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



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 Naturelles (Cracovie, Institut d'Histologie de l'Université, rue Wielopole 15).

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

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

Neoplasmoidy zarodkowe wytworzone w drodze doświadczalnej. – Les néoplasmoïdes embryonnaires obtenus par voie expérimentale.

Mémoire

de M. J. TUR m. c., présenté le 3 juin 1935. (Planche 7).

Par le terme »néoplasmoïdes embryonnaires« j'ai désigné une catégorie spéciale de formations extrêmement rares, que j'ai observées dans des embryons de Sauropsidés (Oiseaux, Reptiles) aux stades très jeunes — ceux de gastrulation — et qui consistaient en une hyperprolifération déchaînée d'éléments cellulaires situés au centre de ces germes, aboutissant à une transformation des régions destinées normalement à produire les linéaments du corps embryonnaire — en un amas désordonné de cellules se multipliant sans cesse, incapables d'un effort morphogénique quelconque.

Une des formes les plus typiques de ce processus pathologique est représentée chez les Oiseaux par les lignes primitives anormalement élargies en sens transversal et composées d'un amas énorme de cellules issues d'une prolifération exagérée, pénétrant très profondément dans la cavité sous-germinale. Tels sont p. ex. les cas: 6, 7, 8, 9, 10, et surtout le cas 11 de notre travail »Recherches sur les néoplasmoïdes embryonnaires« (Mémoires de l'Académie Polonaise d. Sciences et d. Lettres, III. B., Nº 7, 1935). L'étude détaillée de ces cas nous a appris que, selon toute probabilité, ce processus pathologique portant tous les caractères de la formation de néoplasmes commence, ou du moins, se révèle d'une façon saisissable dans les stades relativement avancés Bulletin III, B. II. 1935.

en comparaison avec le début de l'incubation, c.-à-d. vers les phases de l'apparition de la ligne primitive. Ainsi, comme nous l'avons souligné dans notre travail cité, la formation d'une masse énorme de matériel néoplasié ne serait l'oeuvre que de quelques heures seulement.

En effet, si l'on ne perd pas de vue qu'au cours du développement normal du Poulet les premières traces de la formation de la ligne primitive apparaissent vers 10-12 heures de l'incubation au plus tôt, et que dans notre matériel nous avons constaté les mêmes lignes déjà transformées en masses néoplasiées géantes après 20 heures, la conclusion inévitable s'impose que tout ce processus n'a dû durer que 10-8 heures au plus. D'autre part la conformation à peu près normale du reste du blastoderme, et surtout la différenciation assez nette de l'aire transparente se séparant de l'aire opaque, paraissent indiquer que le processus pathologique, bien que se préparant probablement déjà dans les stades pré-gastruléens et peut-être même dans ceux d'avant la ponte, n'influence pas d'une façon sensible les régions centrales du germe, où il n'entre en action que vers les phases de l'activité spéciale de l'ectoderme se »mobilisant« pour former le premier linéament du corps embryonnaire.

De là il n'y a plus qu'un pas à la supposition que la production artificielle d'un néoplasme soit possible chez un embryon originairement tout à fait sain et normal. L'action d'un facteur extérieur, suffisamment forte pour produire un choc ébranlant l'équilibre cytologique d'une région donnée du blastoderme, sans amener en même temps sa destruction irrémédiable, paraît ici à appliquer avec quelque espoir de succès.

Entre temps je me suis souvenu de mes expériences, déjà bien anciennes, où je soumettais les régions centrales des blastodermes de Poule à des brûlures à l'aide de l'aiguille de Roux, rougie au feu. J'ai obtenu alors de curieux »blastodermes zonaux« que j'ai décrits dans mes »Etudes sur la corrélation embryonnaire« (1905). Au cours de ces expériences j'ai recueilli aussi quelques cas de lignes primitives très fortement épaissies qui me paraissaient alors »ne rimer à rien«, et auxquels je ne prêtais point d'attention.

A présent j'ai passé en revue ces préparations d'il y a 30 ans et j'étais bien frappé de leur ressemblance, sinon de leur

identité, avec les »néoplasmoïdes« spontanés, sur lesquels je viens de publier une étude détaillée.

Je me suis donc décidé à refaire ces expériences, mais en me servant d'un outillage plus perfectionné. Car la classique aiguille de Roux, qui a rendu tant de services à l'Embryologie expérimentale, était ici d'une application pas toujours très sûre. Il est, en effet, presque impossible qu'une main humaine, si assurée et expérimentée qu'elle soit, puisse maintenir le même degré d'effort pendant ces quelques secondes que dure l'opération, en exerçant une pression continue sur la surface du blastoderme. Il est de même impossible de doser cet effort de manière à se rendre compte de la force de la pression, de mesurer la résistance de la membrane vitelline qui cède ou non à l'action pénétrante de l'aiguille, de diriger cette action de sorte qu'elle laisse sur le blastoderme la trace d'une légère brûlure superficielle, ou bien produise une piqure plus ou moins profonde. D'autre part un tremblement de la main, tout imperceptible qu'il soit, mais toujours possible et toujours à craindre, peut transformer le trou de la piqure ou la tache ronde de la brûlure en une lésion plus étendue dont les conséquences sont imprévoyables.

Ainsi je me suis adressé au thermocautère électrique aménagé par le Dr. G. Dehnel spécialement pour ses expériences avec les blastodermes de Poule qu'il poursuit depuis quelques années dans notre laboratoire. L'aiguille en platine (remplaçant la lame à blastotomie qu'emploie le Dr. Dehnel), chauffée à blanc au courant électrique, était maniée à l'aide d'une crémaillière; une autre crémaillière assurait la position de l'oeuf, posé sur un support de cire. Le trou, aussi petit que possible, pratiqué à l'endroit culminant de la coquille d'un oeuf »reposé«, c.-à-d. à position fixe du blastoderme, permettait de mettre en contact un point déterminé de celui-ci avec la pointe de l'aiguille. De cette facon on était d'abord sûr de l'endroit opéré, puis de l'immobilité absolue de l'aiguille. En même temps on pouvait établir à son gré la distance entre la pointe de l'aiguille et la surface du blastoderme, tantôt en appuyant cette pointe immédiatement contre la membrane vitelline, tantôt en éloignant la pointe et en faisant agir la chaleur de l'aiguille à travers l'épaisseur voulue d'une couche d'albumine.

Après l'opération on refermait le trou dans la coquille à l'aide d'un verre couvre-objet chauffé et appliqué contre un anneau de

13*

cire, entourant les bords du trou. Ensuite on mettait l'oeuf à l'incubation à l'étuve dans les conditions normales.

La durée de l'opération variait, naturellement, en raison directe de l'éloignement de la pointe incandescente de la surface de germe. En appuyant l'aiguille immédiatement contre le blastoderme, on faisait durer la brûlure pendant trois secondes, dont les deux dernières étaient accompagnées d'un crépitement caractéristique de l'albumine brûlée.

Après avoir passé un temps déterminé à l'étuve, les blastodermes opérés étaient fixés à l'aide d'acide nitrique à $3^{\circ}/_{\circ}$, et colorés *in toto* au carmin aluné.

Dans mes premières expériences j'ai répété celles d'il y a 30 ans, c.-à-d. j'ai pris pour point de départ les blastodermes d'oeufs fraîchement pondus et non incubés, et j'appuyais la pointe brûlante immédiatement contre le centre de l'*area pellucida*, en évitant toutefois de pratiquer une piqûre. Déjà le premier lot d'oeufs, incubés pendant 24 heures, m'a donné des résultats bien au-dessus de mes espérances.

Tous les blastodermes opérés portaient des germes néoplasiés.

Et, ce qui plus est, ces néoplasmoïdes artificiels reproduisaient dans tous les détails l'aspect, la grandeur, la disposition et la structure des neoplasmoïdes provenant de l'incubation dans des conditions normales, que j'ai décrits dans mes »Recherches«.

Il ne s'agissait pas d'une ressemblance frappante, mais bien d'une parfaite identité.

La cause, ou tout un complexe de causes, auxquelles mes néoplasmoïdes spontanés, issus de l'incubation normale, doivent leur origine, n'ont évidemment rien de commun avec l'influence d'un choc thermique qui a joué le rôle de cause efficiente dans mes expériences. Nous sommes donc autorisés à conclure que nous avons affaire ici à une étonnante convergence des effets, provoqués par des causes indubitablement tout à fait hétérogènes. Sans recourir à des analogies toujours trop risquées, nous pouvons rappeler tout de même que les néoplasmes chez les adultes paraissent, eux aussi, être attribuables à bien des causes disparates. Je n'irai point jusqu'à pousser la comparaison de mon aiguille incadescente avec le «Kangri« des indigènes du Kashmir, ou le mouton fumant des autres peuplades d'Asie. Une seule circon-

Néoplasmoïdes embryonnaires obtenus par voie expérimentale 187

stance paraît être ici de première importance: c'est que mes néoplasmoïdes artificiels ont été provoqués par l'action d'un facteur violent dont l'intervention a dû, sans aucun doute, ébranler l'équilibre cytologique d'un groupe de cellules de l'ectoderme de nos blastodermes. Il n'est pas moins frappant que cet équilibre troublé s'est prononcé justement vers les phases de la formation de la ligne primitive, vers un stade d'une activité spéciale, surgissant dans un endroit spécial.

Dans mes »Recherches sur les néoplasmoïdes« j'ai décrit avec tant de détails les embryons atteints de néoplasmes formés spontanément (c.-à-d. sous l'influence de facteurs inconnus), qu'il serait tout à fait inutile de m'engager dans une description minutieuse de mes néoplasmoïdes artificiels, qui sont identiques avec ceux-là. Ainsi je m'arrêterai surtout sur les résultats de diverses modifications de mes expériences, pour établir les conditions les plus favorables à la formation de ces néoplasmoïdes, ce qui ne manquera pas d'un certain intérêt pour quelques questions du domaine de l'embryologie normale. Puis je donnerai la description de quelques cas les plus typiques, pour prouver justement leur identité parfaite avec les néoplasmoïdes spontanés. En ce qui concerne les »cas typiques«, nous aurons un vrai »embarras de choix«, car tous ces »cancers artificiels« se ressemblent extraordinairement entre eux.

Quant à la technique de mes expériences, il faut surtout souligner que leur réussite dépend exclusivement de la qualité du matériel employé: on obtient 100% de néoplasmoïdes à condition d'opérer exclusivement sur des oeufs bien frais, c.-à-d. pondus avant 3-4 jours au plus. Les oeufs plus âgés, bien que conser- . vant encore toute leur faculté de se développer dans des conditions normales, se montrent beaucoup moins résistants à l'action de la brûlure superficielle: au lieu de donner des néoplasmoïdes, leurs blastodermes se transforment facilement en »anidiens zonaux«, dont les régions centrales meurent et se décomposent très vite, en ne laissant survivre que leurs parties périphériques qui se développent en un anneau caractéristique. Le phénomène de la nécrose »zonale« partielle s'observe aussi parfois chez des germes opérés bien frais, quand l'action de la chaleur trop forte et appliquée de trop près provoque la nécrotisation immédiate d'une région limitée de l'aire transparente. Dans ces cas l'ébauche de

la ligne primitive peut bien se développer à côté d'un »trou zonal« plus ou moins béant, et se transformer en une masse néoplasique caractérisée. Ces cas sont pour nous particulièrement précieux, car ils prouvent que la formation d'un néoplasme ne représente point une réaction immédiate et localisée de la surface brûlée: l'endroit lésé se désagrège, toutefois une toute autre région du même germe, celle où justement la ligne primitive doit apparaître plus tard, se montre étrangement sensible au choc thermique. Je trouve dans mes matériaux toute une série d'arguments qui parlent dans le même sens: celui de l'action g é nér a li s é e de la brûlure opératoire. Pourvu que l'endroit opéré se trouve dans les limites de l'aire transparente primitive, tout l'ensemble embryonnaire devient influencé d'une façon spécifique qui se manifeste ensuite par la prolifération exubérante des éléments prédestinés à la formation de la ligne primitive.

Ceci est prouvé d'abord par l'identité des résultats des brûlures pratiquées de différentes manières. La brûlure que produit la pointe incandescente appliquée presque immédiatement à la membrane vitelline durant 3 secondes, provoque un résultat identique avec une brûlure faite pendant 15 secondes à travers une couche d'albumine de 1-2 mm d'épaisseur. Les oeufs soumis à l'expérience après 3 heures d'incubation normale préalable se comportent exactement comme ceux opérés avant l'incubation. Il est, d'ailleurs, très facile de constater ici »l'identité des résultats«, car, comme nous l'avons dit, tous ces néoplasmoïdes artificiels se ressemblent d'une façon surprenante. Puis, dans tous les cas où les effets de la brûlure ont laissé des traces sur la surface du blastoderme, comme cela arrivait assez souvent dans les expériences avec l'aiguille de Roux, celles-ci sont souvent bien éloignées des linéaments néoplasiés du corps embryonnaire. Nous en avons un exemple frappant sur notre microphot. 7, pl. 7, où la brûlure, accompagnée d'une piqure assez profonde s'est trouvé logée dans la partie antérieure gauche de l'aire transparente, assez loin de la ligne primitive fortement néoplasiée.

Enfin, un hasard curieux nous a fait exposer à la brûlure au thermocautère un blastoderme renfermant »in potentia« un monstre double, ce qui n'était évidemment pas à prévoir avant le commencement de l'incubation. Après 24 heures j'ai trouvé au centre de son aire transparente deux très belles lignes primitives

Néoplasmoïdes embryonnaires obtenus par voie expérimentale 189

du pur type »d'Allen Thomson« d'après ma terminologie, toutes les deux profondément néoplasiées. Et pourtant il n'y avait ici qu'une seule brûlure de l'aiguille appliquée directement à la surface de la membrane vitelline, et qui n'a, d'aileurs, laissé aucune trace localisée. Ce cas, très intéressant au point de vue de la formation des néoplasmes artificiels, l'est encore davantage pour maintes questions du domaine des diplogénèses, et c'est pour cette raison que je me propose de le décrire séparément dans une note spéciale.

Dans la plupart de mes expériences je laissais les oeufs opérés à l'incubation de 24 heures, car c'est justement à ce »stade« que se rapportaient presque tous mes néoplasmoïdes spontanés. Après m'être assuré de l'identité parfaite de ceux-ci avec mes néoplasmes artificiels, j'entrepris une autre série d'expériences où les oeufs opérés étaient soumis à une incubation plus prolongée, jusqu'à 46 heures. Ici les résultats, toujours les mêmes quant à l'apparition des néoplasmes, différaient parfois en raison de la vitalité individuelle du germe. Ainsi les uns, sans doute très fortement néoplasiés au début de la formation de la ligne primitive, se présentaient vers la fin du second jour d'incubation sous l'aspect d'un amas informe d'un néoplasme définitivement désagrégé, entouré par les ébauches plus ou moins développées de l'aire vasculaire. Les autres, plus réfractaires, montraient des traces plus ou moins accentuées d'une organogénèse ébauchée mais portant toujours un caractère néoplasique pas douteux. Parmi toutes les ébauches, celle du coeur se révèle ici d'une vitalité tout exceptionnelle. Son comportement était bien spécial et non dépourvu de beaucoup d'intérêt. Vu »l'arrêt« sensible du corps embryonnaire néoplasié, le coeur se plaçait ici bien en avant de celui-ci, en prenant des formes inusitées. L'ébauche de l'amnios, se formant d'assez bonne heure, prend ici toujours la disposition Ȉ l'Albatros« liée corrélativement, comme je l'ai démontré en 1926, avec le déplacement vers l'avant de l'ébauche cardiaque.

Toutes ces conformations peuvent nous fournir des indications de valeur pour maints problèmes de l'Embryologie normale et de la Tératogénèse. Mais leur étude exigerait un mémoire plus étendu, que j'ai en vue de préparer le plus tôt possible, aussi je me borne pour le moment à ces remarques générales.

Sur notre microphot. 1, pl. 7, nous voyons un des cas les plus typiques d'un néoplasmoïde artificiel obtenu par la brûlure superficielle du centre de l'aire transparente avant l'incubation. L'opération a été exécutée à l'aide d'un thermocautère appliqué presque directement à la surface de la membrane vitelline pendant trois secondes. Au bout de 24 heures d'incubation subséquente le blastoderme se présentait comme un disque arrondi, d'un diamètre de 8 mm 5-9 mm 3. Dans son centre on voyait une aire transparente aux contours irréguliers, longue de 2 mm 23, et large de 2 mm 16 env., qui ne portait aucune trace visible de brûlure. Vers le bout postérieur de cette aire, étiré en promontoire ou languette étroite, était logée la ligne primitive anormale, sensiblement élargie et épaissie, mais assez courte. Sa forme générale affectait celle d'une massue très sombre, élargie vers l'avant, puis se retrécissant assez brusquement vers l'arrière, et son aspect conservait sur tout son trajet l'opacité typique d'une formation néoplasiée. La longueur de toute cette »ligne primitive« n'était que de 0 mm 9, mais sa largeur énorme atteignait jusqu'à 0 mm 5 au niveau de son bout antérieur, et était de 0 mm 2 vers sa partie caudale.

Tout l'aspect de cette masse géante de ligne néoplasiée rappelait à tous les égards celui du cas 11 de nos néoplasmoïdes spontanés (»Recherches«, page 25, Pl. 3 microphot. 19). Et c'était bien le cas le plus grave parmi ceux-ci.

L'étude des coupes transversales de ce germe nous a révélé des tableaux qui, eux aussi, montrent l'identité surprenante de notre cas expérimental avec le néoplasme spontané déjà mentionné. Notre microphot. 2 pl. 7 ressemble étrangement à celle N. 20 de la Pl. 3 de nos »Recherches«. On y voit strictement le même caractère cytologique de la masse néoplasiée, le même arrangement de ses éléments, et également le même type de désagrégation commençante. Ici et là on trouve deux endroits où ce processus de nécrotisation paraît se loger de préférence; c'est: d'abord la surface dorsale de la ligne néoplasiée, atteinte chez le germe opéré suivant une étendue assez considérable, correspondant à peu près à toute la largeur de cette surface, puis un endroit situé au sein de la masse du néoplasme, à 2/3 de son épaisseur, plus près de sa surface ventrale.

Quant à la surface dorsale du germe, tapissée de cellules définitivement nécrotisées, colorées uniformément en noir foncé par l'hé-

Néoplasmoïdes embryonnaires obtenus par voie expérimentale 191

matoxyline ferrique, son aspect peut suggérer au premier coup d'oeil l'idée d'un endroit littéralement brûlé par l'action du thermocautère. En réalité il n'en est rien, car ce type de nécrose est uniformément répandu le long de toute la ligne primitive, sans qu'aucun endroit soit plus particulièrement atteint, et nous savons bien que seule une région infime du centre du blastoderme était exposée à l'action directe de la brûlure. D'ailleurs, la même couche superficielle de la ligne géante était atteinte du même processus nécrotique dans les néoplasmoïdes spontanés, ce qui tranche la question d'une façon définitive.

Le second »nid« de désagrégation, celui des couches profondes du germe, était logé d'une manière identique dans les néoplasmes artificiels et spontanés. Dans notre germe opéré ce processus de nécrotisation de la région profonde était moins avancé que dans les cas correspondants dûs aux facteurs naturels. Cela nous permet d'en étudier quelques détails non dépourvus d'intérêt. Nous voyons ici que les signes de désagrégation apparaissent dans les couches profondes tout à fait indépendamment de la nécrotisation des cellules de la surface du germe, cellules dont, dans notre cas, le complexe était séparé au commencement de la désintégration par une couche épaisse d'éléments encore sains et en pleine vitalité. Le foyer de dégénérescence au sein du »massif« de la ligne est visible, même à un faible grossissement, grâce à une fente horizontale marquant cet endroit et issue d'un écartement singulier des éléments atteints d'un commencement de nécrose. Tandis que la masse de la ligne néoplasiée présente un amas de cellules très étroitement serrées, aux novaux sains, dont de nombreux en mitose et dont le diamètre varie de 5μ à 7μ 5, les éléments entourant la »fente de nécrose« sont sensiblement relâchés, comme pour accentuer leur individulité avant de périr. Leurs contours s'arrondissent et, chose curieuse, leur diamètre devient beaucoup plus grand en même temps et atteint 15 μ - 18 μ . La structure de leurs noyaux correspond aux stades initiaux de la caryorrexie typique (à comp. la microphot. 3).

Quant aux autres caractères de la masse néoplasié, nous n'avons ici rien à ajouter à la description que nous avons donnée dans nos »Recherches«. Le tableau général est ici tout aussi monotone. Il est peut-être à remarquer que dans le néoplasme artificiel l'élan de la prolifération exubérante paraît être encore plus

fort que dans les néoplasmoïdes spontanés. On s'en rend compte d'abord par l'épaisseur de la masse totale de matériel élaboré au sein de la ligne primitive, qui vers le niveau des coupes passées par la moitié de la longueur de la ligne (niveau de notre microphot. 2) atteint jusqu'à 225 μ . Il est à rappeler que l'épaisseur de la ligne de notre »cas 11« de néoplasme spontané mesurait 200 μ au maximum. Dans notre dernier cas nous voyons ensuite un curieux renflement de la masse néoplasiée (côté droit de la microphot. 2) pénétrant dans la cavité sous-germinale comme en débordant en largeur par rapport à la surface dorsale de la ligne.

