) kommt weiter rückwärts ein stärkerer Nerv, welcher sich teilt, um den Saugnapffuß und den Kieferfuß zu versorgen« (p. 12).

Dasselbe wiederholt auch Claus, indem er schreibt: »Zunächst treten in der vorderen Hälfte (des ersten Ganglion, welches Claus auch unteres Schlundganglion nennt) mindestens fünf Nervenpaare aus, welche die Muskeln der Kiefer und zum größeren Teil die mediane Muskelmasse der großen Saugnäpfe versorgen. Sodann tritt am hinteren Ende jederseits ein mächtiger Nerv hervor, der sich bald in zwei starke Äste spaltet. Der vordere dieser Äste versorgt die große vor der Schalendrüse entspringende Muskelmasse der Saugnäpfe, während der hintere zum Klammerfuß tritt, daneben aber noch einen starken Zweig wahrscheinlich für den Rückenschild abzugeben scheint« (p. 253). Claus fügt noch hinzu, daß schon Leydig richtig bemerkt hat, daß

beide Kieferfüße von den beiden Ästen dieses Nervenpaares versorgt werden.

Man kann leicht nachweisen, daß die oben angeführten Angaben irrig sind. Außerdem aber widmet Leydig, gleich wie Claus, nie ein Wort dem weiteren Verlaufe der Nervenzweige in der Haftscheibe; auch erwähnen beide Verfasser nichts über Sinnesnervenelemente des genannten Organs, als ob dasselbe keine solchen Elemente besitzen würde. Indessen besitzt die Haftscheibe eine so ungeweine Menge von Sinnesnervenelementen, daß sie, meiner Untersuchung nach, als das reichlichst innervierte Organ des Karpfenlauskörpers erscheint.

Auf Grund mikroskopischer Untersuchungen der mittels Roncalitweiß tingierten Präparate kann ich folgendes angeben:

Aus dem ersten Bauchganglion entspringen seitlich drei starke Nervenstämmen (jederseits). Keiner von ihnen innerviert jedoch den Klammerfuß, alle drei gehören zur Haftscheibe (Fig. 8, Taf. 5). Der Klammerfuß (der II. Kieferfuß) wird mit dem Nerv, welcher aus dem zweiten Bauchganglion stammt, innerviert.

Der hinterste von den drei oben erwähnten Nervenstämmen stellt den motorischen Nerv dar. Er entspringt etwas dorsal aus dem Ganglion und zerfällt in vier Partien, die weiter baumartig bis in einzelne Nervenfasern zerfallen und mit denselben die Muskelfasern versorgen. Die eine, die proximalste Nervenpartie, innerviert den mittleren ventralen Haftscheibenmuskel, die zwei weiteren, d. h. der ventrale und der dorsale Nervenzweig versorgen beide hinteren Haftscheibenmuskel, der letzte Nervenzweig richtet sich dorsalwärts und dann nach vorne und innerviert den vorderen dorsalen, schräg laufenden Muskel der Haftscheibe (Fig. 8). Der Nervenstamm dürfte also als *Nervus motoricus posterior maxillipedis I.* bezeichnet werden.

Zwei folgende Nervenstämmen entspringen dicht nebeneinander aus dem Ganglion, doch liegt der vordere Stamm etwas mehr ventral als der mittlere, welcher jedoch bald den vorderen überquert und so selbst zum vorderen Nervenstamm wird, während der als vorderer aus dem Ganglion entspringende Nerv jetzt der mittlere wird. Der nach dem Überqueren vordere Nervenstamm richtet sich dorsalwärts und innerviert hauptsächlich den vorderen dorsalen Haftscheibenmuskel; er ist also als *Nervus motoricus anterior* zu

bezeichnen. Die Verbreitung der motorischen Nervenfasern beider besprochenen Nervenstämme ist auf Abbildung 8 (Taf. 5) sichtbar.

Der dritte Nervenstamm, welcher aus dem Ganglion als der vorderste entspringt, bald aber infolge der Überquerung zum mittleren wird, ist zwar ein sensibler und ist daher als der eigentliche *Nervus maxillipedalis* zu bezeichnen, obwohl er auch eine kleine Anzahl von motorischen Nervenfasern führt, welche die in der Wand des Haftscheibenkelches vorhandenen Muskelfasern innervieren. In der halben Entfernung von dem Ganglion einerseits und der Haftscheibenbasis andererseits, spaltet sich der genannte Nervenstamm in zwei Hauptzweige, von denen der eine sich nach der äußeren, d. h. der dorsalen Hälfte der Haftscheibe richtet, der andere nach der inneren Hälfte derselben, d. h. nach jener, welche in der Anheftungsstelle nach der Mittellinie des Körpers, in der Ausstreckungslage ventralwärts gewendet ist. Der erstere Nervenzweig dürfte als *Nervus maxillipedalis externus s. dorsalis*, der letztere als *N. maxillipedalis internus s. ventralis* bezeichnet werden (Fig. 2, 8).

Der dorsale Maxillipedalnerv entsendet vor dem Eintritt in die Wandung des Haftscheibenkelches einige Nervenfasern, die hauptsächlich die innere Wand, insbesondere die Wand des Faltenlappens der Haftscheibe mit sensiblen multipolaren, frei endigenden Sinnesnervenzellen innervieren, sowie die anderen und zwar die motorischen Nervenfasern, welche von dem Nervenstamm gesondert, nahe demselben laufen und samt ihm in die äußere Hälfte des Haftscheibenkelches eindringen (Fig. 2). Der Nerv passiert, von den motorischen Nervenfasern begleitet, den basalen Chitiring (Chitiring III. Leydig) und zerfällt an dem distalen Rande des erwähnten Ringes in zwei entgegengesetzt gerichtete, zirkulär laufende Partien von Nervenfasern (Fig. 3). Die eine Faserpartie richtet sich entlang des distalen Ringrandes dem vorderen Pole des Haftscheibenkelches zu, die andere nach dem hinteren. Diese zirkulär verlaufenden Nervenfasern umgürten aber den ganzen Umfang der Haftscheibe nicht, sondern umfassen nur eine Hälfte und zwar die äußere Hälfte derselben. Die andere Hälfte der Haftscheibe untersteht den Nervenfasern, welche aus dem inneren Maxillipedalnerv entstammen (Fig. 2, Taf. 5).

Es ist also in der äußeren Haftscheibenhälfte und zwar in der Höhe der Grenzstelle zwischen dem III. Chitiring und der Ring-

muskellage eine Lage von zirkulär laufenden, zu einander fast parallelen sensiblen Nervenfasern vorhanden. Jede von ihnen ist mit einer Sinnesnervenzelle verbunden. Dieselben liegen verstreut in der erwähnten Fasernlage in verschiedener Entfernung von der Eindringungsstelle des Nervs und von der Teilungsstelle desselben in dem Haftscheibenkelche. Die genannten Zellen sind multipolar; sie weisen außer den zentripetalen Fasern, die den Nerv bilden, noch 2—3 periphere Nervenfasern auf, die die Terminalfortsätze darstellen (Fig. 3, 7). Es unterliegt keinem Zweifel, daß diese Sinnesnervenzellen der Haftscheibe den Typus von Sinnesnervenzellen mit freien Endigungen darstellen. Ihre Terminalfortsätze verzweigen sich wieder in kleiner Entfernung von dem Zellkörper und bilden auf diese Weise eine größere Anzahl von langen feinen Ausläufern. Dieselben sind stets nach dem Marginalrande des Haftscheibenkelches, also distalwärts gerichtet und verlaufen in ihren distalen Abschnitten parallel zueinander. Die aus einigen benachbarten Sinnesnervenzellen stammenden Ausläufer sammeln sich in der Höhe des zweiten Chitinringes — je ein aus jeder Sinnesnervenzelle — in ein feines Bündel zusammen. Solche Faserbündel treten in der Anzahl, welche fast genau der Anzahl der Randstrahlen entspricht, auf. Sie richten sich in dem Haftscheibenkelche distalwärts und dringen in den Randsaum, indem jedes Faserbündel in der Regel zwischen zwei benachbarten Randstrahlen verläuft. Es sind doch auch manche Faserbündel vorhanden, die nicht zwischen, sondern über den Randstrahlen laufen (Fig. 3, 7, Taf. 5).

Die besprochenen Faserbündel enthalten außerdem auch solche Nervenfasern, welche nicht die Terminalfortsätze bzw. die Abzweigungen derselben, sondern die zentripetalen Nervenfasern darstellen. Sie lösen sich von der Faserlage noch vor der Verbindung mit der Sinnesnervenzelle, d. h. proximal von derselben ab und richten sich unter Krümmungen distalwärts, dann gesellen sie sich zu den oben besprochenen Terminalfaserbündeln und laufen samt denselben weiter distalwärts, bis sie die Höhe der Randstrahlen erreichen. Erst hier weisen sie je eine Sinnesnervenzelle auf. Diese, d. h. die zwischen den Randstrahlen vorkommenden Sinnesnervenzellen sind stets bipolar, mit einem zentripetalen und einem terminalen Fortsatze versehen. Man kann doch manchmal beobachten, daß der erwähnte terminale Fortsatz feinste Abzweigungen abgibt.

Da an dem Rande sowie an beiden Oberflächen des Randsaumes der Haftscheibe keine chitinösen Sinnesorgane beobachtet werden, so stellen zweifellos auch die letztbesprochenen Sinnesnervenzellen den Typus von Sinnesnervenzellen mit freien Endigungen dar (Fig. 7).

Aus dem oben gesagten geht klar hervor, daß in der Kelchzone zwischen dem III. und dem II. Chitinring ein Nervengeflecht vorhanden ist. Dieses Geflecht ist aus den sensiblen Nervenfasern und den multipolaren Sinnesnervenzellen gebildet. In der distalen Hälfte, also distal von der Lage der Sinnesnervenzellen, stellt das Geflecht ein netzartiges Maschengebilde dar (Fig. 7), zu dem sich noch die motorischen Nervenfasern gesellen. Diese werden noch unten besprochen werden. Das Geflecht dürfte das basale Nervengeflecht der Haftscheibe genannt werden.