Enfin nous avons à signaler ici la présence, au milieu de la masse du néoplasme, d'assez nombreuses mégasphères, de dimensions variées (p. ex. $63 \mu \times 38 \mu$), remplies de granulations vitellines, et ne prenant très probablement aucune part au processus néoplasique général. Elles se rencontrent à différentes profondeurs de la masse hyperprolifiée, où elles ont dû être entraînées passivement dans les premières phases de la formation du néoplasme et y sont restées, en se déplaçant suivant le jeu de la multiplication excessive des éléments d'origine ectodermique qui les entourent.

Quant à l'endoderme vitellin, il est ici incorporé sans trace dans la couche ventrale de la masse néoplasiée, comme c'est également toujours le cas dans les néoplasmoïdes spontanés.

L'élargissement en sens transversal par rapport à l'axe du germe et la prolifération exubérante des lignes primitives néoplasiées vers la cavité sous-germinale ne sont pas nécessairement accompagnés d'un »arrêt« de leur accroissement en longueur. Comme le montre le cas représenté sur notre microphot. 4, pl. 7, un néoplasmoïde artificiel peut atteindre en longueur les dimensions d'une ligne primitive presque normale, tout en les dépassant sensiblement par sa largeur et son épaisseur insolites. Nous avons affaire ici à un embryon provenant du même lot d'oeufs que celui de notre microphot. 1, c.-à-d. à un embryon incubé pendant 24 heures après avoir subi une brûlure au thermocautère au centre de l'aire transparente avant l'incubation. Après la fixation cette aire mesurait 3 mm 16 et 2 mm—1 mm 7, et était entourée de l'aire opaque dont les bords internes (découpés sur la microphotographie) montraient des traces déjà bien nettes de forma-

Néoplasmoïdes embryonnaires obtenus par voie expérimentale 193

tions sanguines. La ligne primitive, fortement néoplasiée, était longue de 1 mm 3, et large, de l'avant vers l'arrière, de 0 mm 45 à 0 mm 23. A une distance de 0 mm 05 du bout postérieur de la ligne, on voyait ici un épaissement ectodermique aux contours irréguliers, de mm 5 de diamètre.

Des deux côtés du bout antérieur de la ligne se dessinaient deux forts épaississements ectodermiques sombres, qui paraissent correspondre à ces régions »mobilisées« de l'ectoderme au caractère probablement neural, que nous avons décrites chez les néoplasmoïdes spontanés.

La forme de la ligne primitive néoplasiée élargie vers l'avant et ayant pris ainsi l'aspect d'une »massue«, quoique assez fréquente dans nos néoplasmoïdes, aussi bien spontanés qu'artificiels, n'est ni constante, ni nécessaire, comme le prouve, entre beaucoup d'autres, le cas représenté sur notre microphot. 5, pl. 7. Il s'agit ici d'une ligne primitive qui s'est développée au sein d'une aire transparente brûlée au centre avant l'incubation par la pointe de l'aiguille de Roux, après quoi l'oeuf a été incubé pendant 24 heures. Cette ligne mesurait 1 mm de long, et sa largeur, à peu près uniforme sur tout son trajet, était de 0 mm 5 environ.

Il faut ajouter enfin que le procesus néoplasique ne se manifeste pas nécessairement sur toute la longueur de la ligne primitive des germes soumis à l'expérience. Sans qu'on puisse deviner la cause du phénomène, car la localisation de la brûlure expérimentale paraît n'être pour rien dans le résultat final, la ligne primitive peut bien subir l'effet de la »mobilisation« morbide de ses éléments sur toute son étendue, ou bien cette mobilisation se borne à une partie quelconque de son trajet. Ainsi on voit les lignes primitives très fortement néoplasiées, mais exclusivement à leur bout céphalique, tandis que le reste demeure tout à fait normal; d'autre part, il n'est point rare d'obtenir, par un procédé en apparence identique, un résultat inverse, c. à-d. une ligne dont l'extrémité caudale est transformée en un amas néoplasique énorme, tandis que son extrémité antérieure est plus ou moins normalement constituée. Le contraste peut alors devenir très frappant. Un de ces cas est représenté sur notre microphot. 6, où nous voyons la formation axiale d'un blastoderme qui pendant 7 secondes a subi la brûlure du thermocautère dont la pointe était

éloignée de 2 mm environ de la surface de la membrane vitelline. Par conséquent le blastoderme a été ici influencé par la chaleur d'une façon générale, sans qu'elle eût agi sur une région déterminée et strictement circonscrite d'aire transparente. Le résultat de cette expérience était, comme on le voit, très étrange: au bout de 24 heures d'incubation un seul endroit de la ligne primitive, celui de son extrémité céphalique, s'est transformé en un néoplasme typique, tandis que la partie postérieure de la même ligne, à peine prononcée, quoique portant la dépression assez distincte de la gouttière primitive, se termine par un »noeud caudal« à la limite de l'aire transparente. La longueur totale de cette ligne primitive était de 1 mm 6, celle de sa partie antérieure néoplasiée de 1 mm 05, et la largeur de la masse hyperprolifiée, en forme du fuseau, atteignait 0 mm 45 dans son endroit le plus élargi.

Il est assez curieux que dans plusieurs cas de nos néoplasmes artificiels nous trouvons en arrière des lignes primitives anormales une formation sui generis, représentant un »noeud caudal« bien typique. Or, ce »noeud caudal«, que nous voyons sur nos microphot. 4 et 6, et qui apparaît au moins dans 30% des autres cas du même âge, est très rare chez les embryons de Poule, comme je l'ai démontré en 1907, tout en apparaissant comme une formation presque constante chez quelques autres Oiseaux (Tur. 1901; Dehnel, 1927, 1929). Vu que le développement néoplasique se déroule sur le terrain de l'ectoderme spécialement »mobilisable« aux fins de la formation de la ligne primitive, il ne serait point inadmissible que le choc thermique »réveillât« ici les potentialites latentes, quoique sommeillant d'ordinaire au cours du développement normal, potentialités cachées chez la Poule, mais peut-être propres au type général du développement d'un germe d'Oiseau.

La ressemblance frappante, ou plutôt l'identité parfaite de nos néoplasmoïdes artificiels avec les formations du même ordre issues de l'incubation normale se prononce non seulement dans les cas, les plus fréquents, où le germe néoplasié est réduit à une ligne primitive transformée en un amas géant de matériel hyperprolifié, excessivement large et épaissi en profondeur. Elle apparaît aussi dans les cas, plus rares, dans lesquels en avant du bout céphali-

que d'une telle ligne primitive se forment d'étranges différenciations, imitant les débuts d'une organogénèse fantaisiste. Des exemples d'efforts pseudo-organogéniques pareils sont représentés par les cas: 8, 9 et 10 de nos »Recherches«. Dans mon matériel expérimental je possède également quelques cas de ce genre, dont le plus typique est représenté sur la microphot. 7 de ce travail Je dois dire, sans rien exagérer, que ce cas est absolument i de ntique avec notre cas 9 de néoplasmoïde »naturel« (»Recherches«, pages 19—22, Pl. 3, microphot. 15). Les seules différences à noter proviennent ici des effets tous secondaires de l'opération, exécutée plutôt brutalement dans ce cas avec l'aiguille de Roux, qui a laissé des traces bien visibles, contrairement à la grande majorité d'autres expériences où les traces de la brûlure initiale sont tout à fait indéchiffrables sur la surface du blastoderme fixé.

Après avoir subi une forte brûlure, accompagnée d'une piqûre assez profonde, le germe en question était incubé à l'étuve pendant 24 heures. Les dimensions du blastoderme n'étaient point trop grandes, car il ne mesurait que 11 mm de diamètre, mais l'état de ses différenciations centrales nous a frappé au premier coup d'oeil; en effet, les dimensions réduites de celles-ci juraient étrangement avec leurs »stades« évolutifs, qui se distinguaient par une précocité surprenante. Ainsi nous constatons ici la présence d'une aire vasculaire, en formation assez avancée quant au développement des îlots sanguins déjà bien forts, mais elle ne mesurait que 3 mm de long sur 2 mm 7 de large. L'aire transparente, également réduite, était longue de 2 mm 16 et large de 1 mm 7-0 mm 8. Dans cette aire »en miniature« on voit le corps embryonnaire néoplasié, d'une ressemblance frappante avec celui de notre cas 9 de néoplasmoïde spontané, sauf la torsion anormale de tout ce complexe axial, comme repoussé vers le côté droit. La cause de cette torsion était très facile à comprendre: vers la partie antérieure gauche de l'aire transparente se trouvait ici une »plaie« béante circulaire, trace de la piqure-brulure opératoire. Cette »plaie«, ou plutôt cette cicatrice, était composée d'un trou central de 0 mm 3 de diamètre, typique pour la dégénérescence »zonale«, d'un reste de la substance du blastoderme encore non dégénérée qui entoure ce trou, et le tout était encerclé par un anneau sombre de tissu blastodermique épaissi aux contours vagues et irréguliers, et dont le diamètre me-

surait 0 mm 9 à 1 mm. Il est donc évident que la pointe de l'aiguille de Roux a touché ici l'endroit du blastoderme situé en dehors des régions prédestinées à l'élaboration des linéaments figurés du corps embryonnaire, car le bord de l'anneau cicatriciel s'est trouvé éloigné de 0 mm 05-0 mm 12 de ces linéaments. Or, malgré cela, la ligne primitive naissante a dû ressentir l'action du choc de l'expérience et s'est transformée en un amas de matériel profondément néoplasié. L'asymétrie de cet amas, les courbures de sa région céphalique et de la partie antérieure de la ligne primitive, dépendent, évidemment, du voisinage si proche de l'endroit lésé par l'opération, qui exerce ici, sans aucun doute, une action empêchant l'accroissement du complexe axial en ligne droite. Mais le comportement de ce complexe vis-à vis de la »cicatrice«, comme d'un facteur étranger et, pour ainsi dire, »hostile«, prouve justement l'indépendance évolutive de ces deux régions: celle de la brûlure opératoire et celle du foyer de l'individualisation du néoplasme.

Le complexe axial était ici représenté d'abord par un système irrégulier de plis sombres formant la partie céphalique du germe, puis par la ligne primitive transformée en néoplasme, qui s'étire vers l'arrière, jusqu'au bord caudal de l'aire transparente. La longueur commune de toutes ces formations figurées n'est que de 0 mm 4, c. à-d. elle n'atteint point celle de la ligne primitive movenne. Les plis »céphaliques«, contournés en une anse irrégulière, dont la longueur totale est de 0 mm 85 et la largeur de 0 mm 05-0 mm 12, anse posée de travers et déplacée vers le côté droit, correspondent sans aucun doute à la formation »en S double« de notre néoplasmoïde naturel du cas 9 cité. La différence ne consiste ici qu'en une contorsion forcée de cette région dans le néoplasmoïde artificiel. La ligne primitive, longue de 1 mm 25, est, tout à fait comme dans le »cas 9«, composée de deux parties: l'antérieure, aux contours nets et arrondis, contournée anormalement, et qui était large de 0 mm 2 env., et la postérieure, beaucoup plus large (de 0 mm 4-0 mm 55), mais aux contours effacés et imprécis.

La comparaison des deux embryons néoplasiés dont l'un spontané, l'autre l'artificiel, prouve donc leur identité bien curieuse qui s'étend jusqu'aux moindres détails.

Néoplasmoïdes embryonnaires obtenus par voie expérimentale 197

L'étude des coupes sériées de notre néoplasmoïde expérimental nous apprend qu'au tableau in toto correspond ici la même identité de structure. Le »pli antérieur« était aussi composé de masse ectodermique épaissie, repliée en doublures irrégulières, et la ligne primitive portait les caractères histologiques bien typiques pour tous nos néoplasmoïdes embryonnaires. Quant à la structure de la région opérée, »l'anneau« cicatriciel se présentait comme un complexe de replis de l'ectoderme et de l'endoderme, caractéristique pour les formations d'ordre »zonal«, mais ne montrant pas de traits spéciaux. Dans quelques endroits on observe ici des épaississements de l'ectoderme, mais il serait bien risqué de leurs attribuer une nature néoplasique. Cela ne saurait nous étonner, car il est désormais évident que le vrai processus néoplasmoïde ne peut avoir lieu qu'aux dépens d'un matériel prédisposé à une prolifération particulièrement forte. Un endroit indifférent du bord de l'aire transparente ne contient évidemment pas d'éléments de cette catégorie et doit, par conséquent, être dépourvu de potentialités néoplasmogènes.

Dans tous mes néoplasmoïdes expérimentaux, comme dans ceux obtenus au cours de l'incubation normale, à côté du fait principal de l'hyperprolifération exubérante des ébauches axiales, figurées du germe, qui le transforme en si peu de temps en un amas méconnaissable, nous nous trouvons à chaque pas en présence d'un phénomène curieux: celui d'une précocité indubitable des formations sanguines. Ce n'est plus, naturellement, en comparant l'état des différenciations hématopoïétiques avec celui des linéaments du corps embryonnaire que nous arrivons à nous en rendre compte, car ce corps lui-même paraît ne jouer plus aucun rôle comme facteur dirigeant le cours évolutif général du blastoderme, mais en prenant pour point de départ la durée de l'incubation. Or, il est tout à fait surprenant de constater chez un germe de 24 heures un développement intense d'îlots sanguins, parfois même s'anastomosant en un réseau plus ou moins régulier. Ces îlots précoces accusent souvent une tendance bien nette à pénétrer à l'intérieur de l'aire transparente, comme s'ils se préparaient à l'invasion de ce territoire inaccoutumé. Et c'est ici que le tableau devient d'un intérêt spécial pour le tératogéniste, car dans maintes publications se rapportant aux problèmes de l'anidie embryonnaire et de l'ectrosomie j'ai signalé ce phénomène de l'invasion vasculaire anormale dans les limites de l'aire transparente comme un processus constant, toujours lié à l'impuissance évolutive des différenciations axiales. Les îlots précoces n'envahissent qu'une aire transparente dépersonnalisée, *aream nullius*.

Il en découle toute une série d'indications bien curieuses concernant la signification biologique des néoplasmoïdes embryonnaires. En bien, le centre d'une aire transparente est occupé par une masse géante de cellules en pleine suractivité reproductrice, la quantité de matériel vivant surpasse ici de beaucoup celle d'un germe ordinaire du même âge, et malgré cela toute cette agglomération cellulaire ne joue aucun rôle en corrélation avec l'arrangement des éléments vasculaires. Une conclusion non sans valeur pour les problèmes du mécanisme du développement s'impose à ce propos: la masse néoplasiée, malgré ses dimensions et sa vitalité, a bien perdu son individualité évolutive. Le centre d'un blastoderme néoplasié est devenu une région dépersonnalisée. Le corps de l'embryon transformé en un amas »cancéreux« n'existe plus pour le reste du système embryonnaire. Il lui est devenu complètement étranger.

Il m'est, naturellement, impossible de prévoir les conclusions que tireront les Pathologistes des faits que je rapporte. Je ne sais même pas s'ils voudront les considérer comme ayant un rapport direct avec les recherches sur le cancer chez les Vertébrés adultes. Je me rends bien compte qu'il serait trop téméraire d'espérer que ces recherches d'un zoologiste pourront contribuer à élucider quelques points de ce problème si passionnant et si obscur, de ces processus dont la nature »capricieuse« et le »Lotterie-Moment« (Boveri) ont déçu tant de chercheurs. Je me borne à la description des phénomènes et à l'exposé d'une méthode expérimentale qui permet de les reproduire.

Je tiens à remercier très cordialement mes chers Collaborateurs, MM. le Dr G. Dehnel et J. Gallera, Mag. phil., qui ont bien voulu seconder de leurs jeuxes yeux, au cours d'expériences délicates, la vue faiblissante de leur vieil ami.

Varsovie, Université, Institut d'Anatomie Comparée.

198

Bullefin de l'Acad. Polonaise des Sciences 1935. Sér. B. II.









5





Explication de la planche 7.

1. Aire transparente d'un embryon de Poule qui avant l'incubation a subi une brûlure par la pointe d'un thermocautère. Durée de l'operation— 3 secondes. Incubation de 24 heures. Néoplasmoïde artificiel: ligne primitive transformée en un amas anormalement épaissi. Microphotographie »sans microscope«, à l'aide de l'appareil »Filoy« de Leitz. × 40.

2. Coupe transversale par la ligne primitive de la microphot. précédente. \times 250.

3. Même embryon. Une partie de la coupe transversale, montrant les détails de la »fente de nécrotisation« au milieu de la masse néoplasiée. Obj. immers. apochr. 2 mm. de Zeiss. \times 1000 env.

4. Vue *in toto* d'une ligne primitive néoplasiée de Poule. Mêmes conditions de l'expérience que pour l'embryon de la microphot. 1. \times 40.

5. Ligne primitive d'un blastoderme de Poule brûlé au centre avant l'incubation à l'aide d'une aiguille de Roux. Néoplasme artificiel. Incubation de 24 heures. $\times 40$.

6. Ligne primitive d'un blastoderme de Poule dont l'aire transparente a été exposée avant l'incubation à une brûlure au thermocautère, à travers une couche d'albumine de 2 mm. Durée de l'opération — 7 secondes. Incubation de 24 heures. La moitié antérieure de la ligne s'est transformée en un fort amas néoplasique. $\times 40$.

7. Aire transparente d'un blastoderme de Poule. Piqûre et brûlure avant l'incubation. Aiguille de Roux. Après 24 heures — ligne primitive néoplasiée, portant vers l'avant un complexe de plis ectodermiques imitant de vagues différenciations organogéniques. Vers le haut et à gauche traces de la brûlure opératoire qui a fait dévier le corps de l'embryon vers le côté droit. $\times 40$.

Bibliographie.

1. Boveri Th.: »Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren«. Jena, Fischer, 1914. — 2. Dehnel G.: »Observations sur l'embryogénie du Coq de bruyère (Lyrurus tetrix L.)«. C. R. Soc. Biol. T. XCVII, 1927. -3. Dehnel G .: »O typach rozwojowych wczesnych stadjów u ptaków«. Folia Morphologica. T. I. zesz. 1, 1929. - 4. Dehnel G.: »O zjawiskach regulacyjnych w sztucznie rozszczepionych zarodkach ptasich«. Lwów, »Kosmos«, T. LVIII, 1933. — Tur J.: »O naczalnom razwitji cesarki (Numida meleagris L.)«. Trudy Warsz. Obszcz. Jestiestw. 1901. - 6. Tur J.: »Etudes sur la corrélation embryonnaire«. Bull. de la Soc. Philomathique de Paris, 1905. - 7. Tur J.: »Une forme nouvelle d'évolution anidienne«. C. R. Acad. d. Sciences. Paris, 1907. - 8. Tur J.: »Sur l'origine des blastodermes anidiens »zonaux««. C. R. Acad. d. Sciences. Paris, 1907. - 9. Tur J.: »Sur les premiers stades du développement des vaisseaux extra-embryonnaires chez les Sauropsidés«. Archives de Zoologie expér. et génér. 1907. - 10. Tur J .: »Sur le capuchon céphalique de l'amnios chez les embryons d'Oiseaux«. C. R. Soc. Biol. T. XCV, 1926. - 11. Tur J.: »Studia teratogenetica. I. Essai

Bulletin III. B. 11. 1935.

14

200 J. Tur: Néoplasmoïdes embryonnaires obtenus etc.

a de la masse néophaite. Ob

d'une classification provisoire des anidiens embryonnaires«. Folia Morphologica. T. I, zesz. 1, 1929. — 12. Tur J.: »Un procédé de microphotographie sans microscope«. Folia Morphologica. T. III, zesz. 4. 1931. — 13. Tur J.: »Recherches sur les néoplasmoïdes embryonnaires«. Mémoires de l'Académie Polonaise d. Sc. et d. Lettres, IIIB, nr 7, 1935. — 14. Tur J.: »Sur les néoplasmoïdes dans les embryons de Lacerta ocellata Daud«. Zoologica Poloniae. T. I, 1935.

Studja nad wymoczkami z mięczaków stodkowodnych. I. – Ogólne uwagi o pierwotniakach pasorzytujących u Pulmonata. – Doświadczenia z gatunkami Heterocineta i z Chaetogaster limnaei. – Nowe wymoczki z rodziny Hypocomidae. – Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. – General remarks on Protozoan parasites of Pulmonata. – Transfer experiments with species of Heterocineta and Chaetogaster limnaei, their additional host. – Some new Hypocomid Ciliates.

Mémoire 1)

de M. J. JAROCKI,

présenté le 3 juin 1935, par M. J. Tur m. c.

(Planche 8).

1. General remarks on Protozoan parasites of Pulmonata

Those zoologists who have made a study of the parasites of molluscs cannot but have been struck by the very small number of protozoan parasites infesting fresh-water *Pulmonata*. It is on the other hand, well known that these molluscs are very commonly the intermediate hosts of numerous representatives of the *Trematoda Digenea*, and are often infested by parasitic *Nematoda*. Whilst our knowledge of the parasitic protozoa of this great group of molluscs is still undoubtedly quite fragmentary (cf. A. Pelseneer 1928, 24), yet it is already obvious that even the most common and widely distributed species of *Basommatophora Hygrophila*, which have for years been the subject of study of numerous scientists, are practically unrepresented amongst the hosts of parasitic protozoa; in particular, no parasites belonging to the *Ciliata*, which are relatively common in fresh-water and land *Prosobranchia*, have been described.