Das gleiche oder fast das gleiche Bild wird in der inneren (ventralen) Hälfte des Halftscheibenkelches beobachtet (Fig. 1). Die Unterschiede betreffen nur die Eingangsweise des Nervenstammes sowie das Verhalten der motorischen Nervenfasern. Der Nervenstamm, d. h. der innere Maxillipedalnerv führt keine motorischen Nervenfasern mit, er zerfällt aber noch vor der Eindringungsstelle in den Haftscheibenkelch in zwei Arme, welche sich weiter wiederum in einige (4—6) Nervenzweige teilen (Fig. 2). Diese dringen erst in die Wand des Haftscheibenkelches ein, zerfallen — gleich wie der äußere Maxillipedalnerv in der dorsalen Haftscheibenhälfte — in einzelne sensible Nervenfasern mit multipolaren Sinnesnervenzellen, deren terminale Fortsätze sich verzweigen und zwischen den beiden oben erwähnten Chitinringen das basale Nervengeflecht bilden. Auch laufen aus demselben die aus terminalen Fortsätzen zusammengesetzten Faserbündeln aus, welche zwischen den Randstrahlen verlaufen und dort von den bipolaren Sinnesnervenzellen mit freien Endigungen begleitet werden (Fig. 1).

Das basale Nervengeflecht ist jedoch in der dorsalen Hälfte des Halftscheibenkelches merklich reicher als in der ventralen. Die Anzahl der multipolaren Sinnesnervenzellen des Geflechtes beträgt in der dorsalen Haftscheibenhälfte zirka 40, in der ventralen zirka 25—30, zusammen also zirka 70, ohne die zwischen den Randstrahlen vorkommenden Sinnesnervenzellen dazu zu zählen.

Die oben besprochenen zwischen den Randstrahlen beider Haftscheibenhälften laufenden Nervenfaserbündel ziehen in dem Haft-

scheibenkelche distalwärts, bis sie den unter den Randfransen liegenden Ringkanal erreichen. Hier vereinigen sich alle Faserbündel miteinander und bilden auf diese Weise einen einheitlichen Strang, welcher zirkulär in dem Ringkanal des Randsaumes verläuft und so den peripheren Rand des Haftscheibenkelches mit frei endigenden Nervenfasern versorgt. Diesen Strang dürfte man als das terminale (apikale) Nervengeflecht bezeichnen (Fig. 1, 2, 3, 7).

Es dürfte noch die Verbreitung der motorischen Nervenfasern in dem Haftscheibenkelche besprochen werden. In die Wandung des Haftscheibenkelches dringen ausschließlich jene motorischen Nervenfasern ein, welche den äußeren Maxillipedalnerv begleiten (Fig. 2, 3). Der innere Maxillipedalnerv führt keine motorischen Nervenfasern mit sich (Fig. 1). Schon vor der Eintrittsstelle des äußeren Maxillipedalnervs in die Wandung des Haftscheibenkelches lösen sich die motorischen, in kleine Bündel gesammelten Nervenfasern von dem Nervenstamme ab, doch laufen sie nahe demselben und zwar stets aus seiner Hinterseite, zugleich oberflächlicher als der Nervenstamm selbst. Sie dringen auch in die Wandung des Haftscheibenkelches ein. Hier entsenden sie ihre Verzweigungen, die als entgegengesetzte Arme sich nach beiden Seiten richten: nach vorne und nach hinten. Dieselben laufen also in entgegengesetzter Richtung als zirkuläre Nervenfasern und zwar in der Höhe der vorher besprochenen Lage von sensiblen Nervenfasern, dadurch zugleich in der Höhe der Ringmuskellage, doch mehr nach auswärts als dieselben (Fig. 2, 3). Man dürfte also sagen, daß die motorischen Nervenfasern das basale Nervengeflecht der Haftscheibe umgürten. Von diesen motorischen Nervenfaserbündeln lösen sich an vielen Stellen feinere Faserbündel sowie einzelne Nervenfasern ab, welche in verschiedenen Richtungen miteinander gekreuzt, teilweise die Muskelfasern der Ringmuskellage innervieren, teilweise zu den zwischen den Randstrahlen verlaufenden sensiblen Nervenfaserbündeln sich auf einer Strecke gesellen und dann entweder die in dem Randsaume vorhandenen Muskelfasern innervieren oder sich mit dem terminalen Nervengeflechte vereinigen (Fig. 3, 7). Auf diese Weise erhalten auch die Muskelfasern des Haftscheibenkelches ihre motorischen Nerven-elemente.

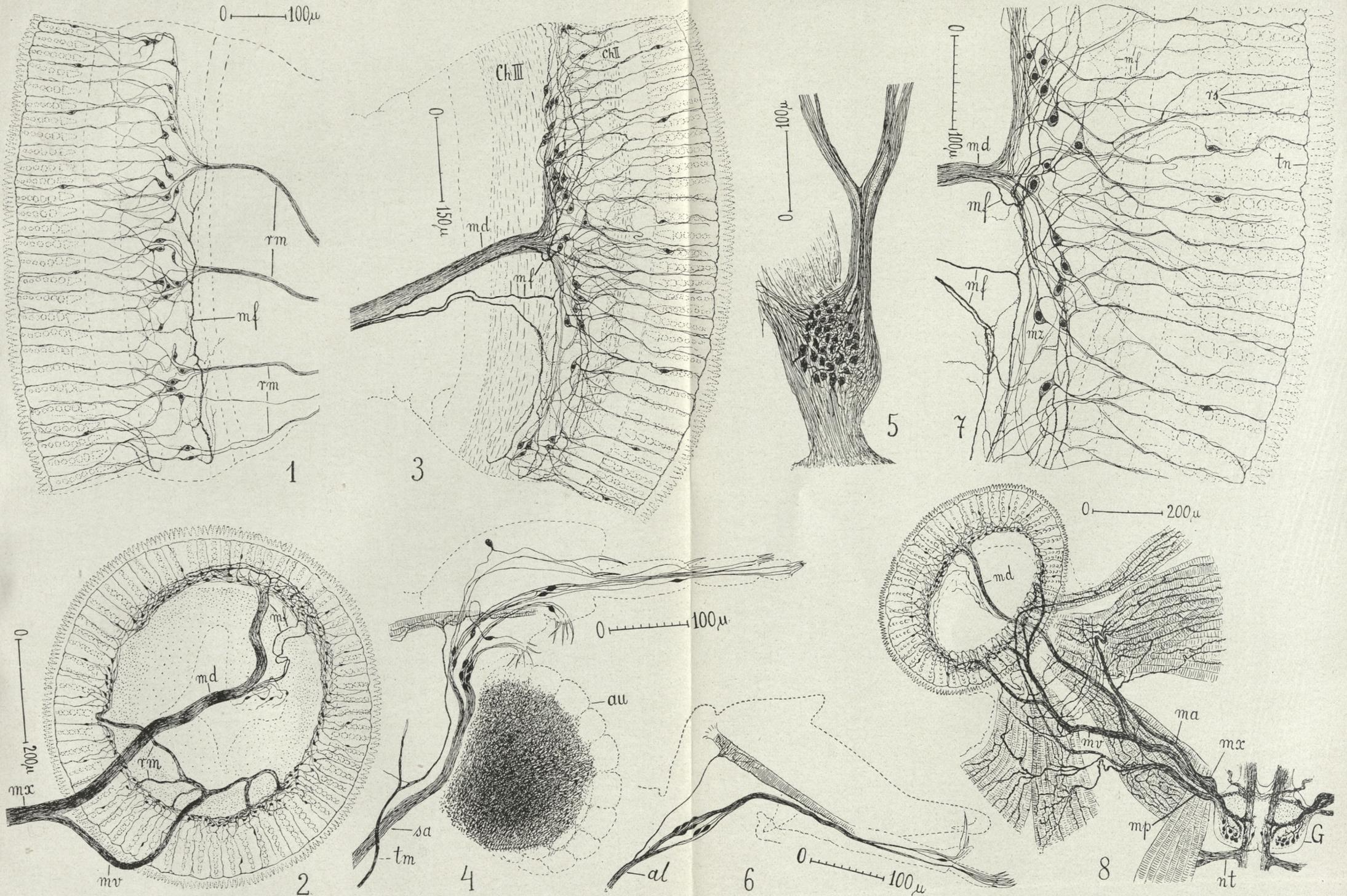
Ich möchte jetzt noch einige Worte der Wurzel des Maxillipedalnervs widmen. Der genannte Nerv entspringt seitlich aus

dem ersten Bauchganglion, etwas mehr ventral als die beiden ihn begleitenden motorischen Nervenstämme. Seine Nervenfasern dringen in das Ganglion ein, teilen sich jedoch bald in zwei Partien: die stärkere untere und die schwach entwickelte obere. Beide sind zwei Nervenwurzeln. In dem Ganglion verlieren jedoch beide ihren bisherigen Charakter als Bündel von Nervenfasern; sie verwickeln und verwirren sich und bilden eine Neuropilverdichtung. Die Terminalabschnitte derselben vergabeln oder verzweigen sich in 3—4 Arme, welche den medialen Längsbahnen der das Ganglion hindurchlaufenden Konnektiven anliegen. Das die beiden Wurzeln bildende Neuropilem hat eine Gestalt, welche einem Hufeisen ähnlich ist; aus dessen Gipfel entspringt der Nervenstamm, während die beiden Enden an den erwähnten Längsbahnen liegen (Fig. 8). Unterhalb der unteren Nervenwurzel befinden sich in dem Ganglion die Ganglienzellen. Eine Anzahl derselben wenigstens gehört zu den unipolaren Zellen mit dem verzweigten Fortsatze (Typus *T*), dessen ein Arm nach der Austrittsstelle des hinteren motorischen Nervenstammes zu gerichtet ist und wahrscheinlich die eine der motorischen Nervenfasern darstellt. Es kann also kaum einem Zweifel unterliegen, daß solche Ganglienzellen als motorische anzusehen sind.

#### Schlußbemerkung.

Die oben geschilderten anatomischen Data über die Sinnesnervenelemente der Haftapparate der Karpfenlaus erklären die Ergebnisse, welche Herter vom physiologischen Standpunkte aus erhalten hat. Nach Herter's<sup>1)</sup> Untersuchungen erfolgt die Auffindung des Wirttieres bei *Argulus* nicht mittels des Geruchsinnes, ja es fehlt wohl überhaupt ein chemisches Fernperzeptionsvermögen für den Wirt. Anders verhält es sich aber mit der chemischen Nahperzeption. Die chemische Beschaffenheit der Fischhaut bewirkt, daß die Karpfenläuse längere Zeit angeheftet bleiben. Man muß wohl annehmen, daß sie ein chemisches Nahperzeptionsvermögen für den Fisch besitzen, das sie an dem Wirt oder einem Wirtersatz festhält und das wohl auch die Anbohrung und den Saugreflex auslöst (p. 308). Das Sitzenbleiben auf dem Wirt und

<sup>1)</sup> Herter K. Reizphysiologische Untersuchungen an der Karpfenlaus (*Argulus foliaceus*). Zeitschr. f. vergl. Physiologie, B. 5, 1927.