¹) Grants from the National Research Fund (Fundusz Kultury Narodowej) have aided this investigation.

14*

J. Jarocki:

Of the endoparasitic protozoa found in the Basommatophora, barely four forms have been reported, viz., Cryptobia isidorae (Fantham), from the receptaculum seminis of Bulinus tropicus (Krauss), Cryptobia limnorum (Kühn), from the same organ of Limnaea stagnalis L. and Stagnicola palustris (L.), and Coccidia, such as Pfeifferinella ellipsoides Wasielewski, infesting the liver of Coretus corneus (L.), and Barrouxia bulini Triffitt, Buckley et McDonald, from the connective tissue of the above mentioned Bulinus tropicus (Krauss). Ectoparasites, or, more strictly, symphorionts and ectocommensals are also quite rare.

H. Hoffmann, in his continuation of Simroth's »Pulmonata« (27), states that »an Pulmonaten finden sich nur ganz vereinzelt Ectoparasiten. Soviel ich feststellen konnte, sind lediglich Infusorien, Milben und Fliegen zu nennen. Von diesen tritt bei Basommatophoren nur ein Infusor auf. Stellen wir die wenigen Fälle zusammen, so ergibt sich: Infusorien - Scyphidia physarum Lachmann auf Physa fontinalis, Planorbis¹) spec. (kleine Art); Conchophthirus steenstrupi Stein auf Succinea putris«. Apart from the above-mentioned Scyphidia physarum, Scyphidia limacina Lachmann, found on the naked parts of Tropidiscus planorbis (teste O. F. Müller, A. Keiser), on other Planorbid snails (Lachmann, Margó), and also, according to Keiser, on Radix ovata (Drap.) and R. aricularia (L.), should be added. Other Peritricha (the species of Epistylis, Carchesium, Opercularia, Cothurnia, Vaginicola, Vorticella), and certain Suctoria, frequently settling on the shells of fresh-water molluscs, are of the nature of more or less fortuitous epizoonts, not exhibiting any specifity as to the choice of their hosts, and not being biologically connected with them. As to commensals, only two species of Ciliata, viz., Ancistrella choanomphali Chejsin and Ancistrina ovata Chejsin (Ancistrumidae), have been described (6, 7), living in the mantle cavity

¹) Scyphidia physarum Lachmann occurs only on Physa fontinalis (L.). The form observed on Theodoxus fluviatilis (L.), from the sea-coast near Wisby, Sweden, and included in this species by A. Quennerstedt, is most probably not identical with it. «Planorbis spec. (kleine Art)« is mentioned by Hoffmann, on the basis of a paper by Lachmann, published in 1856, in which the former Vorticella limacina O. F. Müller, found on »small species of Planorbis«, was included in the genus Scyphidia Dujardin 1841 (emend. Lachmann). Claparède and Lachmann redescribed Scyphidia physarum, differing considerably from S. limacina Lachmann, in 1858-1859.

Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. 203

of endemic Baikal-snails, *Choanomphalus* spec. Apart from these, some small *Ancistrumidae*, morphologically closely related to *Ancistrina ovata* Chejsin have been frequently observed by the present author in the mantle cavity of widely-distributed, Middle-European Planorbids¹), such as *Spiralina vortex* (L.) and *Bathyomphalus contortus* (L.), and on the body of the common lake-limpet, *Acroloxus lacustris* (L.).

On the basis of the above few examples, it may be stated that none of the protozoa mentioned are actually parasites, but should be regarded as commensals (Ancistrumidae), or as more or less specific symphorionts (Scyphidia). The first undoubted ectoparasites of fresh-water Pulmonata, actually living at the expense of their host, were the two species of Hypocomid Ciliates described by the present author (15) in 1934 — Heterocineta janickii Jarocki, infesting Physa fontinalis (L.), and H. chattoni Jarocki (Pl. 8, fig. 5–7), living on various species of Limnaeidae. The present paper contains a description of three new members of Heterocineta, parasitic on Basommatophora, viz., Heterocineta maziarskii sp. n., from Coretus corneus (L.), H. turi sp. n., from Tropidiscus planorbis (L.) and Spiralina vortex (L.), and H. siedleckii sp. n., from Acroloxus lacustris (L.).

It might, from the available data, be concluded that not only Basommatophora Hygrophila, but also terrestrial Stylommatophora are only to an insignificant extent infested by parasitic protozoa. Flagellata²) are represented by Trichomonas limacis Dujardin,

¹) I have also encountered similar forms in the species of Unio and Anodonta, and in Sphaerium rivicola and Dreissena polymorpha.

L. S. Berg (4, 1935), who is quite definitely opposed to Chejsin's (6), Gajewskaja's (11) and Wereschtschagin's (31) views as to the purely marine origin of the Baikalian *Ancistrumidae*, and of certain other Baikalian *Ciliophora*, quite correctly states that "Wir können also nichts weiter sagen, als dass Vertreter der genannten Infusoriengruppe, die bisher aus dem Meere und Brackwasser bekannt war, sich auch im Süsswasser finden«.

²) A two-page paper by P. Barabaschi is not here taken into consideration. The paper, entitled »Dei Protozoi intestinali della lumaca e una nuova *Petalomonas*« (Gazzetta osp. clin. Milano, 1909, vol. 30, No. 84, pp. 881-882) is not cited by any other author, and, apart from the title, the present author has no information as to its contents. A priori, »una nuova *Petalomonas*«, parasitic in a terrestrial slug, appears inherently improbable, since all the known species of *Petalomonas* are free-living forms.

from the intestine of Agriolimax agrestis (L.), and by some species of Cryptobia (C. helicis Leidy sp. inq., C. desertorum Kühn, C. rupestre Kühn, C. helicogenae Kühn and C. tachearum Kühn), as yet insufficiently studied, and infesting the receptaculum seminis of various Helicidae, Arionidae, Limacidae and Obeliscinae (Stenogyra). A few Amoebina, and Coccidia are found as visceral parasites, viz., Vahlkampfia succinea (Pfeiffer), living in the alimentary tract of Succinea pfeifferi Rossm., V. limax (Pfeiffer), from the intestine of Limax sp., Klossia helicina Schneider, infesting the epithelial cells of the nephridia of members of the Helicidae, Agriolimax, Vitrina elliptica (Klossia vitrina Moroff, sp. inc.), and Succinea, Isospora rara Schneider in Limax cinereoniger Wolf, and Pfeifferinella impudica Léger et Hollande, found in the liver of Limax marginatus Müller. Of the Ciliata, only one ectocommensalistic species has so far been described, viz., Myxophyllum steenstrupi (Stein), living in the mucus secreted by molluscs of the genera Succinea, Arion, Limax, Clausilia, and Helix 1), and the endoparasitic »Paraglaucoma« limacis Warren²), living in the liver of Agriolimax agrestis (L.) in S. Africa.

The question arises as to why protozoa are so sparsely represented among the parasitic fauna of *Pulmonata*. In this, as in every other attempt to elucidate the genesis of parasitism, the aid of more or less probable hypotheses has to be involved. It is the opinion of the writer that the direct causes of the paucity of parasitic protozoa in the *Pulmonata* are to be found chiefly in the complicated evolutionary history of this group of molluscs.

The adaptation to a terrestrial mode of life of the marine ancestors of the *Pulmonata*, which commenced during the Paleozoic period, depended chiefly on the gradual degeneration of the ctenidial respiratory apparatus, and on the extreme development of the epithelial glands, in particular of the calcareous-mucous

¹) It would be very desirable to carry out a closer systematic revision of the forms of *Myxophyllum*, described by the older authors for molluscs other than those belonging to the species of *Succinea*.

²) Warren E. On a ciliate protozoon inhabiting the liver of a slug. — Ann. Natal Museum, vol. 7, 1932, pp. 1—53. The generic name *Paraglaucoma* proposed by Warren has already been pre-occupied by A. Kahl in 1926 (cf. A. Kahl. Neue und wenig bekannte Formen der holotrichen und heterotrichen Ciliaten. — Arch. für Protistenkunde, vol. 55, 1926, pp. 197—438; *Paraglaucoma rostrata* gen. n. sp. n. see pp. 351—352).

glands, the hygroscopic secretion of which effectively protects the animals from dessication. According to the graphic description of A. Herfs (14): »Die Schnecken, als ursprüngliche Wassertiere, konnten den Uebergang zum Landleben nur dadurch ermöglichen, dass sie das feuchte Medium, aus dem sie herausstiegen, geradezu selbst mit ans Land nahmen«. The terrestrial mode of life, in which the respiratory function was taken over by the highly vascularised mantle cavity, was, for certain Pulmonata (Stylommatophora) a final evolutionary stage, in which they adapted themselves to the most various conditions of terrestrial life. whilst for other it was merely an episode, of longer or shorter duration. According to the majority of biologists, a considerable proportion of the primeval Pulmonata, returned, after a protracted sojourn on land, to an aquatic mode of life, inhabiting inland fresh-water reservoirs 1). One of the most convincing pieces of evidence in favour of this transmigration is the presence in Hygrophila of subepithelial glands, distinguishing these molluscs²) from the fresh-water Prosobranchia, possessing ordinary epithelial glands. According to Herfs (14): »Gerade im Vergleich zu Paludina ist es interessant festzustellen, dass die Süsswasserpulmonaten auffalenderweise keine epithelialen Drüsen besitzen, obwohl ihre Lebensweise im allgemeinen doch mit Paludina übereinstimmt. Diese Tatsache ist so zu erklären, dass die Süsswasserpulmonaten ursprünglich Landbewohner waren. Da aber die landlebenden Schnecken so oberflächlich gelegene Drüsen, wie epitheliale Becherzellen, ohne besondere Schutzvorrichtung wie Operculum usw. allzustarker Verdunstung und Austrocknung ausgesetzt wären, so werden die Drüsen in die Tiefe verlagert; aus epithelialen werden subepitheliale Drüsen«.

A second weighthy argument in favour of the secondary ecological character of the *Hygrophila* is to be found in certain peculiarities of the nitrogen catabolism of these molluscs. Needham's recent researches (22, 1935) have shown that the uricotelic type of metabolism, as deduced from the high uric acid content of

¹) Simroth (26, 1908) supposes that this took place as a result of the increasing aridity of the land.

²) According to Rotarides (1933, 25, l. c. p. 40), »Stylommatophoren und Basommatophoren lassen sich auf Grund der Drüsen nicht scharf abtrennen«.

the nephridia or of the whole body, is in molluscs associated with adaptation to a terrestrial mode of life. Correspondingly, the uric acid content of the tissues of Stylommatophora is in all cases very high (mean value 8.75 mg./g.), and many representatives of the Basommatophora Hygrophila also exhibit this type of metabolism. Thus the uric acid content of the nephridium of Limnaea stagnalis amounts, according to Needham, to 137 mg./g., i. e., little less than is found in that of the terrestrial Helix aspersa (153 mg./g.). In Coretus corneus, however, less uric acid is found than in land snails, whilst in Limnaea peregra and Ancylus fluviatilis the average body content is only 0.41 mg./g. According to Needham, the lower uric acid content of certain Hugrophila »may be associated with this view, for as it is a pulmonate it must have entered the fresh waters by an overland route, and yet ist completely aquatic limpet-like morphology must indicate a very long stay in fresh-water, long enough for it to diverge so widely from its nearest ally Planorbis«.

Basommatophora probably appeared during the Jurassic period; at least, species of Hygrophila of the genera Planorbis, Limnaea, and Physa are found in the Upper Jura. Beginning with the Paleocene, an extremely intensive development of the whole of this group commenced, and continued throughout the Tertiary. During the Pleistocene this group became much the same as at the present day.

It is obvious that such radical changes in the environment and mode of life of these molluscs must have exerted a profound influence on the ralations between the parasites and their hosts. even though the changes took place very gradually, over exceedingly great periods of time. With the moment that they abandoned the sea as their primary environment, and with their gradual adaptation to a terrestrial existence, the early Pulmonata must have progressively lost their parasites of marine origin; in particular, this applies to ectoparasites, which are very sensitive to changes in their environment. Only very few ectocommensals were able exceptionally to adapt themselves to life in the viscid, slimy secretion of the skin of hygrophilic land snails. The disappearance of the ctenidium must have led to the extinction of any branchial parasites which may have been present and which were not capable of existence in the air-filled mantle cavity. The passage of parasitic protozoa from one host to another, which was readily

Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. 207

effected in an aqueous medium, became extremely difficult under terrestrial conditions. Since under conditions of terrestrial life molluscs rarely occur in large aggregations, the possibility of direct transmission is comparatively limited. In some cases, infection is possible only in certain definite circumstances. Thus, for example, the passage of species of Cryptobia from one individual to another takes place only during the sexual act. Infestation of the alimentary tract by means of protozoan cysts consumed with the food is also in many cases difficult, since the food of the majority of terrestrial Pulmonata consists of fresh plant material. Moreover, peroral infestation is in many species impossible during the periods of hibernation or aestivation. Thus the abandonment of an aquatic mode of life was undoubtedly one of the most important causes of the extinction of the original parasites of land molluscs; in particular of the ectoparasites ¹). The transmigration of the ancestors of the recent Hygrophila to fresh-water did not to any great extent lead to the acquisition of new protozoan parasites, in spite of the fact that the majority of these molluscs live in stagnant water, i. e., that they live in an environment exceptionally favourable for the infestations, and that the transmigration took place in the remote Mesozoic period.

As to why protozoa occupy such a subsidiary place amongst the parasitic fauna of the fresh-water *Pulmonata*, whilst the dige-

1) We know from Hegner's work (13, 1932) that certain Anura are infected with Opalinid ciliates only in the larval stage, whilst the adult individuals, which leave the water, are free of infection. Similarly, all those Anura the larvae of which do not undergo metamorphosis in the water are free of opalinas (Metcalf). A very interesting example of the direct influence of change of environment of parasitic protozoa is given by Hegner (12, 1929). The N. American Crimson-spotted newt, Diemictylus viridescens, can, under natural conditions, be infected simultaneously with the trypanosome Trypanosoma diemictyli Tobey, living in the blood, and with certain flagellates parasitic in the intestine. The intestinal flagellates are transmitted directly from one individual to another by the agency of cysts evacuated with the feces, and ingested with the food. The trypanosomes are most probably transmitted by leeches. The newts pass part of their life in the water, and then on the land. The trypanosomes gradually disappear from individuals living on the land, as a result of the impossibility of the renewal of the infection, caused by the absence on land of the transmitting agent. Infestation by the intestinal flagellates remains unchanged, since the newts continue to consume the cysts with their food.

netic trematodes so extensively make use of these same molluscs as their intermediate hosts, it is difficult to advance any explanation based on more certain grounds than pure speculation. Thus it might, for example, be assumed that the absence of intestinal parasites in the Pulmonata is ascribable to the natural immunity of the alimentary tract, conditioned by the specific properties of the digestive juices. It is also possible that the paucity of endoparasitic protozoa is due to chronic trematode infection, and that the metabolic products of these parasites exert a toxic or cytolytic action on other parasites. It is not, in this connection, impossible that long-continued and repeated infestation with larval trematodes might ultimately lead to the complete extinction of the original parasitic protozoa, or might create a state of acquired and inherited immunity¹). All such attempts at explaining the conditions found must, however, be considered as being premature, and impossible to prove, the more so that even the problem of how the complicated developmental cycles of the trematodes, involving molluscs as intermediate hosts, arose, remains to the present day unsolved.

Whilst discussing these questions, it might be added that, if the views of certain authors be accepted (F. C. Baker, 3; Thiele, 30), the fresh-water *Basommatophora* are descended from marine forms which migrated via brackish water to rivers and other inland fresh-water reservoirs²), the paucity of protozoan

¹) Acquired immunity of the host to parasitic protozoa occurs, as is known, after recovery from malaria and Leishmaniosis furunculosa, as well as by infections due to piroplasms (*Thetleria, Babesia*), coccidians and trypanosomes (*Trypanosoma lewisi*). Molluscs infested with trematodes sometimes develop a certain degree of immunity which renders superinfection impossible. Winfield's (32, 1932) studies, confirmed by Nolf and Cort (23, 1933), showed that *Limnaea stagnalis apressa* Say and *L. stagnalis perampla* Walker, when infested with sporocysts of the trematode *Cotylurus flabelliformis* Faust, acquire a considerable degree of immunity against renewed penetration of cercariae of the same species. According to Winfield (l. c. p. 133), »Undoubtedly this immunity plays an important part in the survival of snails harboring infestations of this trematode since it tends to prevent them from being attacked and overhelmed by the great numbers of cercariae which escape«.

²) »Ein Übergang aus dem Brackwasser in die Flüsse ist leicht geschehen, und so können auch unter den Bewohnern des Süsswassers sehr primitive Púlmonaten vorkommen, wie es die Chiliniden sind... Diese südamerikanische Gruppe ist im ganzen die primitivste unter den im Süsswasser lebenden Lungenschnecken, die Form der Radulaplatten dürfte freilich weniger ursprünglich sein als bei Lymnaeiden, die ihnen nahestehen«. (Thiele 30, l. c. p. 1100).

Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. 209

parasites infesting these ancient fresh-water molluscs becomes quite incomprehensible. This is the more so, if it be considered that the fresh-water Prosobranchia and Bivalvia, which undoubtedly penetrated at various epochs from the sea to fresh-water 1), have retained a considerable parasitic protozoan fauna²).

As to the ciliates of the family of Hypocomidae, it must, on the basis of the foregoing considerations, be accepted that the ectoparasitic species of Heterocineta occurring on the Hygrophila are most probably secondary parasitic elements, derived from forms which originally infested the fresh-water Prosobranchia and Bivalvia. It

1) Needham's (22, 1935) somewhat improbable, though not impossible. supposition that certain freshwater Prosobranchia, e. g., Viviparus and Bithynia, similarly to the Basommatophora Hygrophila transfered from seato fresh-water life through an intermediate, transitory, terrestrial or semiterrestrial stage. The establishment of a comparatively high uric acid content in these operculate molluscs, as contrasted with Hydrobia jenkinsi, and of the same order as found in the fresh-water pulmonates, might possibly possess some other interpretation, and the same applies to the unexpectedly high uric acid content of the marine Pectinidae. A study of the anatomy of the cutaneous glands does not throw any further light on the question, since those of the terrestrial *Pomatias elegans*, studied by Herfs (14, 1922). have the same epithelial character as in aquatic Viviparus. It is, however, interesting thus, according to Thiele (30, l. c. p. 1088), »Bouvier glaubt, dass den Hydrobiiden die landbewohnenden Acmiden so nahe verwandt sind, dass man jene als wasserbewohnende Acmiden bezeichnen kann«.

²) The survival of parasites of marine origin in fresh-water is obviously possible only in those cases in which the penetration of the host to inland waters took place very gradually, over very long periods of time; differences not only in the concentration of the solutes, but also in the nature of the salts present in fresh- and sea-water are of importance in this connexion. If the host is able very rapidly to transfer from salt- to fresh-water (e.g., the salmon, which travels up to 40 km daily), the entire parasitic fauna is doomed to extermination; this has been observed in such fish as undertake anadromal (Acipenser, Coregonus, Salmo) or catadromal (Anguilla) migrations. Dogiel and Petruschewsky's (9, 1933) recent observations showed, for example, that, in the salmon (Salmo salar), practically all the parasites of marine origin die out during the sojourn of the adult fish in rivers. The ectoparasites are the first to disappear, then the intestinal ones, whilst the most resistent are coelomic parasites. Conversely, parasites acquired in fresh-water die out when the young salmon reach the sea. It should, however, be remembered that the colonisation of inland waters by marine organisms must have been somewhat easier in past geological epochs than at present, in view of the lower concentration of salts in the water of primeval seas (Mcallum 20, Arldt 1 and 2, J. Murray).

should, however, be emphasised that certain of these recent ciliates may have originated directly from species which at one time were parasitic on now extinct representatives of the *Hygrophila*.

2. The location of the Hypocomid ciliates on their hosts

The Hypocomidae are only exceptionally encountered unattached to their host i. e., swimming in its vicinity, or creeping on its body. Normally, the ciliates are permanently attached by means of their suctorial tentacle to the skin or gills of their molluscan host, in such a way that the long axis of their body is directed more or less obliquely, often almost perpendicular, to the surface of attachment. The parasites remain for hours in the same location, changing it for a different one probably only after the exhaustion of the food supply at the given spot. The suctorial tentacle, which at the same time serves as a powerful attachment organ, makes possible the existence of the parasites on the ciliated surfaces of the branchial laminae, or filaments, and on the parts of the surface of the body covered with ciliated epithelium. The energetic action of the delicate, though powerful cilia gives rise to strong currents and eddies, which constitute a resistance not readily to be overcome, especially for ciliates possessing so reduced a ciliary system as is the case with the Hypocomidae. The force exerted by these water-currents on the attached parasites is shown clearly by the rhytmic vibrations of their whole body, of a purely passive character. It should be remembered, too, that the activity of the external ciliated epithelium of the molluscs becomes even more intense during locomotion.