J. Zaćwilichowski del.



wohl auch das Anbohren und Saugen wird durch ein chemisches Nahperzeptionsvermögen für Fisch oder »fischähnlich« bewirkt. Das Fischblut löst keine Reaktion aus. Ein Geschmackssinn fehlt nach Herter oder ist wenigstens nur sehr schwach entwickelt.

Wenn wir die allgemein angenommene Ansicht, daß die Antennen den Sitz des Geruchssinnes darstellen, anerkennen und wenn wir die ungemein geringe Anzahl sowie die schwache Ausbildung der Sinnesnervenelemente der Karpfenlausantennen in Betracht ziehen, so ist es klar, daß das Geruchsvermögen der Karpfenlaus nur sehr unbedeutend werden kann, wenn dies überhaupt anzunehmen ist. Dagegen veranlaßt uns die ungemein große Menge von sensiblen Sinnesnervenelementen, die in der Wandung der Haftscheibe vorkommen, anzunehmen, daß die Haftscheibe ein ausgezeichnetes Sinnesorgan ist, sowie daß die in der Haftscheibe vorhandenen multipolaren Sinnesnervenzellen mit freien Endigungen für die chemische Nahperzeption der Reize, welche aus der Wirttierhaut entsendet werden, geeignet sind. Meines Erachtens nach handelt es sich hier in erster Linie um die Wirkungen der von der Fischhaut ausgeschiedenen schleimartigen Substanzen. Die Wirkungen solcher Substanzen dürften als chemische bzw. physiko-chemische Reize durch die Nahperzeption mittels der freien Endigungen der multipolaren Sinnesnervenzellen perzipiert werden. Es wäre übrigens schwierig, das chemische Nahperzeptionsvermögen den anderen Sinnesnervenelementen der Karpfenlaus zuzuschreiben.

Außer dem chemischen Nahperzeptionsvermögen dürften jedoch die oben erwähnten Sinnesnervenzellen auch die tangorezeptorische Funktion besitzen.

### Erklärung der Abbildungen auf Tafel 5.

Alle Abbildungen wurden mittels des Zeichenapparates von Abbe ganz genau nach den Präparaten von *Argulus foliaceus* L. gezeichnet.

### Durchgehende Bezeichnungen für alle Figuren.

ac — Nervus antennarius communis.

ae — N. antennarius externus.

ai — N. antennarius internus.

al — N. antennularius.

anl — die Antennule.

ant — die Antenne.

- au — das Auge.  
Ch II — der II. Chitinring.  
Ch III — der III. Chitinring.  
d — des Deutocerebrum.  
da — der dorsale Arm des Nervis.  
G — das I. Bauchganglion.  
lm — N. antennulo-motoricus.  
ma — N. motoricus anterior maxillipedis I.  
md — N. maxillipedalis dorsalis.  
mf — die motorischen Nervenfasern.  
mt — N. motoricus posterior maxillipedis I.  
mv — N. maxillipedalis ventralis.  
mx — N. maxillipedalis.  
mz — die multipolaren Sinnesnervenzellen.  
nf — N. musculi frontalis.  
nt — N. tegumentarius.  
rm — Rami nervi maxillipedalis ventralis.  
rs — die Randstrahlen der Haftscheibe.  
sa — N. sensillo-antennarius.  
tm — N. antenno-motoricus.  
tn — das terminale Nervenfasergeflecht.  
va — der ventrale Arm des Nervis.

### Erklärung der Figuren.

- Fig. 1. Die Haftscheibe der rechten Körperhälfte (dieselbe wie auf Fig. 3) von der Ventralseite gesehen (= die ventrale Hälfte der rechten Haftscheibe).  
Fig. 2. Die Haftscheibe der rechten Körperhälfte, von oben gesehen.  
Fig. 3. Die Haftscheibe der rechten Körperhälfte (dieselbe wie auf Fig. 1) von der Dorsalseite gesehen (= die dorsale Hälfte der rechten Haftscheibe).  
Fig. 4. Die linke Antenne samt ihren Sinnesnervenelementen, von der Ventralseite gesehen.  
Fig. 5. Das Deutocerebrum samt der Wurzel des Antennennervis.  
Fig. 6. Die linke Antennule samt ihren Nervenelementen, von der Ventralseite gesehen.  
Fig. 7. Das Fragment von dem auf Fig. 3 abgebildeten Präparate, doch stärker vergrößert, um das basale Nervengeflecht deutlicher abgebildet zu zeigen.  
Fig. 8. Die Nervenstämme der rechten Haftscheibe und der Muskel derselben, von der Ventralseite gesehen.

Aus dem Histologischen Institut der Jagellonischen Universität, Kraków.

*Studja histochemiczne nad rozwojem ryb. I. Wytwarzanie się żółtka u kielbka (*Gobio fluviatilis*) i karpia (*Cyprinus carpio*). — Recherches histochimiques sur le développement des Poissons. I. La vitellogénèse chez le Goujon (*Gobio fluviatilis*) et la Carpe (*Cyprinus carpio*).*

Mémoire

de M<sup>me</sup> **B. KONOPACKA**,

présenté le 6 mai 1935, par M. M. Konopacki m. t.

(Planche 6).

Dans ces recherches il fallait tout d'abord établir les processus morphologiques qui se passent pendant la période de l'accroissement des oocytes et de la formation du vitellus. Une étude morphologique était d'autant plus nécessaire que ces processus n'ont pas été décrits chez les deux espèces de poissons qui ont fait l'objet du présent travail et que les études sur l'oogénèse des autres poissons osseux se limitaient jusqu'à présent aux stades précoces ou à certains détails et n'englobaient pas l'ensemble de ces processus. Il est apparu au cours du présent travail que l'emploi de certaines techniques histochimiques permettait d'élucider l'ensemble de ces phénomènes.

Parmi les recherches sur la vitellogénèse chez les Poissons il faut citer les travaux suivants:

Cunningham (3) a décrit l'apparition de globules de graisse dans les jeunes oocytes de *Tringla gurnardus*. Dans les oocytes plus développés des granules vitellins apparaissent à la périphérie. Leur nombre augmente, de sorte qu'ils constituent une couche de plus en plus épaisse. En même temps les globules de graisse fusionnent en formant quelques gouttes plus volumineuses, disposées

à la limite de la couche vitelline. Plus tard les plaquettes vitellines pénètrent à travers les gouttes de graisse pour arriver finalement jusqu'au noyau. Les gouttes de graisse, peu nombreuses, se trouvent disséminées parmi les plaquettes. Dans les oeufs des autres Poissons ne contenant pas de gouttes de graisse le noyau est entouré d'une couche homogène de protoplasme.

Lams (8) décrit dans les oocytes précoces d'éperlan, fixés par du liquide de Flemming, l'apparition d'un anneau colorable en noir par l'hématoxyline au fer—éosine, ou en vert par la safranine et le vert de lumière. L'auteur appelle cet anneau situé près du noyau anneau vitellin. A un moment donné une formation cytoplasmique colorée en rose par la première méthode et en rouge par la seconde se glisse entre cet anneau et le noyau. L'anneau vitellin se trouve ainsi repoussé du noyau et le cytoplasme (coloré différemment) pénètre dans la substance de l'anneau en le divisant en trabécules anastomosés. A l'intérieur de l'anneau on trouve le corpuscule de Balbiani. A mesure que l'oocyte croît, l'anneau vitellin glisse de plus en plus vers la périphérie et finit par disparaître. C'est alors qu'apparaissent dans le cytoplasme les gouttes considérées par Lams comme boules de graisse. Elles forment deux rangées: l'une près de la périphérie, l'autre plus près du noyau. Ensuite, à la périphérie de l'oocyte commencent à se former des grains vitellins qui, mêlés aux gouttes de graisse remplissent bientôt l'oocyte tout entier.

Champy et Gley (2) ont décrit ces processus dans les jeunes oocytes d'un très grand nombre d'espèces de Poissons. Ils remarquent tout d'abord que le protoplasme de très jeunes oocytes se colore comme la chromatine. Plus tard apparaît près du noyau une couche claire d'où partent des travées dans la substance fortement colorée. Le cytoplasme prend ainsi l'aspect »craquelé«. Dans les travées du cytoplasme clair apparaissent des filaments. Très nombreux aux stades précoces, ils disparaissent au fur et à mesure de l'accroissement des oocytes. A côté d'eux les auteurs ont décrit des canalicules. Ils signalent également l'existence de vacuoles et de globules de graisse aux stades plus avancés du développement.

En ce qui concerne la composition chimique des oeufs de ces Poissons, Valenciennes et Frémy (13) obtinrent à partir des ovaires de la Carpe de l'ichtuline, substance protéique que l'on

trouve également dans les oeufs d'autres Poissons. König et Grossfeld (7) ont trouvé dans les oeufs de la Carpe de l'ichtuline insoluble dans l'eau, de l'albumine soluble et des corps gras composés en 59·19% de lécithine. A côté de celle-ci ils ont trouvé une faible quantité de cholestérol.

Fauré-Frémiet et Garrault (5 et 6) en étudiant le vitellus des oeufs mûrs de la Carpe ont trouvé à côté de mitochondries deux éléments vitellins: les globes hyalins et les plaquettes vitellines. L'analyse microchimique de ces oeufs a révélé que les globes hyalins se comportent comme des substances protéiques et les plaquettes vitellines se colorent par les colorants des lipoides (Sudan et Bleu de Naphtol). La composition des oeufs de la Carpe, d'après ces auteurs, est la suivante:

Eau . . . . .	66·3 %
Mat. prot. . . . .	25·7 %
Corps gras . . . . .	6·2 %
Cholestérol . . . . .	0·45%
Hydrates de C . . . . .	0·0 %
Cendres . . . . .	2·0 %

Les globes hyalins sont constitués par les phosphoprotéides c'est-à-dire surtout par la vitelline et les plaquettes vitellines par l'ichtidine qui peut être considérée comme un complexe de deux substances: la vitelline et la lécithine. En ce qui concerne les corps gras, ces auteurs ont trouvé dans l'extrait éthéré les constituants suivants:

Phosphatides . . . . .	12·33 pour 100 de matière sèche
Glycérides . . . . .	6·08
Cholestérides . . . . .	1·34
Substances insaponifiables . . . . .	0·8

Ce sont par conséquent les phosphatides qui dominant dans les corps gras de la Carpe. Ces auteurs n'ont pas trouvé de glyco-gène dans les oeufs de ce Poisson. D'après Pflimmer et Scott (11) l'ichtuline est un phosphoprotéide très voisin de la vitelline.

Les présentes recherches ont été effectuées sur deux espèces voisines de Poissons d'eau douce: le Goujon provenant des Lacs

d'Augustów<sup>1)</sup> et la Carpe. Les ovaires de la Carpe étaient prélevés et fixés au printemps à des intervalles de quelques semaines. Ceux de Goujon l'étaient deux fois: le 16 et le 25 mai, la deuxième fois un peu avant la période du frai. La maturation des oeufs de la Carpe et du Goujon ne s'effectue pas en même temps, ce qui permet de révéler dans leurs ovaires divers stades de développement des oocytes et de vitellogénèse. Le matériel recueilli fournit par conséquent toutes les étapes d'évolution à partir de jeunes oocytes à gros noyaux jusqu'aux oeufs entièrement formés, remplis de vitellus.

Je me servais au cours de mes recherches des techniques suivantes: formol (20 cc. de formol et 80 cc. de solution physiologique de NaCl) et coloration par le Sudan III et par l'hémalun (je désignerai cette technique F. S. III. H. pour abrégé) ou méthode de Smith-Dietrich. Fixation par la liqueur de Carnoy, l'alcool absolu et la liqueur de Bark suivie de coloration par l'iode d'après Langhans, par le carmin de Best, par l'hémalun et l'éosine, par le bleu de méthylène polychromique et par la méthode de Prenant. Fixation par la liqueur d'Altmann, de Champy, de Benoit et de Kopsch, suivie de coloration d'après Altmann ou Altmann-Küll. Fixation par la liqueur de Zenker, de Helly, de Flemming, de Bouin, par le sublimé et coloration par l'hémalun, par l'hématoxyline au fer et autres.

J'appliquais de plus la technique de Romieu pour la lécithine, celle de Feulgen pour l'acide thymonucléique, celle de Feulgen-Voss pour le plasmal, enfin celle d'Unna pour les matières protéiques.

Les processus de la vitellogénèse évoluent chez les deux espèces de Poissons, comme on pouvait prévoir, d'une manière assez analogue.

Je diviserai les processus de la vitellogénèse en plusieurs stades, afin de rendre plus explicite la description de ces phénomènes.

### Stade I.

**Technique F. S. III. H.** Dans les oocytes les plus jeunes, aussi bien dans ceux de la Carpe du mois de mars et d'avril, que dans ceux du Goujon, fixés en mai, le protoplasme est homogène et ne

<sup>1)</sup> Qu'il me soit permis d'exprimer à M. l'Ingénieur J. Jurkowski mes sincères remerciements de son aide et de toutes les facilités qu'il a bien voulu me procurer pendant que je rassemblais le matériel, sur lequel s'appuie le présent travail.

contient pas de granulations. Dans les oocytes du Goujon et dans ceux de la Carpe d'environ  $30 \mu$  de diamètre on observe une couche de lipides entourant le noyau (fig. 1, pl. 6). Ces lipides ne se présentent cependant pas ici sous forme de sphérules comme chez la poule; ils sont plutôt finement granuleux ou même diffus. Parfois cette couche prend la forme d'un anneau avec un seul épaissement dans une région déterminée. Cet anneau lipidique est également visible sur les coupes faites par la méthode de Zweibaum (16) c'est-à-dire fixées par la liqueur de Champy modifiée, coupées au microtome à congélation dans la gélatine et colorées par le Sudan. L'anneau lipidique apparaît alors en orange et on aperçoit dans la région de la plus grande accumulation de graisse une formation colorée légèrement par l'hématoxyline. Il s'agit vraisemblablement du corpuscule de Balbiani (fig. 2). A mesure que l'oocyte se développe, l'anneau s'éloigne du noyau et se sépare en plusieurs bandes concentriques (fig. 2). Ces dernières se divisent à leur tour en amas irréguliers. La couche centrale du cytoplasme revêt ainsi un aspect ressemblant à celui que Champy et Gley appellent «craquelé», avec cette différence que l'on trouve des lipides dans les interstices. Avec le développement de l'oocyte les amas de lipides émigrent vers la périphérie de l'oeuf sans pénétrer dans la couche périphérique du protoplasme. Celui-ci reste homogène et les lipides forment à sa limite une couche continue colorée en orange. On a l'impression que le cytoplasme croît à partir du centre de l'oeuf, en repoussant l'anneau lipidique du noyau, en le divisant en bandes concentriques d'abord et ensuite en petits amas qu'il rejette vers la périphérie de l'oeuf, comme Lams (8) l'a décrit pour l'anneau vitellin.

Les noyaux des oocytes sont, dans cette période, achromatiques (fig. 1 et 2), seules les nucléoles se colorent en violet assez pâle par l'hémalum. Les nucléoles très nombreux sont disposés sur la périphérie du noyau, immédiatement contre la membrane. Les oocytes ont dans la plupart de cas une forme irrégulière, car ils sont légèrement aplatis par des oocytes voisins. Ceux de Goujon sont aussi légèrement allongés.

Le cytoplasme de ces jeunes oocytes est fortement basophile. Quand l'oocyte du Goujon atteint  $120 \times 160 \mu$  de diamètre et celui de la Carpe  $150 \times 180 \mu$ , les bandes lipidiques dans le cytoplasme disparaissent. Il ne reste pendant un certain temps encore

qu'une couche de lipides finement granulée située non loin de la périphérie de l'oeuf et l'anneau lipidique qui vient d'être formé autour du noyau. Le cytoplasme de la partie centrale de l'oocyte commence à se colorer uniformément en orange clair par le Sudan, ce qui démontre la présence des lipides dissous.

### Les mitochondries.

En ce qui concerne les mitochondries c'est la fixation dans les liquides de Benoit et de Champy-Regaud suivie de coloration d'après Altmann ou Altmann-Kull qui de toutes les techniques employées a donné les meilleurs résultats. Dans les oocytes de Carpe  $130\mu$  de diamètre on aperçoit les mitochondries sous forme de grains très fins, groupés en quelques amas et colorés en rouge. Dans les oocytes un peu plus développés ces amas deviennent plus nombreux. Ils se répartissent dans le cytoplasme de manière à occuper environ les  $3/4$  du rayon de l'oocyte et forment une couche mitochondriale condensée, appliquée contre le cytoplasme périphérique (fig. 3, pl. 6). Ensuite les dimensions et le nombre d'amas mitochondriaux diminuent, de sorte que bientôt il ne reste plus qu'une rangée de mitochondries touchant directement la partie périphérique du cytoplasme dépourvu de mitochondries. En général, dans la première période il y a beaucoup d'analogie entre la répartition et le comportement des mitochondries et des substances lipidiques. Après la fixation dans la liqueur de Kopsch et la coloration par méthode d'Altmann les mitochondries ne sont pas visibles; on aperçoit, par contre, dans le cytoplasme, aux stades décrits plus haut de fins canalicules qui ressemblent à ceux que Champy et Gley obtinrent après la fixation dans le liquide de Hermann. On aperçoit de plus sur les coupes ainsi traitées les »craquelures« de Champy et Gley. Le protoplasme se colore en jaune avec des trainées rouges, d'où l'aspect craquelé. Lorsqu'on colore les oocytes ainsi fixés par l'hématoxyline et par l'éosine, on voit le protoplasme basophile, coloré en violet devenir partiellement acidophile, c'est-à-dire présenter entre les parties violettes des endroits colorés en rose. Après cette période de »craquelure« le protoplasme devient homogène.

## Stade II.

**F. S. III. H.** Ce stade ( $240 \times 180 \mu$  de diamètre chez le Goujon,  $250 \mu$  chez la Carpe) est caractérisé par l'apparition de vacuoles. Celles-ci forment d'abord une seule couche située dans l'endoplasme non loin de la périphérie de l'oocyte. A la suite de F. S. III. H. les vacuoles restent incolores; je les désignerai désormais par »gouttes claires«. Elles ne sont pas cependant vides et il y a une substance qui les remplit. Cette substance paraît homogène chez la Carpe, tandis que chez le Goujon elle est finement granuleuse et contient une sphérule homogène et plus réfringente. Le contenu des gouttes claires n'est pas coloré par le Sudan, c'est pourquoi je ne crois pas que ce soient de lipides (Lison).

La formation de gouttes claires est précédée par l'apparition de petites vacuoles à contours peu nets dans l'endoplasme coloré en orange par le Sudan. Ces vacuoles sont formées dans divers endroits du cytoplasme, puis elles grandissent ou confluent et émigrent vers la périphérie. Elles constituent là une rangée serrée de grosses gouttes. Le nombre de ces gouttes continue à croître, surtout grâce à la production de nouvelles vacuoles sur la périphérie de l'oeuf. On y voit de nombreuses petites vacuoles à contours estompés, disposées directement sous la membrane de l'oeuf et quelques gouttes isolées un peu plus volumineuses. Ces dernières traversent la couche du cytoplasme homogène qui forme toujours une zone assez large à la périphérie même de l'oocyte, en se dirigeant vers la couche des grosses gouttes claires. Là elles gonflent ou bien fusionnent avec d'autres gouttes et forment de nouvelles couches. Ceci montre qu'à ce stade les gouttes claires se forment à partir des substances qui pénètrent dans l'oeuf de l'extérieur. A côté de cela s'effectue la production de gouttes claires à un degré plus faible dans les parties centrales de l'endoplasme, car on y aperçoit également çà et là des gouttes isolées se dirigeant vers les couches de gouttes claires déjà formées. Il se forme ainsi deux, puis trois couches serrées de gouttes claires et davantage. Leurs contours sont très nets.