Observation of the ectoparasitic species of *Heterocineta*, attached to the tentacles, cephalic lobes, margins of the foot, etc., of their hosts, indicates that the ciliates, both when attached singly, or in larger aggregations, are almost always oriented in a certain well defined direction. This is most clearly evident on the tentacles, which are the favourite places of attachment, and on which the parasites are to be found, attached one after another, or side by side, in such a manner that the posterior end of their bodies is directed towards the head of the mollusc, whilst the fore end, with the suctorial tentacle plunged into the epithelium, is directed towards the tip of the tentacle. All the parasites on a given tentacle are similarly attached.

Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. 211

This type of orientation in one direction of the ciliates, in which their bodies assume a position in which they can feed with the least difficulty, is due to the mechanical action of the stream of water flowing from the apex of the tentacles to their insertion ¹). Identical conditions are found in the *Hypocomidae* infesting the gills of the *Prosobranchia*. Since, however, the current caused by the cilia of the branchial filaments flows from their base to the summit, the ciliates are directed with their hind ends towards the summit, and not towards the base of the filaments, i. e., in the opposite direction to that observed on the tentacles or other external parts of the body of the molluscs.

With the exception of the suctorial tentacle, the *Hypocomidae* do not possess any special morphological arrangements serving for overcoming the strength of the current. The ventral surface of an attached individual is in no place in contact with the epithelium of the host, and the cilia of the thigmotactic area do not contribute towards the maintenance of a more intimate contact with the body of the host. In those parts of the body of the host in which the motor action of the ciliated epithelium is less vigorous, or where this epithelium is more feebly developed (cf. Merton 1923, 21), the parasites exhibit no particular regularities in their distribution or location. This applies also to the species of *Heterocineta* settling on the body of their additional host, *Chaetogaster limnaei*.

3. Chaetogaster limnaei as an additional host of species of Heterocineta

It was mentioned in a previous paper (Jarocki 15, 1934) that *Heterocineta janickii* Jarocki and *Heterocineta krzysiki* Jarocki do not confine themselves to the bodies of their natural hosts, *Physa fontinalis* (L.) or *Bithynia tentaculata* (L.), but can

¹) A similar unidirectional orientation is encountered in *Cothurnia rheotypica* Stiller, occurring on *Canthocamptus* spec. All the individuals of this Peritrichan species, attached by means of arcuately curved stalks to the abdominal segments of the crustacean, have the opening of their lorica, and the ring of the adoral cilia directed towards the caudal end of their host. »Die Tierchen weisen die rheotypische Form der stromaufwärts schwimmenden Tiere auf. Die Strömung ersetzt hier die schnelle Bewegung des *Canthocamptus*«. (Stiler 28, l. c. p. 197).

also exist as regular parasites of the oligochaete Chaetogaster limnaei K. v. Baer, a common symphoriont of fresh-water molluscs. Further observations, performed in 1934, showed that Heterocineta chattoni Jarocki, H. siedleckii sp. n., and H. maziarskii sp. n. are able also to conduct a regular parasitic existence on Chaetogaster limnaei; these ciliates can, after settling on this annelid not only live indefinitely on its surface, but also retain their faculty of conjugation and of division. It is not impossible that other species of Heterocineta, such as, for example, Heterocineta lwoffi Jarocki (Pl. 8, fig. 1-3) and H. turi sp. n., possess the same capabilities.

The liability of *Chaetogaster limnaei* to infestation by different species of *Heterocineta* is most probably not uniform. Thus, whilst *Heterocineta chattoni* Jarocki and *H. maziarskii* sp. n. are encountered only sporadically on this worm, *Heterocineta krzysiki* Jarocki, *H. siedleckii* sp. n., and in particular *H. janickii* Jarocki, are found more or less regularly. *Heterocineta janickii* very often infests all the oligochaetes present in the mantle cavity of *Physa fontinalis*, the number of infested individuals not infrequently exceeding fifty, whilst the number of parasites on each worm may amount to 20—30. The oligochaetes of *Acroloxus lacustris* are infested to a corresponding extent by *Heterocineta siedleckii*.

The readiness with which the additional host undergoes infestation is illustrated by the following experiment performed on *Heterocineta janickii*. A few intensely infested individuals of *Physa fontinalis*, not containing oligochaetes were selected and 10 individuals of *Chaetogaster limnaei* taken from *Limnaea stagnalis*, and free from infestation, were introduced into the mantle cavity of each snail. Two days later, the oligochaetes were all, without exception, strongly infested by ciliates. Further experiments showed that all the worms are infested two hours after introduction, and that the parasites begin to settle on the oligochaetes much sooner than might be supposed, viz., within a few minutes of their introduction into the mantle cavity. Identical results were obtained when uninfested oligochaetes were introduced into water containing the free-swimming parasites.

Attempts at infecting the molluscan hosts by the agency of intensely infested oligochaetes were in every case succesful, although the time elapsing before infestation took place was considerably

Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. 1. 213

greater than in the converse case. The agency of *Chaetogaster limnaei* in introducing large numbers of parasites is undoubtedly an important factor, and leads to a more rapid and complete infestation of the molluscs than would be the case in ordinary infection, achieved by individual, free-swimming parasites. Since the active oligochaetes readily pass from one molluscan host to another, carrying the parasites with them, they can, under natural conditions, constitute a factor facilitating the infection of noninfested snails.

The impartiality with which different species of *Heterocineta* select the same additional host is the more striking if it be considered that each species exhibits complete specifity in the selection of its molluscan host. None of the representatives of *Heterocineta* are able to infest a different species of mollusc, other than their specific host; neither can they, under experimental conditions, be permanently transfered to other hosts. It is, therefore, peculiar that the rôle of additional host for several species of ciliates which are par excellence molluscan parasites, showed be filled by the oligochaete, which represents a zoological group systematically far removed from the molluscs, and in which natural Hypocomid infection has not up to the present been recorded.

The possibility of the development of this type of secondary parasitism can, in the opinion of the writer, be interpreted as follows. The different species of Heterocineta gradually, and independently of each other, acquired the faculty of complete adaptation to living on Chaetogaster limnaei, as a result of direct, constant contact with this common inhabitant of the mantle cavity of molluscs. The ability of the ciliates of living on this oligochaete cannot be ascribed to the existence of different strains of Chaetogaster limnaei, adapted to the different species of molluscs, and therefore particular liable to infestation by the obligatory parasite of the given mollusc. Chaetogaster limnaei is not a parasite, connected biologically with any definite mollusc, but is merely a harmless inhabitant, which readily transfers from one molluscan host to another, and may even be encountered in the branchial cavity of fresh-water crayfish; it makes use of the most widely different groups of molluscs as a place of refuge, and as a vehicle of locomotion. It is hence somewhat unlikely that more permanent or considerable biochemical modifications

could have taken place in this oligochaete under the influence of the slime secreted by each particular species of mollusc, or as a result of occasional ingestion of the sloughed-off epithelial cells of its host.

Chaetogaster limnaei, when infested with a given species of Heterocineta, retains its parasites after leaving the mantle cavity of a given host, and after transference to species of molluscs which are not proper hosts for the given ciliate. Under experimental conditions, an individual of *Chaetogaster limnaei* may simultaneously be infested by various species of Heterocineta.

In view of the above, experiments were performed on the possibility of infection of some free-living species of Chaetogaster, amongst which Hypocomid infestation has never been observed under natural conditions. With this object, a few specimens of Chaetogaster diaphanus Gruithuisen or Ch. diastrophus Gruit. were introduced into a vessel containing numerous individuals of Heterocineta janickii. The ciliates in question almost immediately reacted to the presence of the oligochaetes, collecting in their vicinity, and finally attaching themselves to any convenient part of their body. Infestation takes place very rapidly for both oligochaetes, often within a few minutes of exposure; in this respect they do not differ from Chaetogaster limnaei. In spite of this similarity, the duration of infestation is short, not exceeding 15-20 hours for either species. With time, the parasites gradually abandon the oligochaetes, sink to the bottom of the vessel, and die. This might be ascribed to the ingestion of unsuitable food, the noxious effects becoming evident only after a number of hours. Chaetogaster limnaei, when kept out of contact with Physa fontinalis, retained Heterocineta janickii during a period of nearly three weeks.

Attempts at transfering the ciliates into certain *Rhabdocoela* were unsuccessful, but it was found possible temporarily to infect *Plumatella fungosa* with *Heterocineta janickii*; the ciliates remainded attached to the tentacles of the lophophores for 4-5 hours, after which they all abandoned the bryozoan.

4. Attempts at transplantation of the parasites into molluscan species other than their natural hosts

It was, in connexion with the above experiments, of interest to verify whether, under laboratory conditions, it would be pos-
Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. 215

sible to transplant any of the species of *Heterocineta* into molluscs of species other than that of its natural host. As is known, the majority of Hypocomids are parasites specialised for existence exclusively on one species of host, only exceptionally are they able to infest two or more species of hosts, usually closely related. In view of this extreme specialisation, cross-infections are not encountered under natural conditions in spite of the fact that the majority of the hosts live together in the same reservoir of water.

In discussing the strict connexion between Physa fontinalis and its obligatory parasite Heterocineta janickii, I stated in a previous paper (15) that »I have never encountered Heterocineta janickii on any other species of molluscs, originating from the same biotope, or cultivated during long intervals of time together with numerous infested Physae«. Similar experiments were conducted with Heterocineta krzysiki Jarocki, a parasite of Bithynia tentaculata (L.). About 200 individuals of Bithynia tentaculata heavily infested with this species of *Heterocineta*, were placed in a tank containing some aquatic plants, the water being renewed from time to time. A few specimens each of Radix ovata (juv.), Physa fontinalis, Spiralina vortex, Paraspira spirorbis, and Bathyomphalus contortus, which had been found after several weeks of observations to be free from any Hypocomid infestation, were then introduced into the tank. A daily examination of these molluscs, conducted over a period of several months, showed that they remained free of infestation. All the Bithyniae, on the other hand, continued to harbour considerable numbers of Heterocineta krzysiki, which were most densely distributed on the lateral margins of the tentacles and on the skin of the head, less often on the margins of the mantle, on the anterior edge of the foot, or in the vicinity of the operculum. It follows from this observation that the free-swimming parasites avoid all molluscs other than their natural host. Identical results were obtained in the case of Heterocineta siedleckii, a parasite of Acroloxus lacustris (L.); none of the non-specific snails (Physa fontinalis, Spiralina vortex, Bathyomphalus contortus, Segmentina nitida, and Bithynia tentaculata) contracted infestation with this ciliate, alltough kept for several weeks in a small tank together with numerous specimens of Acroloxus lacustris, harbouring large numbers of Heterocineta siedleckii. Bulletin III. B. II. 1935. 15

J. Jarocki:

In one experiment a certain number of fragments of the bodies of *Physa fontinalis*, originating from individuals intensely infested with *Heterocineta janickii*, were introduced into a vessel containing non-infested specimens of *Physa fontinalis* and *Bithynia tentaculata*. The ciliates abandoned the fragments to which they had been attached, and began to swim freely in the water. Two days later, an examination of the molluscs showed that not one of the ciliates had attached itself to *Bithynia tentaculata*, whilst all the bladder snails were found to be strongly infested.

The liability to infestation of *Chaetogaster limnaei* by different species of *Heterocineta* made possible the performance of a number of experiments, in which the oligochaetes served as vectors in the transference of the infection to different molluscs. The attached Hypocomids can, after the entrance of the oligochaetes into the mantle cavity, transfer to the molluscan host; this, however, takes place only when the parasites obligatory for a given mollusc are present. Should this not be the case, either infection does not take place at all, or, should the non-specific parasites attach themselves to the epithelium of the mollusc, they do so only for a very short period of time (e. g., *Heterocineta janickii* on *Radix ovata*).

Further experiments on infestation by improper parasites depended on the introduction of large numbers of free-swimming ciliates into small vessels containing non-infested individuals of Paraspira spirorbis, Planorbis albus, Spiralina vortex, Bathyomphalus contortus, Segmentina nitida, or Valvata piscinalis. The most convenient Hypocomid material was Heterocinata janickii; intensely infested individuals of Physa fontinalis were selected, and scraps of their body were immersed in a small volume of water, and cautiously crushed with wooden spatulae, when considerable numbers of parasites could be found swimming in the water. The material so obtained constituted a convenient means of infecting the above molluscs; as is shown in the following table, the parasites only attached themselves transiently, in no case for longer than 38 hours. Certain differences in the duration of the infection are in all probability ascribable to differences in the physiological condition of the ciliates used in the various experiments.

	Mollusc studied	ciliates remained attached to the							the
					bo	dy	of	the mollusc	
1.	Paraspira spirorbis .						38	hours	
2.	Planorbis albus						38	»	
3.	Spiralina vortex						15	»	
4.	Bathyomphalus contortus						20	>	
5.	Segmentina nitida						30	>	
6.	Valvata piscinalis					•	30	>	

5. Some new Hypocomid Ciliates ¹) Heterocineta maziarskii sp. n.

The body is longitudinally ovoid, flattened dorso-ventrally, slim, practically symmetrical, and gradually tapers anteriorly, to a lesser extent posteriorly. The fore-end is flexed ventrad and slightly directed to the left. The hind end terminates more or less acutely: this is far more evident when the ciliates are viewed laterally than when from above, as a result of which the general appearance of the attached parasites is reminiscent of a slightly bent banana (Pl. 8, fig. 4). The dorsal surface is moderately convex. The shallow thigmotactic depression occupies the fore half of the ventral surface. The body is widest at about its middle point. The base of the suctorial tentacle is obtusely conical. The diameter of the aperture of the tentacle, and of the distal, widest portion of the internal canal²), amounts to about 3 µ. The internal canal proceeds at first towards the dorsal surface, then obliquely towards the right flank of the ciliate, its diameter diminishing progressively, and, beginning with half the length of the body, runs along the right side in the direction of the summit of the posterior pole, and of the terminal food vacuoles. Delicate, highly refractive lamellar bodies, analysed with difficulty, are to be found at the hind end of the body, behind the macronucleus.

¹) For drawings illustrating the *Hypocomidae* here described the reader is referred to a subsequent paper.

²) According to Raabe (Annal. Mus. Zool. Polon., vol. X, 1934), both in *Hypocomella macomae* Chatton et Lwoff and in *»Hypocomina« carinata* Raabe, *»Hinter dem Rüssel lässt sich im Plasma eine hellere Zone bemer*ken...« This is an artefact, arising as a result of the hyperdistension of the anterior section of the internal tubular canal, leading from the suctorial tentacle, due to the unequal infiltration of the fixing fluid, or as a result of its action on moribund, partly plasmolysed individuals.

15*

217

The ciliated area¹) has an oval contour, and is practically symmetrical, more so in the case of smaller individuals, and less so when immediately before division. The area is $6-10 \mu$ in breadth, and occupies $\frac{2}{3}$ to $\frac{3}{5}$ of the length of the ventral surface; it consists of 8 unequally long rows of cilia, arranged meridionally, the marginal rows encroaching on the sides of the body. The long first row, which arcuately bounds the right side of the ciliary system, terminates more or less at the level of the distal end of the opposite seventh row (less often the eighth), thus giving rise to the relative symmetry of the ciliary field. Rows 2 and 3, also flexed to the right, are correspondingly shorter, row 3 being usually little longer than the parallel rows 4 and 5, which are the shortest in the system. Rows 6 and 7, which curve to the left, are of increasingly greater length. Row 8, which arcuately delimits the area on the left, gives the impression of being longer than row 7, since its proximal end is somewhat further below the base of the tentacle than is that of the preceding row. The thigmotactic area is of more symmetrical form in smaller than in larger individuals, and the length of marginal rows does not greatly exceed that of the central ones. Often the 1 st and 2 nd, or 3 rd and 5 th rows are of practically equal length, or the 3 rd and 4th rows are sometimes the shortest. Rows 1 and 2 commence on the right side of the base of the tentacle, 3-7 below the base, and 8 at a certain distance from it. The intervals between the rows are practically equal, and amount to $1.3 - 1.5 \mu$. The basal granules are closely packed, immediately one after the other. The cilia are about 7μ in length.

The contractile vacuole is placed centrally or slightly eccentrally, at about the middle of the body, usually immediately in front of the macronucleus. The position of the vacuole is to a certain extent correlated with the degree of development of the central ciliary rows; the shorter are these rows, the more anteriorly is situated the vacuole, and vice versa. The contractile vacuole opens on the ventral surface, as is well evident during systole;

¹) In all the descriptions of the ciliated ventral area the numeration of the successive rows commences from the right, the first right marginal row being designated row 1. This numeration is entirely provisional, and in no way prejudices the question of the homology of the individual ciliary rows in different Hypocomid species or genera.

no special, definite pore can, however, be distinguished, even in preparations impregnated with silver.

The oval, rod-like, fusiform, or occasionally almost spherical macronucleus $(6-16 \mu \times 3-4.5 \mu)$, often curved arcuately, lies more or less at the centre of the body, and is placed dorsally and obliquely (from left to right) with relation to the chief axis of the body. The spherical (in the interphase) micronucleus, about 3μ in diam., is close to the macronucleus, somewhat in front of it.

The spherical or ovoid food vacuoles (1 to 3) are at the extreme posterior end of the body. The largest vacuole is, however, often placed more anteriorly, sometimes being next to the macronucleus. Refractile granules of fat, chiefly very minute, are grouped peripherally, being particularly numerous at the hind end of the body.

The length of the body is $26-38 \mu$, breadth $13-16 \mu$, thickness $10-11 \mu$.

The host snails were collected in the vicinity of Warsaw.

The parasite infests the uncovered parts of the body of Coretus corneus (L.), in particular the tentacles. They are not frequently encountered, and hardly ever occur in larger numbers. Young individuals of Coretus are most often infested, the fully adults ones being as a rule free from parasites. In cases of intense infestation, the ciliates settle not only on the tentacles, but also on the head, on the whole of the anterior part of the body, and on the edges of the foot and the margin of the mantle. The ciliates are so firmly attached to the epithelial cells that the use of relatively considerable force is required to separate them. When separated from its host, Heterocineta maziarskii swims rather rapidly, tracing vide circles with its fore end, and smaller ones with its hind end. The rotatory motion takes place indifferently from left to right, or vice versa. During translational motion, the ventral depression is constantly directed towards the interior of the spirals traced. Occasionally the ciliates swim with their ventral surface uppermost, when they move in a series of violent jerks, alternatively to the right and left, of the fore end of the body. In the case of conjugated pairs, only one partner actively assists in locomotion, the other behaving passively.

Heterocineta maziarskii sp. n. differs from other congeners possessing 8 rows of cilia (Heterocineta janickii, H. hvoffi) in its

219

more symmetrical contour, in the almost complete symmetry of its ciliary system, the general character of which is most closely reminiscent of that of *Heterocineta anodontae* Mawrodiadi, and in the very characteristic attenuation of the hind end of the body, which at once distinguishes this species, even under low magnification. It is named in honour of the eminent histologist, Dr. Stanisław Maziarski, Professor of Histology, and Rector Magnificus of the Jagellonian University of Cracow.

Heterocineta turi sp. n.

The body is sub-ovoid, asymmetrical, fairly stout, flattened dorso-ventrally, tapering anteriorly, and uniformly rounded posteriorly. Viewed laterally, it has a slightly flexed, piriform contour. The tapering fore end is flexed ventrad, with the extremity slightly directed to the left. The base of the sucking tentacle is conical. The left side of the body is somewhat more convex than the right one. The greatest breadth is at somewhat more than halfway from the fore-to the hind-end, which is distended, oval in cross-section. The thigmotactic depression is short and narrow $(6-7\mu)$, but relatively deep; it occupies less than half of the ventral surface.

The ciliary system is asymmetrical, and consists of 7 meridionally directed rows (rows 1-3 are slightly curved to the right, 4 is straight, and 5-7 are curved to the left). Rows 1-4 are very short. The three longest rows, 5-7 are of practically equal length, extend barely to half the length of the ventral surface, and terminate at very nearly the same level. The proximal ends of rows 6 and 7 do not attain the base of the tentacle.

The contractile vacuole is located centrally in the anterior $^{1}/_{3}$ of the body, being equidistant from the dorsal and ventral surfaces. The straight or curved macronucleus $(6-16 \,\mu \times 3-6 \,\mu)$ is placed dorsally, and practically at right angles to the long axis of the ciliate. The spherical micronucleus $(3-4 \,\mu$ in diam.) is situated somewhat anteriorly to the macronucleus.

Dimensions of body: length $22-32 \mu$, breadth $15-16 \mu$, thickness $10-12 \mu$.

The parasite infests the tentacles and the margins of the mantle of *Tropidiscus planorbis* (L.) and *Spiralina vortex* (L.). It is encountered relatively infrequently, and infested snails can be found

often only after long search; the ciliates are never found in large numbers. The molluscan material was collected in the vicinity of Warsaw.

Morphologically, this species is most closely related to Heterocineta janickii Jarocki from Physa fontinalis. The most outstanding differences are as follows: 7 rows of cilia, in place of 8 in Heterocineta janickii, rows 1-4 being shorter in Heterocineta turi than are the corresponding rows of H. janickii, and rows 5-7 terminate usually at the same level, whilst those of H. janickii are the longer the more peripherically they are situated. The contractile vacuole is located more anteriorly than is that of H. janickii, and the macronucleus is more transversely placed than in other species of *Heterocineta*. The body is stouter and more distended posteriorly. Heterocineta turi sp. n. differs from Heterocineta chattoni Jarocki which also possesses 7 rows of cilia, in its general appearence, in the different configuration of the ciliary system, in the considerably shorter extent of the whole thigmotactic area, and in the different position of the macronucleus and the contractile vacuole. It swims more slowly and less agitatedly than Heterocineta janickii.

I have the pleasure to name this species in honour of Dr. Jan Tur, Professor of Comparative Anatomy and Embryology of the University of Warsaw.

Heterocineta siedleckii sp. n.

The body is sub-ovoid, asymmetrical, flattened dorso-ventrally, and curved arcuately when viewed in profile. It tapers anteriorly, with a conical summit flexed ventrad and slightly to the left. The left side of the body is considerably more convex than the right side. The body is obtusely rounded posteriorly. The ventral thigmotactic depression $(9-10\,\mu$ wide) occupies about half the length of the body. The asymmetric ciliary system consists of 9 unequally long meridional rows (rows 1-3 slightly curved to the right, 4 and 5 almost parallel, 6-9 curved to the left), at a distance of $1-1.2\,\mu$ from each other. Row 1 is the longest one of the right-hand side of the system; its distal end is more or less at the same level as the termination of row 7 (this row is already distinguished in the daughter organism during division by its greater length). Rows 2 and 3 are increasingly shorter, 4 and 5,

of equal length, are the shortest of the whole system, whilst 6-9 are progressively longer. Rows 1-7 occupy not more than a half of the ventral surface (often a third, or even a quarter), whilst rows 8 and 9 may extend to $\frac{3}{4}$ of the length of the body, altough they often barely exceed the mid-line. The distal ends of rows 8 and 9, inflexed towards the centre of the ventral surface, barely surpass the termination of row 6, as a result of which the central part of the thigmotactic area is not bounded posteriorly by the rows in question. Rows 1 and 2 commence on the right side of the base of the sucking tentacle, somewhat more anteriorly than the remaining ones. Rows 8 and 9 arise below and to the left of the base of the tentacle, and the remaining rows at the same level on the ventral surface. The length of the cilia amounts in the anterior part of the system to about 3μ , and in the posterior to 9 µ. The tubular canal leading from the tentacle to the interior of the body is distally funnel-shaped (diam. about 2.5μ), and proceeds obliquely and ventrodorsally from the left to the right, becoming gradually narrower, and running along the right side to the rear of the body.

The ventral contractile vacuole, displaced somewhat to the right of the chief axis, is situated slightly above the mid-point. Rows 1-3 delimit the vacuole on the right, 7-9 on the left, and 4-6 anteriorly. The pore of the vacuole is located on the ventral surface.

The rod-like, fusiform, lentiform, or ovoid macronucleus $(12-18 \,\mu \times 4.5-7 \,\mu)$ usually curved arcuately, is situated dorsally or obliquely dorsoventrally at the centre of the body. The spherical micronucleus, $3-3.4 \,\mu$ in diam., lies somewhat anterior to the macronucleus. One or two terminal food vacuoles, comparatively very large (up to $7 \,\mu$ diam.), and extending often as far as to the macronucleus, may be distinguished. Numerous refractive drops of fat are distributed peripherally in the endoplasm, being particularly abundant in the posterior parts of the body, and in the vicinity of the macronucleus.

The length of the body is $27-35 \mu$, breadth $15-15 \mu$, and thicknes $10-12 \mu$.

Heterocineta siedleckii sp. n. is an obligatory parasite of Acroloxus lacustris (L.), settling on the tentacles, on the skin of the head, and of the flanks, on the margins of the foot, and on the

pseudobranchium. It also commonly infests the oligochaetes Chaetogaster limnaei found in Acroloxus lacustris. Numerous Acroloxus lacustris were obtained from Wilanów near Warsaw.

The stouter body, and the considerably smaller length of the thigmotactic ciliary system distinguish this species from *Heterocineta krzysiki* Jarocki, which also possesses 9 rows of cilia. The long rows of the left side of the system do not, in *Heterocineta siedleckii*, ever reach so far posteriorly as in the case of *Heterocineta krzysiki* (up to $\frac{4}{5}$ of the length of the ventral surface). Apart from this, the 9th row arises in *Heterocineta siedleckii* immediately below the base of the sucking tentacle, whilst in *H. krzysiki* it commences at a certain distance from the base. The dimensions of the body are also somewhat smaller (*Heterocineta krzysiki* may attain 46μ in length).

I dedicate this species to Dr. Michał Siedlecki, Professor of Zoology of the Jagellonian University of Cracow, well known from his classic researches upon the life-cycle of *Coccidia* and *Gregarinida*.

Enerthecoma properans gen. n., sp. n.

Body symmetrical, lanceolate, flattened dorso-ventrally, tapered sharply anteriorly, and arcuately curved when viewed laterally. The posterior pole is rounded, or terminally somewhat pointed. The body is the widest at a level of about $^2/_3$ of its length. The general shape is somewhat variable, as long and slender individuals are encountered side by side with short, broad ones. The fore end of the body, which terminates in the sucking tentacle, is flexed ventrad and slightly directed to the left. The internal tubular canal leads from the tentacle to the dorsal surface of the ciliate, whence it passes obliquely to the right side of the body, is about $12-15 \mu$ in length and about 3μ in diameter; the more proximal part becomes progressively narrower, and proceeds along the right side of the ciliate to the extreme end of the body.

The ciliary system consists of 8 (exceptionally of 7) practically parallel rows of cilia, forming a longitudinally oval, rather narrow thigmotactic area occupying about 2/3 of the length of the ventral surface. The middle of the thigmotactic area is somewhat higher than the lateral parts, forming an inconsiderable eminence stret-

ching from the base of the tentacle to the end of the system This eminence divides the ciliary system into two ventrolateral complexes, a right and a left one. The right one consists of 5 (exceptionally of 4) rows, $1-1.5 \mu$ distant from each other, whilst the left one consists of 3 rows, usually closer to each other (0.5-- 0.7μ). As a rule, the rows are of equal length, but occasionally the peripheral rows are longer than the central ones. Rows 1 and 2 of the right-hand complex commence to the right, rows 7 and 8 (i. e., the two marginal ones) of the left-hand complex to the left, and the remaining ones ventrally to the base of the tentacle. The proximal ends of all the rows are at the same level. The basal granules of the cilia are placed so closely as to be practically in contact with each other. The cilia of the anterior part of the system move very actively, those of the posterior part sluggishly.

The ventrally situated contractile vacuole is placed centrally in the hind part of the body, over the distal ends of the central ciliary rows. Its position varies with the limits of the thigmotactic system; when this is shorter, the vacuole lies more anteriorly. The pore of the vacuole lies on the ventral surface. The protoplasm contains numerous globules of fat, staining with Sudan III.

The rod-like or ovoid macronucleus $(8-22 \mu \times 5-7 \mu)$ is placed dorsally, in the middle of the body. Its chief axis is directed obliquely (from left to right) to the long axis of the ciliate. The spherical micronucleus, about 3μ in diam., is located somewhat in front of the macronucleus. Division subtransversal, equal. Conjugation takes place by union between the terminal poles of two individuals.

Dimensions of body: length $33-60 \mu$, breadth $15-22 \mu$, thickness $10-13 \mu$.

The parasite infests the ctenidial filaments of *Viviparus fasciatus* Müller, and occurs in great abundance. The infested river-snails were taken from the Vistula in the vicinity of Warsaw. When attached, the ciliates exhibit a passive vibratory motion due to the powerful movements of the cilia of the ctenidial epithelium, but also from time to time execute characteristic movements, in which the body is alternatively horizontal and perpendicular to the epithelium of the gill. When separated from the ctenidial filament, *Enerthecoma properans* swims energetically and fairly rapidly.

Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I.

The genus Enerthecoma differs from the various species of Heterocineta in the following respects: 1. the division of the ciliary area into two parallel fields, separated by an elongated eminence occupying the centre of the area, 2. the commencement of all the ciliary rows high up on the base of the sucking tentacle, 3. the practically equal length of the ciliary rows, 4. the practically complete symmetry of the whole ciliary system, 5. the displacement of the contractile vacuole to the rear, as a result of the equal development of all the ciliary rows, and 6. the symmetrical, lanceolate shape of the body. Enerthecoma properans differs from the genus Hypocomina Chatton et Lwoff [type: Hypocomina patellarum (Lichtenstein)] chiefly in that the elongated eminence dividing the thigmotactic area into two complexes does not form a definite ridge (»carène« of French authors), the whole ciliary area not lying in a deep concavity of the profile of the ventral surface, but occupying two gently sloping surfaces, placed ventrolaterally, and meeting in the above-mentioned elongated prominence.

Heterocinetopsis reichenowi gen. n., spec. n.

The elongated, cylindroidal body is anteriorly somewhat tapered, terminating in the short, conical, ill-defined base of the sucking tentacle, directed slightly to the left. The fore-part of the body is strongly flexed ventrad. Posteriorly, the body narrows slightly, and is usually obtusely rounded. The anterior part of the ventral surface, commencing with the base of the tentacle, is occupied by the broad, relatively shallow thigmotactic depression, which does not extend further than half the length of the body. The internal tubular canal, leading from the sucking tentacle, runs a similar course to that found in the representatives of Heterocineta, and in Enerthecoma properans.

The asymmetrical ciliary system, limited to the ventral surface, consists of 12 meridionally arranged rows, the proximal ends of which commence just at the base of the tentacle at the same level, almost in contact with each other (Pl. 8, fig. 9-13). Rows 1-8 do not surpass half the length of the ventral surface; these rows do not differ greatly in length, but rows 1-4 progressively slightly diminish in length, and 5-8 increase in length. Rows 9-12 extend over 2/3 to 3/4 of the length of the ventral surface, and become progressively longer; these rows are directed obliquely

225

with reference to the preceding ones, and occupy the convex part of the ventral surface. Rows 11 and 12 often reach almost to the end of the body, delimiting the whole system posteriorly, whilst their proximal portions encroach somewhat on the left side of the ciliate. The central rows are placed parallel and very close to each other $(1-1\cdot 2\mu)$ whilst the intervals between the longer rows amount to $1\cdot 5-2\mu$. The cilia are $5-6\mu$ in length. The subpellicular argyrophilic network is distinguished by its regularity, its polygonal meshes being wider $(1\cdot 5\mu)$ towards the hind end, and narrower $(0\cdot 5\mu)$ anteriorly, both on the ventral and dorsal surfaces (Pl. 8, fig. 8-13).

The ventral contractile vacuole is placed pre-medially at the centre of the body, immediately above the distal terminations of the central ciliary rows. The pore of the contractile vacuole lies on the ventral surface. More or less numerous food vacuoles are to be found at the hind end of the body, together with minute, highly refractive fat globules. A well-developed system of refractive lamellar bodies, the closer analysis of which involves considerable difficulties, can be distinguished in the same region.

The ovoid, rod-like, or fusiform, occasionally arcuately curved macronucleus $(12-24 \,\mu \times 7-9 \,\mu)$ lies dorsally at the centre of the body, above the contractile vacuole, obliquely (from left to right) to the chief axis of the ciliate. The spherical, extremely small $(1.5-1.7 \,\mu)$ micronucleus lies somewhat anteriorly to the macronucleus.

The body is $27-65 \mu$ in length, $12-15 \mu$ in diameter.

Division is equal and subtransversal. In its final phase, when the individualisation of the daughter organism is practically accomplished, connection is maintained between the middle part of the right flank of the anteriorly placed individual and the dorsal surface of the fore part of the body of the posteriorly situated one. Conjugation is effected between the hind ends of the body. The ciliate swims tranquilly and slowly.

Heterocinetopsis reichenowi infests the branchia of Viviparus fasciatus Müller, of which it is a far less frequent parasite than is Enerthecoma properans. Specimens of Viviparus fasciatus were collected in the vicinity of Warsaw.

It resembles most closely members of the genus Ancistrocoma Chatton et Lwoff (5) in its cylindroidal shape, whilst its ciliary

Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. 227

system approaches most closely that of the genus *Heterocineta* Mawrodiadi, from which it differs in that the proximal ends of all the ciliary rows commence at the same level. Further differences from the *Heterocineta* consist in the far smaller micronucleus of *Heterocinetopsis reichenowi*, and in the greater development of the lamellar bodies at the posterior end of the body.

The ciliate has been named in honour of the well-known protozoologist, Professor Dr. Eduard Reichenow of the Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg.

6. On »Hypocomina« carinata Raabe

In connexion with the recently published paper by Z. Raabe Ȇber einige an den Kiemen von *Mytilus edulis* L. und *Macoma balthica* (L.) parasitierende Ciliaten-Arten« (Annales Musei Zoologici Polonici, vol. X, 1934, pp. 289-303), I would like here to discuss *Hypocomina carinata* Raabe, living on the branchia of *Mytilus edulis* (the host was erroneously named *Macoma baltica* in the Polish summary of the above-mentioned paper).

As follows from the description and the corresponding figures, the Hypocomid species described by Raabe undoubtedly does not belong to the genus *Hypocomina* Chatton et Lwoff. Raabe's statement is quite incorrect that J. L. Lichtenstein, in his description of *Hypocomina patellarum* (C. R. Soc. Biol., Paris. vol. 85, 1921, pp. 796 – 798) »das Vorhandensein von zwei, die thigmotaktische Fläche seitlich begrenzenden Rippchen angibt«. Not only do we find absolutely the least mention in Lichtenstein's paper of the existence in *Hypocomina patellarum* of such pellicular differentiations, but, on the contrary, this worker states quite definitely that »la zone ciliée est réduite à une région d'environ 16 sur 10 μ , placée dans une invagination antérieure de la face ventrale«. These relations are particularly well illustrated by Lichtenstein in his fig. 6.

Although he cited all the relevant publications of Chatton and Lwoff, Raabe overlooked the most charakteristic features of the genus *Hypocomina*, as established by these authors on the basis of their researches on *Hypocomina patellarum* (Lichtenstein). In their diagnosis of the genus *Hypocomina* (cf. C. R. Acad. Sc., Paris, vol. 178, 1924), Chatton and Lwoff confirm Lichtenstein's data, in particular emphasising that the genus in question

possesses a ciliary area »très enfoncée au-dessous du niveau du tégument«, in which a distinct asymmetry is, however, evident, i. e., »les deux systèmes ciliaires se trouvent nettement séparés par une carène divisant l'aire ciliaire en deux champs inégaux«. They further establish the absence in *Hypocomina patellarum* of a »vestige de frange adorale«.

None of the above-cited generic features are to be found in the form described by Raabe, in which »Sowohl die zwei rechtsseitigen wie die drei linksseitigen Wimperreihen stehen auf einer Art Rippchen, welche hier durch die Körperoberfläche des Ciliaten gebildet werden«, the thigmotactic area as a whole represents »ein einheitliches System«, and, further, a »vestige de frange adorale« is to be found.

It follows that the establishment of the exact systematic position of *»Hypocomina« carinata* Raabe will be possible only on the basis of a more detailed study of the ciliate in question.

From the Zoological Institute of the University of Warsaw (Warszawa).

Literature cited

1. Arldt Th. Die Entwicklung der Kontinente und ihrer Lebewelt. Ein Beitrag zur vergleichenden Erdesgeschichte. Leipzig, 1907. - 2. Arldt Th. Handbuch der Palaeogeographie. Bd. I-II. Leipzig, Borntraeger, 1919-1922. - 3. Baker F. C. The Lymnaeidae of North and Middle America, Recent and Fossil. The Chicago Academy of Sciences. Special Publication No. 3. Chicago, 1911. - 4. Berg L. S. Ueber die vermeintlichen marinen Elemente in der Fauna und Flora des Baikalsees. Zoogeographica. Vol. 2, 1935, pp. 455-483. - 5. Chatton E. et Lwoff A. Diagnoses de ciliés thigmotriches nouveaux. Bull. de la soc. Zool. de France. Vol. LI, 1926, pp. 345-352. - 6. Chejsin E. Sur quelques infusoires marins nouveaux, commensalistes des mollusques du lac Baïkal. C. R. de l'Acad. des Sc. de l'U. R. S. S., 1930, pp. 559-661. - 7. Cheissin E. Infusorien Ancistridae and Boveriidae aus dem Baikalsee. Arch. für Protistenkunde, Vol. 73, 1931, pp. 280-304. - 8. Cuénot L. La genèse des espèces animales. Paris. F. Alcan, 1911. - 9. Dogiel V. und Petruschewsky G. Die Wirkung des Aufenthaltsorts auf die Parasitenfauna des Lachses während seiner verschiedenen Lebensperioden. Arch. für Hydrobiologie. Vol. XXVI, 1933, pp. 659-673. - 10. Franz V. Geschichte der Organismen. Jena, G. Fischer, 1924. -11. Gajewskaja N. Zur Ökologie, Morphologie und Systematik der Infusorien des Baikalsees. Zoologica. Heft 83. Stuttgart, 1933. - 12. Hegner R. The incidence of trypanosomes and intestinal flagellates in aquatic and terrestrial forms of the Crimson-spotted Newt. Journal of Parasitology. Vol.

Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. 229

XVI, 1929, p. 56. - 13. Hegner R. Observations and experiments on the opalinid Ciliates of the green frog. Journal of Parasitology. Vol. XVIII, 1932, pp. 247-277. — 14. Herfs A. Studien an den Hautdrüsen der Landund Süsswassergastropoden. Arch. für mikroskop. Anatomie. Vol. 96, 1922, pp. 1-38. - 15. Jarocki J. Two new hypocomid ciliates, Heterocineta janickii sp. n. and H. lwoffi sp. n., ectoparasites of Physa fontinalis (L.) and Viviparus fasciatus Müller. Mémoires de l'Acad. Polonaise des Sc. et des Lettres. Cl. des. Sc. Mathém. et Natur. Série B. Sc. Natur. 1934, pp. 167-187. - 16. Jarocki J. et Raabe Z. Über drei neue Infusorien-Genera der Familie Hypocomidae (Ciliata Thigmotricha), Parasiten in Süsswassermuscheln. Bull. de l'Acad. Polonaise des Sc. et des Lettres. Cl. des Sc. Mathém. et Natur., Serie B Sc. Natur. (II), 1932, pp. 29-45. - 17. Kahl A. Urtiere oder Protozoa. I: Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria). I-IV. in Dahls »Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile«. Jena, G. Fischer, 1930-1935. - 18. Keiser A. Die sessilen peritrichen Infusorien und Suctorien von Basel und Umgebung. Eine biologisch-faunistische Studie. Revue suisse de Zoologie. Vol. 28, 1921, pp. 205-341. - 19. Kühn M. Die Trypanoplasmen und deren Verbreitung in einheimischen und ausländischen Schnecken. Schriften der Physik. ökonom. Ges. zu Königsberg in Pr. Vol. LII, 1911, pp. 63-89. - 20. Macallum A. B. The Paleochemistry of the Ocean in Relation to Animal and Vegetable Protoplasm. Transact. Canad. Inst. Vol. VII, 1904, pp. 555-562. - 21. Merton H. Studien über Flimmerbewegung. Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere. Vol. 198, 1923, pp. 1-28. - 22. Needham J. Problems of Nitrogen Catabolism in Invertebrates. II. Correlation between uricotelic metabolism and habitat in the Phylum Mollusca. The Biochemical Journal. Vol. XXIX, 1935, pp. 238-251. - 23. Nolf L. O. and Cort W. W. On immunity of snails to the penetration of the cercariae of the strigeid trematode, Cotylurus flabelliformis (Faust). Journal of Parasitology. Vol. XX, 1933, pp. 38-48. - 24. Pelseneer P. Les parasites des Mollusques et les Mollusques parasites. Bull. de la Soc. Zool. de France. Vol. LIII, 1928, pp. 158-189. – 25. Rotarides M. Bemerkungen zur Rolle der subepithelialen Drüsen bei den Lungenschnecken. Arbeiten des Ungarischen Biologischen Forschungs-Institutes. Vol. VI, 1933, pp. 33-43. - 26. Simroth H. Die Entstehung der Landtiere. Ein biologischer Versuch. Leipzig, W. Engelmann, 1891. - 27. Simroth H., Hoffmann H. Mollusca. II. Abteilung: Gastropoda. 2 Buch: Pulmonata. in: Dr. H. G. Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Leipzig, 1908-1928. - 28. Stiller J. Die peritrichen Infusorien von Tihany und Umgebung. Arbeiten des Ungarischen Biologischen Forschungs-Institutes. Vol. IV, Tihany, 1931, pp. 171-205. -29. Tiehle J. Mollusca in: Kükenthal-Krumbach. Handbuch der Zoologie. Vol. V, 1925. W. de Gruyter und Co., Berlin-Leipzig. - 30. Thiele J. Handbuch der systematischen Weichtierkunde. Jena, G. Fischer. 1929-1935. -31. Wereschtschagin G. Zur Frage über den Ursprung und die Geschichte der Fauna und Flora des Baikalsees. Trav. Commiss. pour l'étude du lac Baïkal. Vol. 3, 1930, pp. 77-116 (in Russian). - 32. Winfield G. W. On the immunity of snails infested with the sporocysts of the strigeid, Co-

230 J. Jarocki: Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I.

tylurus flabelliformis, to the penetration of its cercaria. The Journal of Parasitology. Vol. XIX, 1932, pp. 130-133.