**Fixation dans le liquide de Bark et de Carnoy.** D'autres méthodes de fixation ont également permis de constater que les gouttes claires ne sont pas vides. Chez le Goujon surtout on voit très nettement que leur contenu est composé de deux

substances distinctes. Les meilleurs résultats ont été obtenus par la méthode de Bark (formol et alcool absolu à parties égales) qui fut appliquée pour la recherche du glycogène. Dans ces stades précoces les oocytes ne contiennent pas de glycogène, mais après la fixation par cette méthode suivie de coloration par l'hémalum et l'éosine, les gouttes claires apparaissent remplies de substance basophile, colorée en violet par l'hémalum, contenant une sphérule acidophile colorée en rose par l'éosine. La substance basophile n'est pas homogène, mais constitue une espèce de charpente. Son aspect et sa colorabilité rappellent ceux de la substance mucoïdale dans le tissu conjonctif. Afin de vérifier cette supposition j'ai coloré ces coupes par le bleu de méthylène polychromique employé par le dr. Elkner (4) dans ses recherches sur le tissu mucoïdal et donnant à ce tissu une coloration métachromatique. Les sphérules fortement réfringentes après F. S. III. H., se colorent alors en bleu pâle, tandis que le reste du contenu des gouttes prend une coloration métachromatique, rose-violet ou violette. Dans les jeunes gouttes cette substance est compacte et dans les gouttes plus grandes elle constitue une sorte de charpente qui remplit complètement la goutte claire (fig. 5, pl. 6). Par la méthode de Prenant la charpente est colorée en vert. Les résultats de ces colorations m'ammènent à penser qu'il s'agit ici d'un mucoprotéide c'est-à-dire d'albumine contenant de la glucosamine. La présence de celle-ci a été révélée par Walter (15) à l'aide de méthodes chimiques dans les ovaires de Carpe. D'autre part Champy et Gley (2) ont signalé dans les oeufs de certains Poissons l'existence près du noyau d'une couche qui prend les colorants du mucilage.

La fig. 5. représente un oocyte du Goujon préparé par la méthode mentionnée ci-dessus, montrant le mécanisme de la production de plusieurs couches de gouttes claires, les unes remplies de substance homogène, les autres où cette substance commence à s'assembler en granules disposées en files constituant une sorte de charpente, dans laquelle on voit une sphérule protéique compacte. A la périphérie on aperçoit la formation de nouvelles gouttes claires dont les plus grandes contiennent déjà la sphérule protéique compacte.

La charpente prenant une coloration métachromatique n'a pas été mise en évidence chez la Carpe. Les sphères contenues dans

les gouttes claires sont homogènes et se colorent en bleu par le bleu de méthylène polychromique.

**Les mitochondries.** Dans cette période les mitochondries disparaissent dans les parties moyennes de l'endoplasme. On peut les distinguer encore dans les espaces qui touchent directement au cytoplasme périphérique (fig. 3.) où elles sont disposées parmi les gouttes de la première couche sous forme de granulations très fines. L'endoplasme est alors homogène.

Dans la période de production de gouttes claires le noyau commence à présenter les signes d'une activité très intense. Les nucléoles deviennent plus nombreux et sont disposés à la périphérie du noyau, mais ne touchent plus directement la membrane nucléaire. Les contours du noyau deviennent irréguliers, ils forment des saillies vers le cytoplasme et une partie des nucléoles y pénètre. Chez la Carpe ces saillies sont nettes mais peu proéminentes (fig. 6.) et chez le Goujon elles s'enfoncent assez profondément dans le cytoplasme (fig. 7). Ce ne sont pas des produits artificiels, conséquence de l'action des réactifs, car Cunningham (3) a observé à ce stade des saillies dans les oeufs vivants de poissons.

### Stade III.

**F. S. III. H.** Lorsque dans les oocytes de la Carpe de  $400 \mu$  de diamètre et du Goujon de  $350 \times 380 \mu$  de diamètre les rangées de gouttes claires atteignent le nombre de 4—5, de petits granules apparaissent à la périphérie de l'oocyte. Ces granules sont colorés par le Sudan III en orange vif (fig. 6). Ils remplissent au début la couche périphérique homogène du cytoplasme située directement sous la membrane, ensuite ils pénètrent parmi les gouttes de la première rangée. Ce sont au début des grains très fins. Plus tard ils pénètrent dans les couches plus profondes de l'oocyte et se repartissent dans le cytoplasme à côté des gouttes claires. Pendant un certain temps la production de ces granules qui renferment des lipides, se poursuit simultanément avec la formation des gouttes claires. Ces dernières apparaissent maintenant dans le voisinage immédiat du noyau, comme si elles étaient sécrétées par lui ou bien se formaient à partir d'une sécrétion nucléaire. On voit souvent une goutte claire entre les deux saillies nucléaires (fig. 8). Elles se déplacent vers les rangées de gouttes claires sans remplir complètement la couche du cytoplasme périnucléaire. En même temps

les gouttes claires qui jusqu'à présent formaient une couche serrée, deviennent plus petites, s'écartent les unes des autres et les granules colorés en orange viennent remplir les espaces compris entre elles. Plus tard ces granules apparaissent aussi dans le cytoplasme périnucléaire et arrivent jusqu'au noyau (Fig. 7, pl. 6).

**Fixation dans les liquides de Bark et de Carnoy.** Après la fixation par ces méthodes, les granulations qui se forment à ce stade à la périphérie des oocytes ne sont pas visibles. Ainsi l'hypothèse de la constitution lipidique de ces granules se trouve confirmée. Les lipides seraient en effet dissous par les réactifs, puisque le liquide de Bark ainsi que celui de Carnoy contiennent de l'alcool absolu et que le transport des ovaires de ces fixateurs dans la celloïdine s'effectue par l'alcool absolu et l'éther, qui dissolvent les lipides.

Sur les coupes ainsi fixées et colorées par le bleu de méthylène polychromique, on voit (fig. 8) que les gouttes claires continuent à se former à la périphérie et commencent à apparaître dans le cytoplasme périnucléaire. Dans les jeunes gouttes, situées dans la première rangée à la périphérie de l'oocyte et à gauche, la substance mucoprotéique colorée en violet se présente comme homogène, mais elle est légèrement rétractée sous l'action du fixateur. Il en est de même pour les gouttes claires situées au sein du cytoplasme périnucléaire. Dans les gouttes plus âgées des rangées moyennes cette substance forme une charpente distincte, prenant une coloration métachromatique violet-rouge. Le cytoplasme est dépouvé de granulations, bien qu'il s'agisse d'un stade un peu plus tardif que celui de la fig. 6 et qu'on le voie à un plus fort grossissement. Ce n'est qu'à la fin de cette période, lorsque les gouttes claires deviennent encore plus nombreuses mais de taille plus réduite, qu'apparaissent dans le cytoplasme des grains clairs assez gros, disséminés parmi les gouttes (fig 9). Ces grains se colorent comme le cytoplasme ambiant, mais d'une façon un peu moins intense: en bleu-pâle par le bleu de méthylène polychromique et en rose-pâle par l'hémalum et l'éosine. On ne les trouve pas à la périphérie de l'oocyte, ils n'apparaissent que dans les couches plus profondes parmi les gouttes claires. Le fait que ce n'est qu'à partir de ce stade que la présence des grains est révélée par cette méthode ainsi que par les techniques habituelles, s'explique de la façon suivante: à l'origine ces granulations sont cons-

tituées par les lipides et se forment à partir des substances pénétrant dans l'oeuf de l'extérieur et en partie aussi aux dépens de lipides dissous dans le protoplasme pendant la première période. Ensuite les constituans lipidiques des grains se combineront à une substance de nature protéique ou phosphoprotéique, à l'ichtuline, élaborée au sein du cytoplasme et insoluble dans l'alcool et l'éther, de sorte qu'à partir de ce stade les granulations deviennent visibles. Il faut par conséquent considérer ces formations comme des ébauches de plaquettes vitellines définitives et c'est ainsi que je les appellerai désormais.

Parmi d'autres techniques, le liquide de Kopsch fixe parfaitement bien les granulations lipidiques et les ébauches des plaquettes vitellines qui peuvent être colorées ensuite en rouge à la fuchsine acide par la méthode d'Altmann. Les gouttes claires sont alors colorées en jaune. Les mitochondries ne sont pas visibles sur ces coupes. Après la fixation dans les liquides de Benoit, de Champy ou d'Altmann, suivie de coloration par la méthode d'Altmann les plaquettes vitellines se colorent en rouge à la fuchsine à partir du stade représenté sur la fig. 9, pl. 6.

**Stade IV.** ( $550 \times 450 \mu$  de diamètre chez le Goujon,  $600 \mu$  chez la Carpe).

**F. S. III. H.** La production de gouttes claires cesse à ce stade dans le voisinage du noyau et les manifestations d'une activité intense de ce dernier disparaissent. Le nombre de ses nucléoles diminue et leur colorabilité par l'hémalun et l'hématoxyline n'est plus aussi intense. Dans le cytoplasme cependant le nombre de grains colorables par le Sudan, c'est-à-dire le nombre de plaquettes vitellines s'accroît considérablement (fig. 10.), et elles remplissent également la couche du cytoplasme périnucléaire. En même temps elles deviennent de plus en plus volumineuses, mais tandis que chez le Goujon l'augmentation de volume des plaquettes s'effectue uniformément dans l'ovocyte tout entier (fig. 10.), chez la Carpe l'accroissement commence par les plaquettes vitellines situées plus près du noyau, celles des parties périphériques ne venant qu'ensuite.

En ce qui concerne les gouttes claires, leur nombre diminue progressivement dans les parties centrales de l'oeuf, aussi bien chez le Goujon que chez la Carpe. Il semble que les plaquettes

vitellines définitives en refoulent une partie vers la périphérie, tandis qu'une autre partie subit une décomposition ce qui d'ailleurs fut confirmé par des recherches effectuées à l'aide d'autres techniques.