Explanation of Plate 8

Fig. 1 and 2. *Heterocineta lwoffi* Jarocki 1934, from the tentacle of *Viviparus fasciatus* Müller, prepared by Klein's silver nitrate method. The ciliates are somewhat flattened. Note the arrangement of the rows of basal granules on the left margin of the ventral surface. The peripheral rows originate far from the point of insertion of the suctorial tentacle. Note the sub-pellicular argyrophilic network (Klein's »engmaschiges Gitter«).

Fig. 3. Heterocineta lucoffi. Preparation as in 1-2. Ventral view of a dividing ciliate to show the ciliary system undergoing fission (initial phase). Two contractile vacuoles are clearly visible. The organism is somewhat flattened.

Fig. 4. *Heterocineta maziarskii* spec. n. Living ciliate attached to the margin of the tentacle of *Coretus corneus* (L.).

Fig. 5 and 6. *Heterocineta chattoni* Jarocki 1934, from the tentacle of *Radix ovata* (Drap.). Silver nitrate method of Klein. Ventral view showing the rows of basal bodies.

Fig. 7. *Heterocineta chattoni*. Preparation as in 5-6. Ventral view showing the final phase of division.

Fig. 8. Heterocinetopsis reichenowi gen. n. sp. n., from the gill of Viviparus fasciatus Müller. Klein's method. Dorsal view.

Fig. 9-11. *Heterocinetopsis reichenowi* gen. n., sp. n. Klein's method. Lateral view.

Fig. 12 and 13. *Heterocinetopsis reichenowi* gen. n., sp. n. Klein's method. Ventral view. The ciliates are somewhat flattened.



Dalsze badania nad mechanizmem perforacji błony wieczkowej przy przeobrażeniu płazów. – Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Perforation der operculären Membran im Metamorphoseprozeß der schwanzlosen Amphibien.

(Zur Frage der sogenannten autonomen und abhängigen Entwicklung der Körperteile metamorphosierender Amphibien. 11).

Mémoire

de M. L. D. LIOSNER et Mme M. A. WORONZOWA,

présenté le 3 Juin 1935, par M. E. Godlewski m. t.

(Planche 9)

Einleitung.

Im Jahre 1932 wurde von L. J. Blacher zusammen mit den Verfassern der vorliegenden Arbeit in Versuchen mit der Verpflanzung der Haut des operculären Gebietes der Kaulquappen auf den Rücken folgendes festgestellt. In der verpflanzten Haut des operculären Gebietes bildete sich während der Metamorphose eine charakteristische Öffnung entsprechend derjenigen, die in der operculären Membran entsteht und zur Befreiung der vorderen Extremität aus der Peribranchialhöhle dient.

Die sich bildende Öffnung hat eine typische ovale Form und glatte Ränder, – Merkmale, welche der normalen operculären Öffnung eigen sind. Im Gegensatz zu der Auffassung anderer Forscher, haben unsere Beobachtungen festgestellt, daß die Haut des operculären Gebietes spezifische Eigenschaften besitzt, die sie von der Haut der übrigen Körperteile der Kaulquappe unterscheiden. Dank dem Vorhandensein der bezeichneten Eigenschaften erleidet

Bulletin III. B. II. 1935.

16 .

die operculäre Membran die Histolyse sogar bei Übertragung derselben an eine ungewohnte Stelle. Gleichzeitig zeigen die an die der präsumptiven operculären Öffnung entsprechende Stelle verpflanzten Stückchen der Haut des Rückens und der Seite keine spezifischen Veränderungen und eine Perforation bleibt in diesen Fällen aus. Somit gestatten die von uns erhaltenen Daten den Schluß von einer regionalen Verschiedenheit der Eigenschaften der Haut in bezug auf die Bildung der operculären Öffnung zu ziehen. Wir halten es jedoch nicht für möglich, auf Grund dieser Schlußfolgerung die ganze Verantwortung für die Erscheinung der Perforation der Haut des operculären Gebietes zuzuschreiben. Indem wir von einer Anwendung des Schemas der autonomen Differenzierung auf die Metamorphose der operculären Membran Abstand nahmen, ließen wir uns vor allem durch theoretische Erwägungen leiten. Es schien uns unrichtig die Verantwortung für den Verlauf des Prozesses nur einem der an demselben beteiligten Faktoren zuzuschreiben und dieselbe bei den übrigen zu verneinen. Die Vorstellung von der bestimmenden Bedeutung der einzelnen Komponenten der Erscheinung berücksichtigt die zwischen ihnen vorhandenen inneren Verhältnisse nicht. Indem wir das Vorhandensein der letzteren, sowie ihre leitende Rolleim Prozeß der Entwicklung anerkennen, können wir nicht einzelnen, besonders genommenen Faktoren eine entscheidende Bedeutung zuschreiben. Gleichzeitig müssen wir auch von der meist gebräuchlichen Gegenüberstellung von bestimmenden und indifferenten Faktoren absehen. Die Existenz indifferenter Faktoren, d. h. notwendiger, jedoch nicht auf das spezifische Bild des Prozesses wirkender Faktoren muß angezweifelt werden. Wir gehen daher von der Vorstellung aus, daß bei entsprechender Auswahl der Versuchsbedingungen der Einfluß auf den Charakter der Erscheinung auch solcher Faktoren gefunden werden kann, die bisher als indifferent galten. Zu Gunsten einer solchen Auffassung sprach in Bezug auf unser Objekt auch einiges faktische Material. Vor allem kann folgende Beobachtung erwähnt werden. Bei Verpflanzung der operculären Membran auf den Rücken tritt die Erscheinung der Perforation auf den Transplantaten in späteren Stadien ein als in der operculären Membran des Wirtes. In einer Reihe von Fällen bildete sich keine Öffnung in der verpflanzten Haut, es konnte nur ein Dünnerwerden der Haut beobachtet werden, das

allerdings typische Umrisse hat. Alle erwähnten Umstände veranlassen uns anzunehmen, daß die lokalen Bedingungen auf der Kiemenhöhle für den Perforationsprozeß nicht gleichgültig sind.

In der vorliegenden Arbeit setzten wir das Studium der Metamorphosebedingungen der operculären Membran fort. Zu unserer Aufgabe gehörte eine genaue Analyse einer Reihe an dem Prozeß beteiligter Faktoren, zwecks Aufklärung ihres Einflusses auf den Perforationsprozeß. Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchung bestätigten unsere ursprünglichen Voraussetzungen. Durch eine entsprechende Organisation des Versuchs gelang es uns die Abhängigheit der eintretenden Perforation nicht nur von der Haut, sondern auch von verschiedenen anderen Bedingungen nachzuweisen. Obzwar das gewonnene experimentelle Material keine erschöpfende Antwort auf die Frage gibt, so gestattet es doch einen Schritt vorwärts im Verständnis verschiedener, eine Rolle im Perforationsprozeß spielender Faktoren zu machen. Bei der Wertung der angeführten Daten gehen wir die ganze Zeit von den oben ausgesprochenen theoretischen Erwängungen aus.

1. Abhängigkeit der Perforationszeit der Transplantate der Haut des operculären Gebietes vom Stadium des Donors und des Rezipienten.

Die Verpflanzung von Hautstückchen des operculären Gebietes auf den Rücken verhindert die Entstehung der Perforation nicht. Dieser Umstand macht eine experimentelle Untersuchung der Frage nach der Zeit des Erscheinens der operculären Öffnung möglich. Eine Verpflanzung der Haut zwischen Kaulquappen, die sich in verschiedenen Metamorphosestadien befinden, kann den Zusammenhang zwischen der Perforationszeit und den Eigenschaften des inneren Milieus des Organismus beleuchten.

Entsprechende Versuche wurden von uns ausgeführt. Als Versuchsobjekte benutzten wir Kaulquappen *Rana temporaria* und *Rana ridibunda*. Die ausgeführten Versuche können in zwei Hauptgruppen geteilt werden. In der einen derselben wurden Verpflanzungen der Haut des operculären Gebietes von Kaulquappen, die im Beginn der Metamorphose standen, zu bereits weit in der Metamorphose fortgeschrittenen Kaulquappen ausgeführt. Die Aufgabe, die wir uns hierbei stellten, bestand in der Untersuchung, ob das Milieu des neuen Wirts eine stimulierende Wirkung auf

16*

die Metamorphose des Transplantates ausübt. Zur Feststellung des Einflusses des Organismus des Wirts auf den Moment des Eintrittes der Perforation wurden Kontrollversuche angestellt, die in einer Verpflanzung der Haut des operculären Gebiets einer im Beginn der Metamorphose stehenden Kaulquappe auf den Rücken einer im gleichen Entwicklungsstadium befindlichen Kaulquappe bestanden. Ein Vergleich der Versuchs- und Kontrollexemplare gestattete das Feststellen des synchronen oder heterochronen Verlaufs der Metamorphose der auf sie verpflanzten Haut.

Die zweite Gruppe bestand in der Verpflanzung der Haut des operculären Gebiets von weit in der Metamorphose fortgeschrittenen Kaulquappen bis zu jüngeren Tieren. Als Kontrolle dienten auch in diesem Falle wieder Versuche mit der Verpflanzung der operculären Membran zwischen Kaulquappen gleichen Entwicklungsstadiums (im gegebenen Falle zwischen weit in der Metamorphose fortgeschrittenen).

Die Technik der durchgeführten Operationen ist äußerst einfach und wir werden uns mit derselben nicht aufhalten, da wir sie in unserer vorhergehenden Arbeit beschrieben haben. Größere Schwierigkeiten bereitet die Notwendigkeit der häufigen Durchsicht der operierten Tiere. Nur unter dieser Bedingung gelingt es, alle Fälle der Bildung einer Öffnung in verpflanzten Stückchen zu berücksichtigen, um sich eine Vorstellung von dem Charakter der stattfindenden Histolyse zu machen. Es versteht sich von selbst, daß die Versuchs- und Kontrollverpflanzungen gleichzeitig geschahen und daß die Kaulquappen in gleichen Bedingungen gehalten wurden. Nach dem Grad der durchlaufenden Metamorphose wurden die Tiere in folgende Stadien eingeteilt:

Erstes Stadium: die hinteren Gliedmaßen sind noch nicht in Ober- und Unterschenkel gegliedert.

Zweites Stadium: die Gliederung in Ober- und Unterschenkel hat stattgefunden, jedoch der Winkel zwischen ihnen stumpf.

Drittes Stadium a: Der Winkel zwischen Ober- und Unterschenkel ist spitz.

Drittes Stadium b: Die Vorderbeine heben die über ihnen befindliche Haut stark auf. Der Leib schrumpft ein.

Viertes Stadium: Die Beine haben sich befreit.

Fünftes Stadium a: Der Schwanz ist um 1/3 resorbiert.

Fünftes Stadium b: Der Schwanz ist um die 1/, resorbiert.

234

e	n des ors	n des ts	Zeit des der Per	Eintritts foration	Zustand	ll der duen
Seri	Stadiun Dono	Stadiur Wir	Stadium der Kaulquappe	Tage nach der Ver- pflanzung	des Transplantats	Anzah Indivi
I	1	3 a	6 5 d	9 7	starke Verdünnung Verdünnung	$\begin{array}{c} 6\\ 1\end{array}$
	3 a	1	5 d 3 a 5 d 5 b 3 a	$5 \\ 9 \\ 15 \\ 15 \\ 7 \\ 7$	Perforation Verdünnung undeutlich Perforation unklar	1 1 1 1 1 1
Ш	3 a	1	3 b 5 a 5 d 5 c 5 c	6 12 12 13 13	starke Verdünnung ,, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	$\begin{array}{c}1\\3\\4\\1\\1\end{array}$
II	3а	3 a	5 a 5 c 5 b 6	8 8 10 12	Perforation starke Verdünnung Perforation	$ \begin{array}{c} 1 \\ 1 \\ 1 \\ 2 \end{array} $
II	1	3 a	5 d 5 a 6 6	8 10 10 10	Verdünnung Perforation keine Verdünnung	1 1 3 3
II	1	1	$\begin{array}{c} 4\\ 5 b\\ 6\\ 6\\ 5 d\\ 5 d\\ 5 d\end{array}$	$ \begin{array}{r} 12 \\ 12 \\ 15 \\ 15 \\ 12 \\ 12 \\ 12 \\ 12 \\ 12 \\ \end{array} $	starke Verdünnung ,, , ,, keine ,, starke ,, Verdünnung Perforation keine Verdünnung	$ \begin{array}{c c} 1 \\ 1 \\ 2 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 1 \end{array} $
III	3 a	1	2 3 b 3 a 3 b 3 b 3 b 6 5 c	$ \begin{array}{c} 6 \\ 4 \\ 7 \\ 5 \\ 7 \\ 10 \\ 15 \\ 10 \end{array} $	Verdünnung starke Verdünnung Verdünnung starke Verdünnung Perforation keine Verdünnung	$ \begin{array}{c} 1\\ 1\\ 1\\ 2\\ 1\\ 2\\ 2 \end{array} $
III	3 a	3 a	5 c 5 c 5 b 4 5 b 5 c 5 c 5 d	5 5 6 6 7 7 7	Verdünnung Perforation Verdünnung starke Verdünnung Verdünnung "Perforation keine Verdünnung	2 1 3 1 1 1 1 1
III	1	3 a	6 6 6	9 9 10	starke Verdünnung unklar keine Verdünnung	$\begin{array}{c}1\\1\\3\end{array}$
III	1	1	5 c 5 c 5 d 5 d 6	9 10 10 10 10 10	starke Verdünnung Verdünnung Perforation Verdünnung keine Verdünnung	$ \begin{array}{c} 1 \\ 2 \\ 1 \\ 1 \\ 2 \end{array} $

 TABELLE I.

 Zeit des Auftretens der operculären Öffnung in der auf den Rücken der Kaulquappen verpflanzten Haut.

Fünftes Stadium c: Der Schwanz ist um 2/3 resorbiert.

Fünftes Stadium d: An Stelle des Schwanzes ist ein kleiner Höcker geblieben.

Und schließlich gehören zum letzten, 6-ten Stadium, die Kaulquappen mit beendigter Resorption des Schwanzes.

Das Rana temporaria betreffende Material besteht aus 3 Serien. In der ersten Serie wurden keine Kontrollversuche angestellt. Das nimmt ihnen eine gewisse Bedeutung nicht, insofern manbereits nach dem Metamorphosestadium, in dem sich der Wirt im Moment des Auftretens der Perforation befindet, über den Einfluß des Wirtsorganismus auf die histologischen Erscheinungen im Transplantat urteilen kann.

Eine Analyse der Tabelle I führt zu folgendem Schluß:

Bei Verpflanzung der Haut zwischen Kaulquappen des ersten Stadiums treten, wie Serie II und III zeigen, die histolytischen Erscheinungen im Transplantat, hauptsächlich im Stadium 5 c und 5 d ein. Bei der Verpflanzung der Haut des operculären Gebietes von Kaulquappen des ersten Stadiums zu Kaulquappen des Stadiums 3 a treten die entsprechenden Erscheinungen mit einer bedeutenden Verspätung ein. Dieses Resultat tritt besonders deutlich in der ersten Gruppe zu Tage. Die Bildung der typischen Verdünnung trat hier in der Regel nach voller Resorption des Schwanzes ein (Fig. 2, Taf. 9). Somit erfahren die Transplantate, trotz des Aufenthaltes in dem Milieu eines Organismus mit weit fortgeschrittenen Metamorphoseprozessen, die Verwandlung nicht gleichzeitig mit dem Wirt.

Um jedoch festzustellen, ob die Hautstücke des operculären Gebietes eine gewisse, wenn auch nur schwach ausgeprägte, stimulierende Wirkung auf ihre Metamorphose empfinden, genügen die von uns angeführten Daten nicht. Das Transplantat kann im Experiment eine Verwandlung in den späteren Metamorphosestadien nicht früher erfahren, als das in der Kontrolle der Fall ist. Um das erwähnte Moment feststellen zu können, muß die von der Operation bis zur Perforation im Versuch und in der Kontrolle verflossene Zeit in Betracht gezogen werden.

Wir wollen im gegebenen Fall die Daten der II. Serie benutzen. Bei der Verpflanzung der Haut von Kaulquappen des ersten Stadiums zu Kaulquappen gleichfalls des ersten Stadiums tritt eine Perforation oder Verdünnung am 12.—15. Tage ein. Bei Verpflan-

236

Mechanismus der Perforation der operculären Membran 237

zungen jedoch von Kaulquappen des ersten Stadiums zu solchen des Stadiums 3 a treten die histologischen Erscheinungen bereits am 8-10-ten Tage im Transplantat ein. Man muß bemerken, daß das Material, auf das wir uns stützen, für einen endgültigen Schluß in dieser Hinsicht nicht genügt. Es veranlaßt uns jedoch, die Möglichkeit einer Stimulation der Metamorphose der zu Kaulquappen späterer Stadien verpflanzten operculären Membran zu berücksichtigen. Diese Frage kann erst bei Benutzung einer größeren Anzahl von Kaulquappen für Verpflanzungen entschieden werden.

Gehen wir jetzt zu den Daten über die Verpflanzung von Kaulquappen älterer Stadien zu jüngeren über. Das Material der II und III Gruppe zeigt, daß bei Verpflanzungen der Haut zwischen Kaulquappen des Stadiums 3 a die Perforation hauptsächlich im Stadium 5b und 5c eintritt (Fig. 1). Bei Hautverpflanzungen von Kaulquappen des Stadiums 3 a zu solchen des I. Stadiums kann man ein Auftreten der Perforation in sehr frühen Stadien der Metamorphose beobachten. Außerordentlich klar treten diese Umstände an unserer dritten Gruppe zu Tage. Hier entwickelte sich in 6 Fällen die Öffnung im Transplantat im Stadium 3 a-3 b (Fig. 4), in einem Fall sogar im 2-ten Stadium. Die Zahl der von der Operation bis zum Beginn der Histolyse verflossenen Tage unterscheidet sich nicht wesentlich von dem für das Eintreten der Perforation bei Verpflanzungen der Haut zwischen Kaulquappen des Stadiums 3 a charakteristischen Termin. Auf Grund des Gesagten kann man den Schluß ziehen, daß die Haut des operculären Gebietes von in späteren Metamorphosestadien befindlichen Kaulquappen, keinen hemmenden Einfluß auf den Verlauf ihrer Metamorphose seitens des humoralen Milieus jüngerer Kaulquappen empfindet.

Die Metamorphose der verpflanzten Haut verläuft somit heterochron mit der Metamorphose der Haut des Wirts. Zur Illustration dieser Schlußfolgerungen kann Tabelle II dienen, in der wir das Material für alle 3 in Tabelle I figurierenden Serien zusammengefaßt haben. Indem wir eine gewisse Bedingtheit solcher Verallgemeinerungen anerkennen, halten wir sie doch für berechtigt, insofern wir uns nur für die Aufklärung der grundlegenden Eigentümlichkeiten des Verhaltens der verpflanzten Hautstückchen interessieren.

dium des Donors	adium des Wirts	Anzahl der Perforationen oder Verdünnunge im Stadium							
Ste	Sta	2u.3a	3 b	4	5a	5 b	5 c	5 d	6
1	1	_		1	-	1	3	4	1
1	3 a		-		1	T.		2	10
3 a	3 a	_	-	1	1	õ	6		2
3 a	1	3	6	-	3	1	1	1	-
dium des Donors	dium des Wirts	Anzahl der perforierten oder verdünnten nach Tagen							
Sta]	Sta	4-5	6-7	8-9	10-11	12-13	14-15	plore H	node
1011	allo 1 own	soi-Ita	lead-4	1	6	4	1	General	eis ho
1	3 a	an-This	1	8	4	6-226	-q		Maab
3 a	3 a	6	1004	2	1	2	in t p	ier niir	minh
3 a	pout 1 hab	4	3	2	1	2	1	in mail	der alle

TABELLE II.

Zur Ergänzung der mit *Rana temporaria* erhaltenen Daten führen wir in Tabelle III die Resultate gleicher mit *Rana ridibunda* ausgeführter Versuche an.

Die auf Grund der Versuche mit den Kaulquaqqen *R. tempo*raria gezogenen Schlüsse erhalten auch an *R. ridibunda* ihre Bestätigung.

Man muß nur bemerken, daß bei *R. ridibunda* bei der Verpflanzung der Haut des operculären Gebietes auf den Rücken, die Perforation offenbar in früheren Stadien eintritt, als bei *R. temporaria*. Wenn man in Betracht zieht, daß bei Verpflanzung der Haut zwischen Kaulquappen des Stadiums 3 a die Öffnuug meist im Stadium 5 a-5 b eintritt, so äußert sich das Verhalten des Transplantats, das sich auf einer Kaulquappe mit einem ihm nicht entsprechenden Metamorphosestadium befindet, genügend deutlich.

Bei der Verpflanzung der Haut von Kaulquappen des Stadiums 3 a zu solchen des I Stadiums, tritt die Perforation im zweiten Stadium, in einem Falle sogar im ersten Stadium ein (Fig. 3). Die Verpflanzung der operculären Membran von jungen Kaulquappen zu erwachseneren führt zu einem späteren Auftreten der Öffnung: im Stadium 5 c und im Stadium der vollständigen Re-

TABELLE III.

rie	m des ors	m des rts	Zeit des Eintritts der Perforation Stadium der Kaulquappe tion des		Zustand	l der duen	
Sei	Stadiu Don	Stadiu Wi			des Transplantats	Anzah Indivi	
CAR ST.	-100000	13	3 a	10	Perforation	1	
TV	2.0	G INA	1	10		1	
IV	Ja		2	13	Verdünnung	1	
and a	Look	Ininan	2	17	>>	1	
and the second	-		4	10	starke Verdünnung	1	
TT	3 a -	3 a	5 a	10	Perforation	1	
11			5 b	16	starke Verdünnung	1	
a filosofia anti-	LA gab		5 c	16	Perforation	1	
hersing	15: LANS	der	5 b	10	Perforation	1	
TV	1	2-	5 b	13	Verdünnung	1	
1 1 1		1	Ja	5 c	15	V Beel "pyen mi	1
HEALAN		nderht		6	20	Perforation	2
(Notes	19 10	e Ver	2	6	Verdünnung	1	
V	3 a	1	2	6	Perforation	1	
			2	11	""	1	
V	3 a	3 a	5a	6	Verdünnung	1	

Zeit des Auftretens der operculären Öffnung in der auf den Rücken von Kaulquappen Rana ridibunda verpflanzten Haut.

sorption des Schwanzes. Somit wird auch an *R. ridibunda* eine heterochrone Metamorphose der verpflanzten Haut an einem ihrem Alter nicht entsprechenden Organismus beobachtet. Was den stimulierenden Einfluß des Wirtsorganismus auf den Verlauf der Metamorphose des Transplantats anbetrifft, so kann man nichts über denselben sagen auf Grund der angeführten Daten, insofern eine entsprechende Kontrolle (Verpflanzungen zwischen Kaulquappen ersten Stadiums) fehlte.

Indem wir die Daten über *R. temporaria* und *R. ridibunda* verglichen, richteten wir unsere Aufmerksamkeit auf folgenden Umstand. Bei *R. ridibunda* treten die histolytischen Erscheinungen im Transplantat in einem größeren Prozentsatz der Fälle ein, als bei *R. temporaria*. Dieses Moment legte den Gedanken

239

nahe, daß es auf dem Wege einer Vergrößerung der Artenzahl der Kaulquappen, welche für die Verpflanzungen der operculären Membran benutzt wurden, gelingen würde, noch größere Abweichungen im Verhalten der Transplantate zu finden. Wir führten Versuche homoplastischer Verpflanzungen der operculären Membran auf den Rücken von Kaulquappen Bombina bombina und Pelobates fuscus aus. In beiden Fällen wurde in den Transplantaten die Bildung der typischen Öffnungen beobachtet. Man muß sich somit auf die Konstatierung quantitativer Unterschiede im Verhalten der Haut der Kaulquappen verschiedener Arten beschränken. In Tabelle IV sind die Daten über alle vier Arten zusammengefaßt, wobei für *R. ridibunda* auch Material des Jahres 1932 benutzt wurde.

T	A -	D	111	T T	TT	TI	T
T	A.	D.	Ľ.	11	E	T	۷.

Ergebnis der Verpflanzungen der operculären Membran auf den Rücken.

Art	Gesamtzahl der Ver- pflanzungen	Zahl der Per- forationen, Verdünnungen	Zahl der Transplantate, die keine Ver- dünn. zeigten	Zahl der Transplantate, die unklare Re- sultate zeigten
FRANK AND THE THE TELEVISION	P.O.L.		L. glassbary day	- Settinger - My Share
R. temporaria	77	53	21	3
R. ridibunda	34	32	1	1
Bombina bombina	12	2	6	4
Pelobates fuscus	11	7	4	6 <u>1</u> 7

Die angeführte Tabelle zeigt mit genügender Klarheit den Unterschied zwischen *R. ridibunda* und den anderen Arten hinsichtlich der Fähigkeit der Haut, die operculäre Öffnung auf dem Rücken der Kaulquappe zu bilden. Besonders scharf tritt dieser Unterschied beim Vergleich mit Kaulquappen der Art *Bombina bombina*, die einen sehr geringen Prozentsatz von Perforationen ergab, zu Tage.

2. Einfluß der Entfernung der vorderen Gliedmaßen auf die Bildung der operculären Öffnung.

In der Arbeit von Blacher, Liosner und Woronzowa wurde gezeigt, daß sich die operculäre Öffnung sogar bei einer vollständigen Entfernung der vorderen Gliedmaßen bildet. Die

Daten geben jedoch noch keine Veranlassung, das Vorhandensein oder Fehlen der vorderen Gliedmaßen als vollkommen gleichgültig für das Eintreten der Perforation zu betrachten. Vor allem fällt auf, daß sich die operculäre Öffnung bei Entfernung der Gliedmaßen mit einer gewissen Verspätung bildet. Das veranlaßte uns zu einer systematischen Untersuchung des Zusammenhanges zwischen dem Fehlen der Gliedmaßen und der Zeit der Bildung der operculären Öffnung. Im ganzen wurden dem Versuch 160 Kaulquappen unterzogen. Bei allen wurde die rechte Extremität entfernt. Die Vollständigkeit der Entfernung war verschieden, was die Möglichkeit gab, die Veränderungen in der Metamorphose der operculären Membran infolge des Fehlens der einzelnen Teile der Extremität festzustellen. Je nach der Vollständigkeit der Entfernung kann das ganze Versuchsmaterial in 3 Gruppen eingeteilt werden. Zur ersten Gruppe gehören die Kaulquappen, bei denen die Extremität in der Höhe des Schultergelenkes amputiert wurde. In der zweiten befinden sich Kaulquappen, bei denen die Extremität und ein Teil des Schultergürtels entfernt wurde. Schließlich wurden zur dritten Gruppe Kaulquappen mit vollständig entfernter Extremität und entferntem Schultergürtel gerechnet. Die Versuchskaulquappen wurden einer täglichen Durchsicht unterzogen, zwecks genauer Feststellung des Entwicklugsstadiums, in dem die Öffnung auftritt. Wenn das Vorhandensein einer solchen klar festgestellt war, wurde eine Sektion unter einer Binokularlupe ausgeführt, um die vollständige Entfernung des Beines zu prüfen. Eine solche Analyse genügte trotz aller ihrer Mängel unseren Zwecken vollkommen. Hinsichtlich der ersten zwei Kaulquappengruppen konnten in dieser Frage schwerlich Zweifel erwachsen. Gewisse Zweifel können folglich nur die Kaulquappen der dritten Gruppe hervorrufen. Bei der Durchsicht ging bei der Sektion ein Teil der Exemplare dieser Gruppe in die zweite Gruppe über, insofern bei ihnen Reste des Schultergürtels gefunden wurden. Was die übrigen anbetrifft, bei denen keinerlei Spuren des Schultergürtels bemerkt wurden, so haben wir vollen Grund anzunehmen, daß bei denselben die Entfernung eine wirklich vollständige war. Bei dieser Schlußfolgerung stützen wir uns einerseits auf die Erfahrungen des Jahres 1932, wo nach analogen Experimenten auf dem Wege einer histologischen Analyse das vollständige Fehlen der Extremität nachgewiesen wurde. Außerdem wurde auch in

diesem Jahr ein Teil der Kaulquappen der dritten Gruppe fixiert und einer histologischen Bearbeitung unterworfen. Diese Kaulquappen bildeten somit eine vierte Gruppe, die sich von der dritten dadurch unterschied, daß eine Sektion nicht ausgeführt wurde. Aus der Zahl dieser Tiere wurden vier Kaulquappen ganz willkürlich ausgewählt und serienweise zerschnitten. Bei allen vieren konnten keinerlei Reste der Extremität aufgefunden werden. Die Mikrophotographie gibt das Bild für die Kaulquappe Nr. 171 wieder (Fig. 5, Taf. 9). Somit sind wir berechtigt anzunehmen, daß in der dritten Gruppe wirklich eine vollständige Entfernung der Extremität vorlag. Die Daten über alle Gruppen sind in Tabelle V zusammengefaßt.

Wie die Tabelle zeigt, übt die Entfernung des distalen Teiles der Extremität keinen wesentlichen Einfluß auf den Zeitpunkt des Auftretens der operculären Öffnung aus. Von 24 Kaulquappen trat nur bei 4 die Perforation in einem späteren Stadium ein, als das bei nichtoperierten Kaulquappen der Fall ist (4-tes Stadium).

TABELLE V.

Vollständigkeit der Ent-	Stadium,	in dem die	Perforation	n auftritt
fernung	4 8	5 a	5 b	бс
Hand, Unterarm und ein Teil des Oberarmes entfernt	20	3	1	1
Bein und ein Teil des Schul- tergürtels	8	5	9	1
Volle Entfernung der Extre- mität und des Schultergürtels	ednis-di d 1 Waterend	9	12	3
Die Vollständigkeit nicht fest- gestellt. Sektion nicht ausge- führt	ini deserv	4	10	3

Einfluß der vollständigen Entfernung der Extremität auf den Zeitpunkt des Auftretens der operculären Öffnung.

Je vollständiger jedoch die Exstirpation der Extremität ist, umsomehr äußert sich das Resultat der Operation und die Zahl der Kaulquappen mit spätem Auftreten der Öffnung wird immer bedeutender. In der dritten Gruppe fällt der größte Prozentsatz der Perforation auf das Stadium 5 b, und keine einzige Kaulquappe zeigt eine Perforation im 4-ten Stadium. Bei den in Tabelle V

figurierenden Tieren wurde die Entfernung der Extremität in den Stadien 1, 2 und 3 a ausgeführt. Das Ergebnis der Operation war in allen drei Stadien gleich. Daher ist das ganze Material in Tabelle V ohne Differenzierung nach Stadien angeführt.

Auf Grund der deutlich ausgesprochenen Verschiebung in der Zeit des Auftretens der operculären Öffnung infolge der entfernten Extremität erwächst folgende Frage. Von einer Reihe von Verfassern wurde bei Entfernung der Extremität nur das Auftreten einer typischen Verdünnung der Haut, anstatt einer Perforation konstatiert. Ist diese Erscheinung nicht darauf zurückzuführen, daß die Beobachtung der Versuchstiere zu früh unterbrochen wurde? Wir verfügen zur Zeit über genügendes Material, um diese Frage zu verneinen. In Tabelle VI sind die Daten über den Einfluß der entfernten Extremität auf den Grad der Histolyse der operculären Membran (entsprechend der Bildung einer Perforation oder Verdünnung) angeführt.

TABELLE VI.

Der Einfluß der entfernten Extremität auf den Grad der Histolyse der operculären Membran.

Vollständige Entfernung des Beines	Eine Verdün- nung ge- funden	Eine Perfo- ration gefun- den	Zahl der Operationen
Entfernt der Unterarm und ein Teil des Oberarmes	8	25	25
Entfernt der Oberarm und ein Teil des Schultergürtels	6	23	29
Vollständige Entfernung der Extremität und des Schulter- gürtels	18	24	42
Sektion nicht ausgeführt	8	17	25

Das Versuchsmaterial, das in Tabelle VI angeführt ist, wurde in allen Fällen bis zur Beendigung der Metamorphose beobachtet. 'Irotzdem fand eine Bildung der Öffnung bei einer Reihe von Individuen nicht statt und es konnte nur eine Verdünnung der operculären Membran beobachtet werden. Tabelle VI wurde gleichfalls auf Grund der Daten über alle drei Stadien, in denen die Operationen ausgeführt wurden, zusammengestellt. Wir halten es für notwendig zu unterstreichen, daß die Zahl der Kaulquappen

L. D. Liosner und M. A. Woronzowa:

des ersten Stadiums 48 betrug, wobei 36 von ihnen eine Perforation zeigten. Diese Daten gewinnen besonderes Interesse, da daß Material des Jahres 1932 über das 1. Stadium äußerst ungenügend war. Auf Grund der Daten dieses Jahres können wir den Schluß ziehen, daß sogar bei einer Entfernung der Extremität im ersten Stadium, die Öffnung in der operculären Membran doch eintritt.

3. Verpflanzung von Hautstücken auf die Stelle der operculären Öffnung.

Bereits in der Arbeit von Blacher, Liosner und Woronzowa wurde gezeigt, daß die Haut des Rückens bei Verpflanzung ins operculäre Gebiet keine Anzeichen einer Perforation oder Verdünnung aufweist. Bei allen vier Kaulquappen, an denen die bezeichnete Erscheinung konstatiert wurde, wurde gleichzeitig eine Entfernung des Vorderbeines ausgeführt. Es erwächst nun die Frage, wie sich das Vorhandensein der Extremität beim Schicksal der transplantierten Rückenhaut äußern wird. Die Entfernung der Extremität bei den Versuchen mit der Verpflanzung der Haut in das operculäre Gebiet wurde dadurch hervorgerufen, daß es uns nicht gelang ein Anwachsen des Transplantats in Gegenwart der Extremität im Kiemengebiet zu erreichen. In diesem Jahr ist es uns dank der vervollkommneten Methodik gelungen, in einigen Fällen ein Anwachsen des Hautstückchens über der unberührten vorderen Extremität zu erreichen. Zur Sicherstellung dieses Resultats mußten sehr große Hautstücke verpflanzt werden, so daß die ganze operculäre Membran durch Rückenhaut ersetzt wurde. Das größte Hindernis für das Anwachsen der Haut bilden die aktiven Bewegungen des Vorderbeines. Daher mußten die Operationen in den Anfangsstadien der Metamorphose ausgeführt werden. Am bequemsten erwies sich das 1. Stadium, wo das Bein noch sehr klein und unbeweglich ist. Von der großen Zahl der operierten Tiere gelang es nur fünf Kaulquappen bis zum 5-ten Stadium zu führen (Nr. 93, 239, 96, 240, 257). Bei den übrigen wurde zum Teil ein Anwachsen des Transplantats nicht erreicht, zum Teil aber bedeckte das verpflanzte Hautstück das operculäre Gebiet nicht vollständig und in dem unbedeckt gebliebenen Teil trat Histolyse ein. Schließlich muß man solche Kaulquappen erwähnen, bei denen die Operation erfolgreich durchgeführt wurde und das Anwachsen erfolgte, das Transplantat jedoch infolge der

Mechanismus der Perforation der operculären Membran 245

starken Bewegungen des Beines bereits im 4-ten Stadium verdrängt wurde. Was die fünf Kaulquappen anbetrifft, bei denen das Transplantat bis zum 5-ten Stadium beobachtet wurde, so hatte bei ihnen die Haut das gewöhnliche Aussehen und es konnten keinerlei Spuren einer Histolyse trotzt sorgfältigster Besichtigung gefunden werden (Fig. 6, Taf. 9). Das linke Kontrollbein durchschnitt die Haut zur gewohnten Zeit. Im Stadium 5 a wurden die Kaulquappen fixiert. Die weitere Beobachtung wurde eingestellt aus Befürchtung um das weitere Schicksal der Transplantate, weil das unter der Haut des Rückens befindliche Bein die ganze Zeit über starke Bewegungen vollführte. Auch wurden von uns Ergänzungsversuche mit Verpflanzungen der Rückenhaut auf das operculäre Gebiet mit vorhergehender Exstirpation der Extremität ausgeführt. Die Beobachtung der operierten Tiere wurde bis zur Beendigung ihrer Metamorphose fortgesetzt. Die Operationen waren bei 10 Kaulquappen erfolgreich, trotzdem zeigten dieselben (88, 139, 139 a, 164, 165, 165 a, 140, 159, 160, 139 c, 139 b) keinerlei Anzeichen einer Verdünnung im transplantierten Hautstück, obgleich das linke Kontrollbein wie gewöhnlich die Haut durchschnitt.

Somit wird die von uns ausgesprochene Behauptung über die Verschiedenheit der Eigenschaften der Rückenhaut und der des operculären Gebietes voll bestätigt. Es war jedoch von Interesse festzustellen, ob sich die Fähigkeit, eine Histolyse zu erreichen, nur auf den kleinen der Perforation unterworfenen Bezirk beschränkt, oder ob sie sich auch auf die anstoßenden Gebiete ausdehnt. Zur Aufklärung dieser Frage führten wir Verpflanzungen von einem Hautstückchen operculären Gebietes einer Kaulquappe auf die Stelle einer entfernten operculären Membran einer anderen Kaulquappe aus. Hierbei bemühten wir uns dem Transplantat eine solche Lage zu verleihen, daß sich die Stelle, an der sich die Öffnung bildet, nicht an ihrem gewöhnlichen Orte befand, sondern seitlich verschoben war. Zu diesem Zwecke drehten wir das verpflanzte Hautstück um 180°. Das Bein des Versuchstieres wurde nicht entfernt. Alle Operationen wurden im 1-ten und 2-ten Stadium ausgeführt. Von den Kaulquappen mit gut angewachsenem Transplantat fand bei keiner einzigen eine Perforation an der gewohnten Stelle statt. Wir wollen auf die Kaulquappen Nr. 131, 162 208, 209 hinweisein, die bis zum Stadium 5b beobachtet wurden.,

L. D. Liosner und M. A. Woronzowa:

Das Bein befand sich unter der verpflanzten Haut und führte aktive Bewegungen aus. Trozdem fand eine Perforation an der der Extremität anliegenden Haut nicht statt (Fig. 7). Gleichzeitig konnten wir typische histolytische Erscheinungen an der Stelle beobachten, welche der präsumptiven operculären Öffnung entspricht. Bei den Kaulquappen Nr. 131, 208 und 209 fand eine Verdünnung, bei Nr. 162 eine Perforation statt. Es ist möglich, daß bei einer längeren Beobachtung, die Bildung einer Öffnung bei einer größeren Anzahl von Exemplaren eingetreten wäre. Ferner wollen wir auf die Kaulquappen Nr. 163, 208 a und 241 hinweisen, bei denen das rechte Bein in der Ritze zwischen dem Transplantat und der eigenen Haut hervortrat, infolge eines nicht vollständigen Anwachsens des Transplants. Bei diesen Tieren wurde die verpflanzte Haut auch nicht an der der Extremität anliegenden Stelle histolysiert. Dagegen trat an der der präsumptiven operculären Öffnung entsprechenden Stelle eine Verdünnung ein.

Die Ergebnisse des Versuchs sprechen somit für eine Lokalisierung der Fähigkeit, eine Histolyse auf einen ziemlich beschränkten Bezirk des operculären Gebietes hervorzurufen.

Schluß.

Bei der Verpflanzung der Haut des operculären Gebietes auf den Rücken von in verschiedenen Metamorphosestadien befindlichen Kaulquappen, wurde eine recht bedeutende Autonomie des Prozesses der Metamorphose des Transplantats gezeigt. Die operculäre Öffnung tritt in der Regel unabhängig von der Zeit der Entstehung der Öffnung in der operculären Membran des Wirts auf. Man muß jedoch den in unseren Versuchen erhaltenen Hinweis auf die Beschleunigung der Metamorphose des auf einer ihre Verwandlung beendigenden Kaulquappe befindlichen Hautstückes in Betracht ziehen. Fortgesetzte Untersuchungen in dieser Richtung werden die Möglichkeit geben, die bestehenden Beziehungen klarer darzustellen. Die Tatsache einer Beschleunigung der Metamorphose unter dem Einflusse des inneren Milieus des Wirts, trotz der Fähigkeit der transplantierten Haut zu autonomer Entwicklung, kann uns nicht in Erstaunen versetzen. In den der Metamorphose der Haut und des Auges gewidmeten Arbeiten von Uhlenhut und Weigl wurde die Fähigkeit der metamorphosieren-

246

Mechanismus der Perforation der operculären Membran 247

den Organe sowohl zu synchroner als heterochroner Metamorphose mit dem Organismus des Wirts deutlich gezeigt. Die Verfasser der vorliegenden Arbeit kamen in ihrer Untersuchung der Metamorphose der Haut des Axolotls zu der Schlußfolgerung über den stimulierenden Einfluß des inneren Milieus des in den letzten Metamorphosestadien befindlichen Axolotls auf die Haut von einem in seiner Metamorphose noch nicht so weit fortgeschrittenen Axolotl. Gleichzeitig führt die Haut desselben bei der Verpflanzung zu einem normalen Axolotl ihre Metamorphose auf Grund »des Beharrungsvermögens« zu Ende. In bezug auf die operculäre Membran muß man gewisse Bedingungen, die das ganze Bild noch mehr komplizieren, in Betracht ziehen. Bei der Verpflanzung der Haut des operculären Gebietes auf den Rücken der Kaulquappe sehen wir von dem durch die vordere Extremität ausgeübten Einfluß auf die operculäre Membran ab. Indessen findet derselbe zweifellos statt, wie unsere Versuche gezeigt haben. Somit führt uns die Untersuchung des Metamorphoseprozesses der operculären Membran zu dem Schluß, daß an der Perforationserscheinung eine ganze Reihe von Bedingungen teilnehmen, die auf die Richtung der entstehenden Veränderungen einwirken. Wir haben bereits die Abhängigkeit des Prozesses von den Eigenschaften der Haut des operculären Gebietes, von dem Einflusse der Extremität und von dem inneren Milieu des Organismus (das letzte Moment zwar noch nicht genügend) aufgeklärt. In der vorigen Arbeit erwuchs uns bereits die Frage mit Rücksicht auf die erhaltenen Resultate über die Anwendung des Prinzips der doppelten Sicherung. Das erschien uns jedoch nicht zweckmäßig, insofern als das Prinzip der doppelten Sicherung dem Wesen nach keine Erklärung für den Mechanismus des Prozesses gibt. Außerdem bricht der Begriff der doppelten Sicherung mit der Vorstellung von dem Bestehen indifferenter Faktoren nicht, indem er dem Begriff des bestimmenden Faktors einen, auf der Gegenüberstellung einem indifferenten Faktor begründeten Sinn beilegt. Wir halten eine solche Gegenüberstellung für ganz illusorisch.