**Fixation dans les liquides de Bark et de Carnoy.** Ce processus est parfaitement visible sur les coupes fixées dans ces liquides et colorées par l'hémalum et l'éosine ou par le bleu de méthylène polychromique. On voit les plaquettes vitellines, colorées en rose à l'éosine ou en bleu-pâle au bleu de méthylène, remplir le cytoplasme périnucléaire qui ne contient plus de gouttes claires (fig. 11). Ces dernières n'occupent plus que les parties moyennes et périphériques de l'oocyte. Dans la partie moyenne à côté de gouttes intactes contenant leur sphérule protéique compacte et la charpente, on aperçoit d'autres gouttes en voie de décomposition. Leurs contours sont irréguliers et indistincts, parfois même inexistantes. Les sphérules protéiques compactes ainsi libérées, sont logées dans le cytoplasme parmi les plaquettes vitellines, tandis que la substance de la charpente, colorée en violet s'éparpille en granulations très fines qui vont se disséminer dans les minces travées protoplasmiques autour des plaquettes vitellines. C'est à la périphérie de l'oocyte que les gouttes claires sont les plus nombreuses; leurs contours sont nets, mais la charpente ne les remplit plus entièrement de sorte qu'elle n'occupe que la partie périphérique. Le bleu de méthylène ne la colore plus en violet, mais en bleu marine foncé.

Le contenu des gouttes claires continue à être homogène chez la Carpe (fig. 12). Ce n'est qu'à la périphérie que certaines d'entre elles se divisent en sphérules plus petites qui fusionnent plus tard et donnent naissance à une formation homogène.

**Stade V.** ( $800 \times 750 \mu$  de diamètre chez le Goujon,  $900 \mu$  à 1 mm chez la Carpe).

**F. S. III. H.** La structure de l'oocyte ne présente plus de changements importants. Les oocytes s'accroissent seulement à la suite de l'accroissement de plaquettes vitellines, tandis que toutes les gouttes claires logées parmi les plaquettes vitellines disparaissent (fig. 13). Chez les deux espèces de poissons les gouttes claires incolores sur ces coupes ne subsistent qu'à la périphérie de l'oocyte où elles forment deux rangées. Les plaquettes vitellines continuent à se colorer en orange par le Sudan III (fig. 15, pl. 6).

**Fixation dans les liquides de Bark et de Carnoy.** Fixées par ces méthodes et colorées au bleu de méthylène polychromique, les plaquettes vitellines définitives sont bleu-pâle. Les travées cytoplasmiques entre les éléments vitellins contiennent des grains colorés en bleu marine (fig. 16). Les gouttes claires forment encore deux rangées à la périphérie de l'oocyte.

Bien que la marche des processus de la vitellogénèse soit analogue chez la Carpe et le Goujon, on observe une différence dans le comportement des mucoprotéides. Ces substances apparaissent au début chez le Goujon dans les gouttes claires. Lorsque ces dernières se décomposent dans les parties moyennes de l'oocyte, la charpente qu'elles contiennent se dissipe dans le cytoplasme qui entoure les plaquettes vitellines. Cette substance subit probablement des transformations, car elle ne prend plus une coloration métachromatique par le bleu de méthylène polychromique. Dans les étapes plus tardives de la vitellogénèse on peut mettre en évidence dans le voisinage de plaquettes vitellines de fines granulations qui, traitées par la méthode de Best, présentent la coloration du glycogène (fig. 14, pl. 6). Il ne s'agit vraisemblablement pas de glycogène pur, car le traitement par l'iode, d'après Langhans, n'a pas donné de résultats nets. C'est probablement un complexe glycogéno-protéique. On le trouve également dans les cellules folliculaires des oocytes tardifs.

Chez la Carpe on n'a pas pu mettre en évidence les mucoprotéides dans les oocytes. Les gouttes claires y sont remplies de sphères protéiques compactes (fig. 12), mais elles sont dépourvues d'une charpente mucoprotéique. La substance colorée comme la charpente dans les gouttes claires de Goujon, apparaît, dans les ovaires de la Carpe, dans les vaisseaux sanguins entourant les oocytes. Les sphères protéiques compactes présentent par contre la réaction des polysaccharides lorsqu'elles sont traitées par la méthode de Bauer (1). Cet auteur admet que la réaction en question n'est pas spécifique pour les polysaccharides mais qu'elle s'étend également au galactogène. Comme les gouttes claires ne présentent pas de réaction de glycogène, il est possible que la substance des sphères protéiques soit combinée avec quelques autres polysaccharides, peut-être avec le galactogène ou la galactose que Walter (15) a obtenue à l'aide de méthodes chimiques des oeufs de la Carpe. Dans les stades ultérieurs cette réaction est donnée par les sphères

protéiques compactes à la périphérie de l'oocyte. La méthode de Best permet de déceler alors de nombreuses granulations dans le voisinage de plaquettes vitellines, à la périphérie de l'oocyte, et dans les cellules de l'épithélium folliculaire<sup>1)</sup>. Il se pourrait que dans les ovaires de ces poissons eut lieu une transformation en glycogène des glucosamines provenant des mucoprotéides. Chez le Goujon cette réaction aurait lieu dans les oocytes même, tandis que chez la Carpe la substance mucoprotéique pénétrerait des vaisseaux dans les oocytes où elle cesserait de donner une réaction colorée. La transformation se produirait soit dans les cellules de l'épithélium folliculaire, où on peut la mettre en évidence par la coloration de Best. C'est de là que cette substance pénétrerait dans l'oocyte.

#### Emploi d'autres techniques.

La méthode de Feulgen servant à déceler l'acide thymonucléique, n'a révélé la présence de celui-ci dans aucune période du développement, ni chez la Carpe, ni chez le Goujon. La méthode de Feulgen-Voss donne également une réaction négative pour le plasmal.

La méthode de Romieu permet de constater que dans le stade III les ébauches des plaquettes vitellines qui viennent de se former, ne contiennent pas de lécithine. Cette réaction est positive dans les plaquettes vitellines à partir de la IV période.

J'ai appliqué de plus certaines méthodes pour déceler les substances protéiques dans les oocytes de Poissons étudiés. Il s'agissait des méthodes d'Unna pour les protéines acides et basiques. Les ovaires fixées par de l'alcool absolu ou de l'alcool-formol, étaient colorés avec le Bordeaux R pour les protéines basiques et avec la pyronine-vert de méthyl pour les protéines acides et les nucléoprotéides. On a constaté que le cytoplasme oocytaire contient ces deux groupes de protéines. Comme les nucléoles sont colorables en rouge par le deux méthodes, ils contiennent probablement aussi

<sup>1)</sup> Fauré-Fremiet et Garrault n'ont pas trouvé de glycogène dans les oeufs de la Carpe. Je crois que la divergence de nos résultats peut s'expliquer par le fait, que ces auteurs ont étudié les ovaires de la Carpe deux mois avant la période de frai, lorsqu'il n'y a pas encore d'oocytes aux stades plus avancés. Dans le présent travail le glycogène fut trouvé dans les oocytes presque entièrement formés, peu avant la ponte.

des protéines acides et basiques. C'est le cas chez les deux espèces des Poissons étudiés. La pyronine-vert de méthyl colore en rouge les sphérules protéiques compactes contenues dans les gouttes claires. Une partie de coupes a été soumise à l'hydrolyse dans l'eau distillée à une température de 40° C pendant 24 heures, pour éliminer les albumines solubles dans l'eau. Ensuite on les a colorées à la pyronine-vert de méthyl. On s'aperçut que les sphérules protéiques compactes des gouttes claires avaient perdu leur colorabilité en rouge et se sont colorées en vert par le vert de méthyl. Après une hydrolyse par du HCl à 2 p. c. à une température de 40° C et après une coloration successive par la méthode d'Unna, le cytoplasme, colorable antérieurement en rouge, était à présent entièrement incolore. Il en résulte que les globulines qu'il contenait ont été détruites par l'hydrolyse. Par contre les sperules protéiques compactes des gouttes claires continuaient à être colorées en vert par le vert de méthyl. Comme c'est le colorant caractéristique de la chromatine, ce fait semble prouver l'existence d'une certaine quantité de nucléoprotéides dans les globules protéiques compactes. La coloration est particulièrement intense dans les sphérules protéiques apparaissant au stade III dans la région périnucléaire. La coloration de ces globules est identique dans les périodes terminales de l'accroissement des oocytes (stade V). Ils sont alors groupés à la périphérie dans la couche corticale du cytoplasme. Les plaquettes vitellines définitives présentent également une coloration verdâtre après l'hydrolyse dans l'eau distillée. Parmi les auteurs anciens, Scharff (12) a déjà décrit chez plusieurs espèces de poissons (*Tringla gurnadus*, *Lophius pisc.*, *Salmo* et autres) des vésicules contenant la substance nucléolaire. Ils se séparent du noyau et se transforment en plaquettes vitellines. Il se peut qu'il s'agit de formations analogues aux gouttes claires de la Carpe et du Goujon. Les résultats obtenus par la méthode d'Unna semblent indiquer qu'elles contiennent une substance voisine des nucléoprotéides. Cette hypothèse est confirmée par le travail de König et Grossfeld (7). Ces auteurs concluent à l'existence d'acide nucléique dans les oeufs de poissons d'après leur forte teneur en phosphore. De plus ils ont isolé par l'hydrolyse de petites quantités de bases puriques dans les oeufs de quelques espèces des poissons, entre autres dans ceux de la Carpe: 0.006 mgm p. c. de substance sèche. Quant à Needham (10), il passe en revue les travaux sur

cette question et aboutit à la conclusion suivante: »it would certainly appear as if ichtulin and vitelin may be associated with small quantities of nucleic acid«.

### Conclusions.

Le processus de la vitellogénèse chez les poissons est extrêmement compliqué et, comme on a pu le constater dans le présent travail à l'examen des coupes préparées par diverses méthodes, il serait impossible de le déchiffrer par les techniques histologiques habituelles, du moins chez la Carpe et le Goujon. A la suite de l'application de ces techniques, les oocytes subissent des modifications importantes: les corps gras sont dissous les gouttes claires déchirées et leur contenu est complètement ou en partie dissous ou rétracté. Seules les méthodes: F. S. III. H. et la fixation dans les liquides de Bark ou de Carnoy, suivie de quelques modes de coloration se sont montrées adéquates pour établir la marche des processus de la vitellogénèse. Grâce à ces techniques on a pu constater les faits notés ci-dessous.

Le cytoplasme des oocytes, basophile au début, devient acide dans la suite.

Les premières enclaves qui apparaissent dans le cytoplasme sont des lipides. Ils constituent alors dans le cytoplasme un anneau entourant le noyau. Cet anneau se fend ensuite en plusieurs travées qui se répartissent dans l'endoplasme entier et s'y dissolvent. C'est alors que le cytoplasme commence à se colorer en orange au Sudan. La bande lipidique qui touche à la couche périphérique du cytoplasme subsiste le plus longtemps. L'exoplasme joue un rôle important dans la perméabilité sélective des oeufs aux substances pénétrant de l'extérieur. Les mitochondries forment à ce stade de nombreuses stries concentriques et ensuite un anneau appliqué contre la couche périphérique du cytoplasme. Cet anneau subsiste encore pendant un temps assez prolongé, tandis que les mitochondries dans l'endoplasme disparaissent. Cette première période peut être considérée comme préparatoire à la vitellogénèse. Le cytoplasme subit alors des modifications qui consistent en un changement de la colorabilité et en une dissolution d'une certaine quantité de lipides dans son sein.

Le processus de la vitellogénèse proprement dite commence avec l'apparition des gouttes claires dans l'endoplasme ainsi pré-

paré. Ce sont des vacuoles contenant des sphérules protéiques à l'intérieur. Chez le Goujon on y observe également une autre substance protéique, contenant des glucosamines. Elle peut être considérée comme une espèce de mucoprotéide. Cette substance est diluée et par conséquent, difficile à fixer.

Les gouttes claires elles-mêmes ne se transforment pas directement en vitellus, mais jouent un rôle préparatoire dans la formation des substances phosphoprotéiques de ce dernier.

Les plaquettes vitellines apparaissent indépendamment des gouttes claires sous forme de très fines granulations dans la couche périphérique du cytoplasme. Elles se disséminent ensuite parmi les gouttes claires et gagnent la couche périnucléaire du cytoplasme qu'elles finissent par remplir entièrement. En même temps a lieu la décomposition des gouttes claires dont les contours s'estompent et le contenu se répand dans le cytoplasme entourant les plaquettes vitellines. Sur les coupes ce contenu est fixé sous forme de fines granulations. Les sphérules protéiques compactes sorties de gouttes claires feront partie des plaquettes vitellines. Les gouttes claires ne subsistent qu'à la périphérie de l'oocyte dans le cytoplasme périphérique.

Quant à la composition chimique des plaquettes vitellines, leurs ébauches apparaissant dans le stade III sont composées de lipides qui ne peuvent être mis en évidence que sur les coupes fixées dans du formol (elles apparaissent alors sous forme de fines granulations colorables au Sudan), ou traitées par le liquide de Kopsch et colorées par la méthode d'Altmann. Au stade IV cette substance grasse qui présente déjà une réaction positive de lécithine, se combine avec une substance albumineuse qui est probablement l'ichtuline, une phosphoprotéine trouvée par König et Grossfeld (7) dans les oeufs de la Carpe et voisine de la vitelline de l'oeuf de la poule. Cette substance prend naissance dans le cytoplasme parmi les gouttes claires. Sur les coupes fixées dans le liquide de Bark certains plages du cytoplasme paraissent s'agglomérer en formant des sphérules. Il est possible que cette agglomération s'effectue sous l'influence ou avec la participation des substances sorties des gouttes claires qui, pendant ce temps, diminuent de volume et se dissipent dans les parties de l'oocyte où la production des plaquettes vitellines est la plus intense. Ces sphérules se combinent au moment de leur formation avec les lipides contenus dans les ébauches des plaques vitellines. A partir

de ce moment les plaquettes vitellines peuvent être mises en évidence par toutes les méthodes histologiques et histochimiques: après F. S. III. H. elles se comportent comme des lipides (fig. 15), après toutes les autres méthodes comme des matières protéiques (fig. 16).

Cette double nature des plaquettes vitellines chez la Carpe et le Goujon révélée par les méthodes histochimiques concorde avec les résultats des études chimiques de Fauré-Frémiat et Garrault (fig. 5 et 6), qui considèrent les plaquettes vitellines comme des tablettes d'ichtidine: »L'ichtidine de l'oeuf de Carpe peut donc être considérée comme un complexe de deux substances, une vitelline et une lécithine, difficiles à séparer l'une de l'autre, ce qui assure aux éléments figurés qu'elles constituent des propriétés microchimiques contradictoires en apparence«. L'autre espèce d'éléments trouvés par ces auteurs dans le vitellus de Carpe, les globes hyalins, composés de phosphoprotéides, correspond à ces sphérules protéiques compactes dans les gouttes claires décrites dans le présent travail et qui dans les stades terminaux se trouvent à la périphérie des oocytes.

Dans les gouttes claires de Goujon on peut déceler des mucoprotéides, tandis que chez la Carpe ces substances se trouvent seulement dans les vaisseaux sanguins autour des oocytes.

D'après la méthode d'Unna on peut supposer l'existence d'une petite quantité des nucléoprotéides dans les sphères protéiques compactes chez les deux espèces de Poissons.

On a démontré enfin l'apparition du glycogène dans les stades tardifs du développement des oocytes.

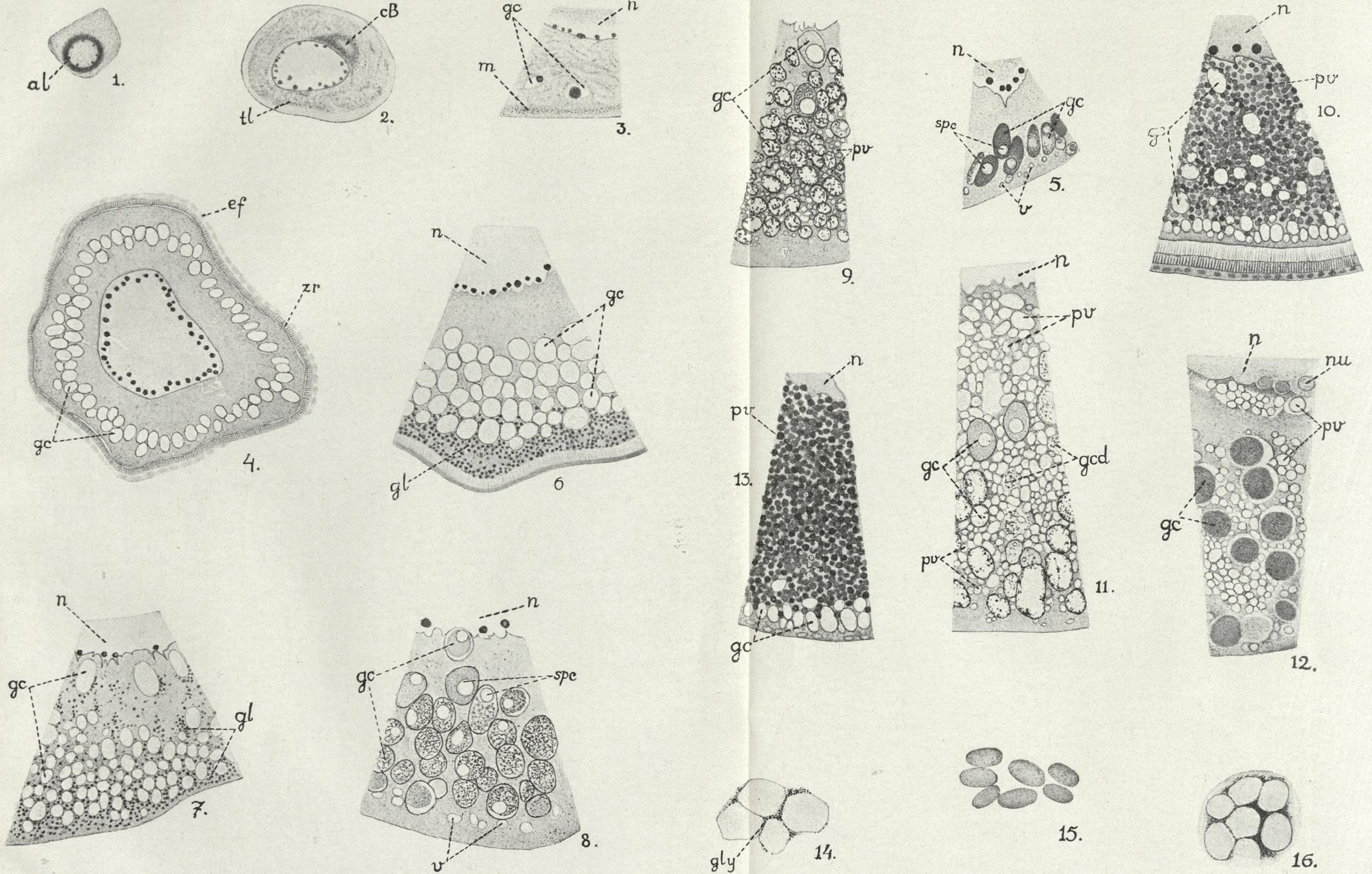
Ce travail a été exécuté grâce à une subvention accordée par le Fond pour la propagation de la Culture Nationale, pour laquelle j'exprime ma profonde reconnaissance à M. le Directeur St. Michalski.

Institut d'Histologie et d'Embryologie de l'Université de Varsovie (Directeur: Prof. M. Konopacki).

## Explication des figures de la planche 6.

### Abréviations

- al — anneau lipidique.
- cB — cospuscule de Balbiani.
- ef — épithélium folliculaire.
- gc — gouttes claires.



B. Konopacka



ged — gouttes claires en décomposition.

gl — granules lipidiques.

gly — glycogène.

m — mitochondries.

n — noyau.

nu — nucléole.

pv — plaquettes vitellines.

spe — sphères protéiques compactes.

tl — travées lipidiques.

v — vacuoles.

zr — zone radiée.

Fig. 1. Anneau lipidique autour du noyau dans un oocyte de Carpe de  $30\mu$  de diamètre. F. S. III. H. Oc. III, Obj. 5.

Fig. 2. Coupe par un oocyte de Carpe de  $132 \times 100\mu$  de diam. Travées lipidiques dans le cytoplasme et autour du corpuscule de Balbiani. Méthode de Zweibaum. Oc. II, Obj. 5.

Fig. 3. Secteur d'un oocyte de Carpe de  $180\mu$  de diam. Petits amas de mitochondries dans l'endoplasme et anneau mitochondrial près de la périphérie. Apparition des gouttes claires. Benoit-Altman. Oc. II, Obj. 8.

Fig. 4. Coupe d'un oocyte de Goujon de  $340 \times 300\mu$  de diam. Rangée de gouttes claires. Zone radiée et épithélium folliculaire. F. S. III. H. Oc. III, Obj. 4.

Fig. 5. Secteur d'un oocyte de Goujon de  $320 \times 250\mu$  de diam. Rangée de gouttes claires contenant une sphère protéique compacte et une charpente de substance mucoprotéique. Vacuoles à la périphérie. Bark-Prenant. Oc. II, Obj. 5.

Fig. 6. Secteur d'un oocyte de la Carpe de  $370 \times 320\mu$  de diam. 4—5 rangées de gouttes claires et apparition à la périphérie de l'oocyte de grains lipidiques; ébauches des plaquettes vitellines. F. S. III. H. Oc. II, Obj. 5.

Fig. 7. Secteur d'un oocyte de Goujon de  $450 \times 350\mu$  de diam. Les gouttes claires deviennent plus petites. Formation de gouttes nouvelles auprès du noyau. Les grains lipidiques apparaissent dans la zone périnucléaire. F. S. III. H. Oc. II, Obj. 5.

Fig. 8. Secteur d'un oocyte de Goujon de  $320 \times 200\mu$  de diam. 5 rangées de gouttes claires et formation de celles-ci auprès du noyau. Les gouttes claires contiennent une sphère protéique compacte, colorée en bleu et une substance homogène ou bien une charpente qui prend une coloration métachromatique. Vacuoles à la périphérie. Les grains lipidiques sont dissous. Bark—bleu de méthylène polychromique. Oc. II, Obj. 8.

Fig. 9. Secteur d'un oocyte de Goujon de  $470 \times 370\mu$  de diam. Les gouttes claires deviennent plus petites. Entre elles apparaissent les plaquettes vitellines qui à ce stade ne sont plus dissoutes par les dissolvants des lipides. Bark—bleu de méthylène polychromique. Oc. II, Obj. 8.

Fig. 10. Secteur d'un oocyte de Goujon de  $550 \times 450\mu$  de diam. Les gouttes claires sont peu nombreuses dans les parties moyennes de l'oocyte. A la périphérie elles forment deux rangées. Tout le reste de l'oocyte est rempli par les plaquettes vitellines colorées en orange par le Sudan. F. S. III. H. Oc. II, Obj. 5.

Fig. 11. Secteur d'un oocyte de Goujon de  $500 \times 550$  de diam. L'oocyte est rempli par des plaquettes vitellines, colorées par cette méthode en bleu pâle. Elles refoulent les gouttes claires dans les parties moyennes et périphériques de l'oocyte. Une partie des gouttes claires en décomposition. Bark—bleu de méthylène polychromique. Oc. II, Obj. 8.

Fig. 12. Secteur d'un oocyte de Carpe de  $500 \mu$  de diam. Formation des plaquettes vitellines définitives entre les gouttes claires et dans le cytoplasme périnucléaire. Bark—bleu de méthylène polychromique. Oc. II, Obj. 8.

Fig. 13. Secteur d'un oocyte de Goujon de  $700 \times 550 \mu$  de diam. Les gouttes claires à la périphérie. Les plaquettes vitellines colorées en orange par le Sudan remplissent l'oocyte. F. S. III. H. Oc. II, Obj. 5.

Fig. 14. Glycogène sous forme de petits grains autour des plaquettes vitellines dans un oocyte de Goujon de  $750 \times 600 \mu$  de diam. Bark—Best. Oc. II, Imm. 1/12 Leitz.

Fig. 15. Plaquettes vitellines d'un oocyte de Goujon de  $840 \times 600 \mu$  de diam. F. S. III. H. Oc. II, Obj. 8.

Fig. 16. Plaquettes vitellines d'un oocyte de Goujon de  $840 \times 600 \mu$  de diam. colorées en bleu pâle. Les travées du cytoplasme colorées en bleu marine foncé. Bark—bleu de méthylène polychromique. Oc. II, Obj. 8.

La zone radiée et l'épithélium folliculaire ne sont pas dessinés sur les fig. 7, 8, 9, 11, 12, 13.

### Bibliographie.

1. Bauer H. Mikroskopischer Nachweis von Glykogen. Zeitschr. f. mikr. anat. Forsch. V. 33, 1933. — 2. Champy C. et Gley P. Observations cytologiques sur les oocytes des Poissons. Arch. d'anat. micr. V. 19, 1918. — 3. Cunningham J. T. Ovary and ovarian ova in certain marine Fishes. Quart. Journ. mikr. sc. V. 40, 1897. — 4. Elkner A. Über die Entstehung d. Grundsubstanz im Kehlkopf beim Menschen. Zeitschr. f. mikr. Anat. Forsch. V. 30, 1932. — 5. Fauré-Fremiet M. E. et Garrault H. Consitutions de l'oeuf ovarien de Carpe. Comp. Rend. Acad. Sc. Paris v. 174, 1922. — Fauré-Frémié M. E. et Garrault H. Les substances grasses et lipoides de l'oeuf de Carpe (*Cyprinus carpio*). Bull. de la Soc. de Chimie Biol. V. 4, 1922. — 7. König J. u. Grossfeld J. Der Fischrogen als Nahrungsmittel für den Menschen. Bioch. Zeitschr. V. 54, 1913. — 8. Lams O. Contribution à l'étude de la gènèse du vitellus dans l'ovule des Teloestéens. Arch. d'anat. micr. V. 6, 1904. — 9. Lison L. Etude sur l'histochimie des corps gras. Bull. d'histol. appl. V. 10, 1933. — 10. Needham J. Chemical Embryology. Cambridge 1931. — 11. Plimmer and Scott, cité d'après Needham (9). — 12. Scharff R. On the interovarian eggs of some osseous Fishes. Quart. Journ. mikr. sc. V. 28. 1887—1888. — 13. Valenciennes et Fremy. Recherches sur la composition des oeufs dans la série des animaux. Comp. Rend. Acad. Sc. Paris. V. 38, 1854. — 14. Wallace W. Observations on ovarian ova and follicles in certain Elasmobranches Fishes. Quart. Journ. mikr. sc. V. 47. 1904. — 15. Walter G. Zur Kenntnis des Ichtulins u. seiner Spaltungsprodukte. Zeitschr. f. physiol. Chemie. V. 16. 1891. — 16. Zwickbaum J. Sur un nouveau procédé de coloration des graisses. Bull. d'histol. appl. V.10, 1933.





BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE POLONAISE DES SCIENCES  
ET DES LETTRES  
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES  
SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES  
—  
DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

N° 1—3 B I, 1935.

- Bursa A.** Liste des algues recueillies dans les eaux de la Baltique Polonaise.
- Skalińska M.** Cytogenetic Investigations of an Allotetraploid *Aquilegia* (Planches 2—5).
- Sulma T.** Beiträge zur Ökologie und Verbreitung der Flechten auf dem Lubliner Hügelland.
- Wiśniewski Tad. und Rejment Ir.** Das montane Element in der Lebermoosflora des Seengebietes von Suwalki.
- Włoszyńska J.** Die Algen der Tatrseen und Tümpel. II. Über zwei Gymnodynien aus den Seen »Morskie Oko« und »Czarny Staw pod Rysami«. (Planche 1).
- Włoszyńska J.** Bemerkungen über eine seltene Planktondiatomee des Brackwassers *Attheya decora* West.
- Włoszyńska J.** Über eine Wasserblüte von Cyanophyceen in der Danziger Bucht und eine Wucherung der Diatomee *Chaetoceros Eibonii* Grun (Planches 6—7).

N° 1—2 B II, 1935.

- Markowski St.** Über den Entwicklungszyklus von *Bothriocephalus scorpii* (Müller 1776) (Planche 1).
- Wiśniewski L. W.** *Cercaria dubia* sp. n., und deren weitere Entwicklung in *Herpobdella atomaria* (Planche 2).
- Zweibaum J. et Szejnman M.** Recherches sur les cellules binucléaires dans la culture de tissus.

# TABLE DES MATIÈRES.

Mars—Mai 1935.

	Page
ST. MARKOWSKI. Einfluß der Milieuveränderungen auf die Entwicklung der Eier von <i>Bothriocephalus scorpii</i> (Müller 1776) . . . . .	49
K. PASSOWICZ. Studien über das Verhalten des Wasserflohes <i>Daphnia pulex</i> de Geer in Zuchtlösungen von verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen . . . . .	59
M. RAMULT. Observations on the Embryonic and Larval Development in <i>Sacculina</i> (Rhizocephala) in Changed Osmotic Conditions of Medium . . . . .	87
F. ROGOZIŃSKI et ZB. GŁÓWCZYŃSKI. Sur la valeur nutritive de la graine d'Alpiste ( <i>Phalaris canariensis</i> ) . . . . .	111
F. ROGOZIŃSKI et ZB. GŁÓWCZYŃSKI. L'irradiation et la croissance (Planche 3) . . . . .	123
W. FRIEDBERG. <i>Turritella scalaria</i> de Buch und einige Bemerkungen über evolute Gastropodenschalen (Planche 4) . . . . .	137
J. ZAĆWILICHOWSKI. Über die Innervation der Haftapparate der Karpfenlaus <i>Argulus foliaceus</i> L. (Brianchura) (Planche 5) . . . . .	145
B. KONOPACKA. Recherches histochimiques sur le développement des Poissons. I. La vitellogénèse chez le Goujon ( <i>Gobio fluviatilis</i> ) et la Carpe ( <i>Cyprinus carpio</i> ) (Planche 6) . . . . .	163

Le «*Bulletin International*» de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles) paraît en deux séries. La première (A) est consacrée aux travaux sur les Mathématiques, l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série (B) se divise en deux sous-séries; l'une d'elles «I» contient les mémoires qui se rapportent aux diverses branches de la Botanique (la Systématique, l'Anatomie et la Physiologie des Plantes), l'autre «II» est réservée aux publications qui concernent le vaste domaine des recherches morphologiques et physiologiques sur l'homme et les animaux (Anatomie, Biologie générale, Embryologie, Histologie, Physiologie, Psychologie, Zoologie systématique et expérimentale).

Depuis 1928, le «*Bulletin International*» ne contient que les communications dont l'étendue ne dépasse pas une limite strictement définie; les mémoires de plus vaste envergure sont réunis en un Recueil différent, les «*Mémoires*» de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles). Les *Mémoires* sont également publiés en deux séries: A et B. Chaque mémoire publié dans les *Mémoires* se vend séparément.

Les abonnements relatifs au «*Bulletin International*» sont annuels et partent de Janvier. Les livraisons de ce Recueil se vendent aussi séparément.

Adresser les demandes à l'Académie ou à la Librairie «Gebethner et Wolff» Rynek Gł., Cracovie (Pologne).