Gegenwärtig verfügen wir nicht über genügende Prämissen zur Konstruktion eines Schemas des Perforationsprozesses, unter Berücksichtigung aller an demselben teilnehmenden Bedingungen. Weitere Untersuchungen werden gestatten, größere Klarheit in unsere diesbezüglichen Vorstellungen zu bringen.

Bulletin III. B. II. 1985.

17

L. D. Liosner und M. A. Woronzowa:

Schlußfolgerungen.

1. Bei homoplastischen Verpflanzungen der Haut des operculären Gebietes zwischen Kaulquappen, die sich in verschiedenen Stadien der Metamorphose befinden, wird folgendes Verhalten des Transplantates beobachtet:

A) In den Kontrollversuchen der Verpflanzungen von Haut des operculären Gebietes unter Kaulquappen gleichen Alters wird ein gewisses Verspäten im Erscheinen der Öffnung im Transplantat beobachtet, was damit verknüpft ist, daß die Verpflanzung auf den Rücken ausgeführt wurde und die Metamorphose der Haut somit unter ungewöhnlichen Bedingungen verlief.

B) Bei Verpflanzung der Haut des operculären Gebietes von jungen Kaulquappen bis zu solchen, die in ihrer Metamorphose bereits weit vorgeschritten sind, erscheint die Öffnung im Transplantat bedeutend später als beim Wirt.

C) Trotzdem kann in diesen Versuchen der stimulierende Einfluß des inneren Milieus des Wirts auf die Metamorphose des Transplantates nachgewiesen werden. Dieser Einfluß äußert sich darin, daß dieselbe, obzwar die operculäre Öffnung im Transplantat später als beim Wirt auftritt, doch früher eintritt, als bei den Kontrollkaulquappen (Verpflanzung der Haut zwischen jungen Tieren).

D) Bei Verpflanzungen der Haut des operculären Gebietes von in der Metamorphose weit vorgeschrittenen Kaulquappen bis zu jüngeren Tieren tritt die Öffnung in Transplantat bedeutend früher als in der operculären Membran des Wirts ein. In diesen Versuchen gelang es nicht einen Einfluß des inneren Milieus des Wirts auf die Metamorphose des Transplantates festzustellen.

2. Zwischen den einzelnen Arten der Kaulquappen besteht ein Unterschied in der Fähigkeit der Haut des operculären Gebietes die Perforation bei der Verpflanzung auf den Rücken durchzumachen. Am stärksten ist diese Fähigkeit bei *Rana ridibunda* ausgeprägt, schwächer bei *Rana temporaria*, *Pelobates fuscus* und *Bombina bombina*.

3. Bei Entfernung der vorderen Extremität entsteht die Öffnung in der operculären Membran mit bedeutender Verspätuug. Diese Verspätung ist umso stärker ausgeprägt, je vollständiger die Exstirpation der Extremität ausgeführt ist.
Mechanismus der Perforation der operculären Membran 249

4. In einer Reihe von Fällen bildet sich bei Entfernung der vorderen Extremität der Kaulquappe keine Öffnung in der operculären Membran und es findet nur eine Verdünnung der Haut auf dem Gebiete, das gewöhnlich die Perforation erleidet, statt.

5. Bei Verpflanzung der Rückenhaut auf die Stelle der entfernten operculären Membran bildet sich im Transplantat sogar dann keine Öffnung, wenn sich die Extremität in der Peribranchialhöhle befindet.

6. Die gewonnenen Resultate zeigen, daß die von uns untersuchten Bedingungen, die an dem Perforationsprozesse teilnehmen (Haut, Extremität, inneres Milieu der Kaulquappe) eine Wirkung auf den Charakter des Prozesses ausüben und durchaus nicht indifferente Faktoren sind. Die Aufklärung der wirklichen Bedeutung eines jeden dieser Momente kann nur auf Grund einer Untersuchung der inneren Verhältnisse, welche den Verlauf der Metamorphose bestimmen, erfolgen.

Abteilung der Mechanik der postembryonalen Entwicklung (Vorstand Prof. L. J. Blacher) des Institutes für experimentelle Morphogenese (Dir. R. I. Belkin), Moskau.

Literaturangaben.

1. Blacher L. J., Liosner L. D. und Woronzowa. M. A. Mechanismus der Perforation der operculären Membran der schwanzlosen Amphibien (Zur Frage der sogenannten autonomen und abhängigen Entwicklung der Körperteile metamorphosierenden Amphibien I). Bull. de l'Acad. Polonaise, Série B. 1934. — 2. Uhlenhuth E. Die synchrone Metamorphose transplantierter Salamanderaugen. Arch. Entw.-Mech. Bd. 36, 1913. — 3. Weigl R. Über homöoplastische und heteroplastische Hauttransplantation bei Amphibien mit besonderer Berücksichtigung der Metamorphose. Ibid. Bd. 36, 1913. — 4. Woronzowa M. A. und Liosner L. D. Untersuchungen über die Mechanik der Hautmetamorphose beim Axolotl. (Zur Frage der sogenannten autonomen und abhängigen Entwicklung der Körperteile metamorphosierender Amphibien. III). Zoologische Jahrbücher (Im Druck).

Erklärung der Figuren auf der Tafel 9.

Fig. 1. Die Bildung der operculären Öffnung bei der Transplantation der operculären Haut auf den Rücken. Kaulquappen *Rana temporaria*. Spender-III a Stadium; Wirt-III a Stadium. Die Perforation im Va Stadium.

Fig. 2. Die Bildung der operculären Öffnung bei der Transplantation der operculären Haut auf den Rücken. Kaulquappen *Rana temporaria*. Spender-I Stadium; Wirt-III a Stadium. Die Perforation im VI Stadium.

rcin.org.pl

17*

250 L. D. Liosner und M. A. Woronzowa: Mechanismus u. s. w.

Fig. 3. Die Bildung der operculären Verdünnung bei der Transplantation der operculären Haut auf den Rücken. Kaulquappen *Rana ridibunda*. Spender-III a Stadium; Wirt-I Stadium. Die Perforation im IV Stadium.

Fig. 4. Die Bildung der operculären Öffnung bei der Transplantation der operculären Haut auf den Rücken. Kaulquappen *Rana temporaria*. Spender-III a Stadium: Wirt-I Stadium. Die Perforation im IV Stadium.

Fig. 5. Die Bildung der operculären Öffnung nach der völligen Exstirpation der Vorderertremität. Kaulquappe *Rana temporaria*. Mikrophoto.

Fig. 6. Die Abwesenheit der Perforation der Rückenhaut, die auf der operculären Gegend ohne Extremitätenentfernung transplantiert wurde. Kaulquappe *Rana ridibunda*.

Fig. 7. Die Bildung der operculären Öffnung an der Stelle präsumptiver operculärer Perforation bei Drehung der Haut der operculären Gegend um 180^o. Kaulquappe *Rana temporaria*.

Bulletin de l'Acad. Polonaise des Sciences 1935. Sér. B. II.















L. D. Liosner und M. A. Woronzowa dei.

Pl. 9.



Robaki pasorzytnicze Gobius minutus Pall. z polskiego Bałtyku. – Die parasitischen Würmer von Gobius minutus Pall. des polnischen Balticums.

Mémoire

de M. ST. MARKOWSKI,

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

(Planche 10).

Mit der Frage der Infizierung von Gobius minutus in den polnischen Küstengewässern hat sich bis jetzt niemand näher befaßt. Während meiner Untersuchungen über die Eingeweidewürmer der Fische des polnischen Balticums (1933) habe ich nur die Leibeshöhle des genannten Fisches nachgeprüft und darin die Anwesenheit von Ligula intestinalis L. festgestellt.

Während meiner Studien an *Bothriocephalus scorpii* habe ich bei 520 *Gobius minutus* sehr genau den Verdauungskanal und die Leibeshöhle, dagegen oberflächlicher die Muskeln und Kiemen untersucht.

Die Länge der sektionierten Fische schwankte zwischen 1 und 7 cm. Die letztere Zahl bildet die Maximalgröße, welche von Gobius minutus in unseren Gewässern erreicht wird. Ich verfügte demnach über eine Vergleichskala von sehr kleinen bis zu den größten Fischen. Trotzdem habe ich keine speziellen Unterschiede in der Art der Infizierung abhängig vom Alter der Fische gefunden.

Außer dem parasitischen Befund wurde festgestellt, daß Gobius minutus sich fast zu $90^{\circ}/_{\circ}$ mit Planktonkrebsen ernährt (*Copepoda*, *Cladocera*)¹).

¹) Gobius minutus verschlingt so große Mengen von Planktonkrebsen, daß infolgedessen die Orangenfarbe des mit der Nahrung vollgestopften Darmes durch die Abdominalmuskeln durchleuchtet. Auf den ersten Blick macht das den Eindruck, als ob der Fisch sich in der Laichperiode befände und angeschwollene Gonaden habe

St. Markowski:

Die übrigen ca 10% der Nahrung bilden Amphipoden und Isopoden. Verhältnismäßig selten habe ich kleine Schalen junger Mollusken angetroffen, welche ich näher aber nicht bestimmen konnte. Dagegen wurden niemals Fische als Bestandteil der Nahrung von *Gobius minutus* festgestellt. Die Untersuchungen wurden im Winter (Februar, März) und im Sommer (Juli, August, September) 1934, in der Meeresversuchsstation in Hel durchgeführt.

Auf 520 sektionierte *Gobius minutus* waren 240 infiziert, was etwa 46·1°/₀ beträgt. An der Infektion beteiligten sich vier Gruppen der parasitischen Würmer, welche in dem mir zur Verfügung stehenden Material entweder nebeneinander oder getrennt auftraten. Alle untersuchten Fische stammten aus den Küstengewässern der Umgebung des Hafens von Hel. Den Anteil der einzelnen Gruppen an der Infizierung illustriert die nachstehende Tabelle I.

TABELLE I.

Infizierung von *Gobius minutus* mit den einzelnen Gruppen der parasitischen Würmer.

Parasitengruppe	Zahl der Infizierungsfälle	°/₀
Trematoda	975	3.4
Nematoda	16	4.0
Acanthocephala	5	0.9

Die vier oben genannten Gruppen der parasitischen Würmer sind von 9 Arten repräsentiert, welche auf Tabelle II angegeben wurden. In dieser Zahl wurden 7 Arten zum ersten Mal für *Gobius minutus* notiert und eine davon ist neu für die Systematik.

Die in Tabellen I und II zitierten Daten wurden hauptsächlich in den Sommermonaten (Juli, August, September) gesammelt; in den Wintermonaten (Februar, März) dagegen habe ich nur 3 Arten (*Cryptocotyle concavum, Ligula intestinalis, Bothriocephalus scorpii*) in einer verhältnismäßig kleiner Anzahl von Fischen festgestellt.

Aus beiden Tabellen ergibt sich, daß die *Cestoidea*, was die Zahl der Arten und der Individuen, sowie die Häufigkeit der Infizierung betrifft, weitaus am stärksten repräsentiert sind. Die zweite Stelle nehmen die Trematoden ein und als nächste folgen Nematoden und Acanthocephalen.

Name des Parasiten	Zahl der mit dem gegebe- nen Parasiten infizier- ten Fische	Zahl der Würmer im Wirts- fische	Organ
Asymphylodora demeli	ann beats to burn hitse	S. wind Had	liticated amonth
sp. n	16	1 - 3	intest.
Cryptocotyle concavum (larva)	2	the destable	musc. et branchia.
Caryophyllaeus spec. (juv.).	3	1-3	intest.
Proteocephalus spec	20	1 - 6	>
Rothriocenhalus scorníi	and the second	No. A CONTRACTOR	ventric et
(larva)	240	1 - 30	intest.
Ligula intestinalis	12 000000	1-3	cav. abdom.
Contracoecum aduncum	and internation of the internation of		benfailte.
(larva)	8	1 - 2	intest.
Cucullanus fusiformis .	8	1 - 2	»
Neoechinorhynchus ru-	ab unistic moment alle funda	volational	depicture
tili	17 mondation 5 mm statistics	1-2	mov »Chi
the time of the second	and the second of the second states	and function and	the law a cost of

TABELLE II.

Wir sehen, daß die Parasitenfauna von Gobius minutus sich aus sehr verschiedenen Arten zusammensetzt. Sie umfaßt:

1) fluviatile, aus Süßwasserwirten bekannte Formen wie: Asymphylodora, Caryophyllaeus, Ligula.

2) echt marine Parasiten wie: Bothriocephalus scorpii, Cucullanus fusiformis;

3) und endlich über beide Medien verbreitete Schmarotzer wie Contracoecum und Neoechinorhynchus.

Spezielle Erwähnung verdient das Vorkommen von Caryophyllaeus und Asymphylodora. Diese beiden Gattungen wurden bis jetzt ausschließlich für Cypriniformes verzeichnet. Im Balticum parasitieren sie an Gobius minutus, also in einem, den Acanthopterygii angehörenden Seefisch.

Das Brackwassermilieu unserer Küstengewässer ermöglicht die locale Koexistenz von See- und Süßwasserfischen. Dies macht sich besonders in den Wasserterrains bei Hel bemerkbar, also eben dort, woher die von mir untersuchten *Gobius minutus* stammten. Demnach ist die Möglichkeit vorhanden, daß die Seefische sich mit parasitischen Würmern infizieren, welche normalerweise in Süßwasserwirten leben. Es ist schwer zu entscheiden, wie weit diese Erscheinung in der Richtung der Hochsee vordringt. Auf

Grund der Widerstandsfähigkeit der Eier von Bothriocephalus scorpii gegen Veränderungen des Salzgehaltes dürfte man wohl annehmen, daß die Larven der parasitischen Würmer aus Süßwasserfischen in der Ostsee ziemlich weit hinaus verbreitet sind und sogar dort vorkommen, wo infolge zu hohen Salzgehaltes keine unmittelbare Berührung der See- mit Süßwasserfischen mehr stattfindet. Unzweifelhaft sind die aus Eiern ausgeschlüpften Larven ebenfalls gegen Schwankungen des Salzgehaltes unempfindlich und können mit den Strömungen gegen die Hochsee zu getrieben werden, dorthin sogar, wo der allzu hohe Salzgehalt ihre Süßwasserwirte verdrängt. Es wäre ebenfalls anzunehmen, daß die aus Eiern ausgeschlüpften Larven in dem für sie neuen Meeresmilieu neue Zwischenwirte finden.

Die aus der mir zugänglichen Literatur zusammengestellte Parasitenliste für *Gobius minutus* unterscheidet sich gänzlich von derjenigen, welche sich aus meinen Befunden ergibt ¹).

Die von anderen Autoren untersuchten Fische stammten meistenteils aus der Nordsee und dem Adriatischen Meere. Von den dort festgestellten Arten habe ich keine einzige in *Gobius minutus* aus den polnischen Küstengewässern gefunden.

Trematoda.

Die von mir gefundenen Saugwürmer repräsentieren zwei Familien: Monorchiidae und Cryptocotylidae.

I. Fam. Monorchiidae:

Asymphylodora demeli sp. nova. Taf. 10. Fig. 1-4.

Dieser Saugwurm wurde im Darm vom 16 Fischen in der allgemeinen Zahl von 20 Individuen gefunden. Die Schmarotzer wiesen verschiedene Stadien der Geschlechtsreife auf.

¹) Gyrodactylus elegans v. Nordm., (Distomum) flavescens v. Bened, (Distomum) gobii Rentsch, Scolex polymorphus Rud., Cestoscolex v. Bened., Pomphorhynchus proteus (Zoega, Müller). In der Liste der parasitischen Würmer von Fischen, welche Nicoll 1915 anführt. sind zwei Arten von Trematoden als »Distomum« und nämlich als (Distomum) flavescens und (Distomum) gobii zitiert worden. Nach der Zeichnung und der sehr flüchtigen Beschreibung von v. Beneden 1870 ist die gegenwärtige Gattungsangehörigkeit von D. flavescens sehr schwer zu bestimmen. Auf Grund der Zeichnung dürfte man annehmen, daß die von v. Beneden beschriebene Form der Gattung Monorcheides angehört.

Odhner 1901 zählt (Distomum) gobii zur Gattung Allocreadium.

Der rostbräunlich gefärbte, ovale Körper ist am Vorderende mit sehr kleinen Stacheln besäht, welche nur im lebendigen Zustande gut sichtbar sind. Die Stacheln sind auf den beigefügten Zeichnungen nicht vermerkt worden.

Die Körperlänge beträgt 285 bis 900 μ ; Körperbreite von 180 bis 450 μ . Der Mundsaugnapf mißt 68-136 $\mu \times 68$ -136 μ . Die Länge des Pharynx schwankt zwischen 41 und 90 μ ; Breite des Pharynx 27-82 μ . Der Oesophagus ist kurz, gerade und bildet keine Biegungen.

Der Bauchsaugnapf liegt auf der Höhe der Darmgabelung und besitzt den Durchmesser von 82—177 $\mu \times 82$ —190 μ . Auf dem inneren Rande des Bauchsaugnapfes befinden sich in fast gleichen Abständen 6 warzenartige Gebilde. Diese Verhältnisse sind nur im lebendigen Zustand wahrnehmbar, und deswegen auf den Zeichnungen nicht vermerkt worden. Die einzelne, nach hinten zu verschobene Hode liegt in der Medianlinie unter den Saugnäpfen und besitzt den Durchmesser von 41—163 $\mu \times 35$ —122 μ . Der Cirrusbeutel ist seitlich, unterhalb des Bauchsaugnapfes gelegen und mißt in der Länge: 82—136 μ ; in der Breite: 27—49 μ . Der etwas schräg über der Hode gelegene Keimstock hat eine rundliche, ziemlich abwechselnde Form und mißt: 22—125 μ in der Länge und 16—122 μ in der Breite.

Der Metraterm mit stachelartiger Innenstruktur liegt unter dem Cirrusbeutel und besitzt eine Länge von $54-82 \mu$; seine Breite beträgt $27-46 \mu$. Das Ei ist leicht birnenförmig, im Hinterende mit knopfartigem Filament versehen. Dieses Merkmal tritt nicht bei allen Eiern zum Vorschein. Die Ausmaße der Eier betragen: Länge $22-27 \mu$; Breite $11-14 \mu$. Die stark ausgebildeten Dotterstöcke sind aus zwei Komplexen rundlicher Drüsen zusammengesetzt, von welchen zwei Dottergänge auf beiden Körperseiten abgehen. Die Dottergänge verbinden sich in einen querliegenden Kanal, welcher zwischen der Hode und dem Keimstock verläuft, wie das auf Fig. 1-2 Taf. 10 zu sehen ist. Die Dotterstöcke beginnen auf der Höhe des oberen Randes des Keimstockes und verlaufen fast bis zum hinteren Körperende. Diese Lage der Dotterstöcke iet eine Konstante bei allen Individuen.

Aus den oben angeführten Daten ist ersichtlich, daß die Aus-

255

St. Markowski:

maße der Organe großen Schwankungen unterliegen ¹). Diese Tatsache ist leicht erklärbar, da ich die Ausmaße aller gefundenen Individuen angebe, deren Körperlänge sich, wie gesagt, in den Grenzen von 285 bis 900 μ bewegt.

Witenberg und Eckmann 1934 beschreiben Asymphylodora tincae vom Darm des Cyprinus carpio aus dem Antiochsee in Syrien. Die Autoren sind geneigt, auf Grund der Veränderlichkeit in der Lage der Organe bei dieser Form alle bis jetzt bekannte Arten Asymphylodora auf Asymphylodora tincae (Moedeer 1790) zurückzuführen. Die Autoren erwähnen jedoch nirgends, auf welcher Anzahl von Individuen sie die Veränderlichkeit in der Lage der Organe nachgeprüft haben. Ebenfalls verfügten sie über kein Vergleichsmaterial und stützten ihre Erwägungen nur auf Beschreibungen einzelner Autoren.

In dem von Witenberg und Eckmann angeführten Verzeichnis der bis jetzt beschriebenen Asymphylodora-Arten wurde die von Ozaki beschriebene Art Asymphylodora macrostoma Ozaki 1925 weggelassen. Es scheint jedoch keinem Zweifel zu unterliegen, daß die Ausmaße, welche Ozaki für die Eier von Asymphylodora macrostoma angibt, einem Druckfehler zuzuschreiben sind. Trotzdem weist die von Ozaki für Asymphylodora macrostoma angegebene Zeichnung und Beschreibung darauf hin, daß seine Form von Asymphylodora tincae abgesondert und als eine selbstständige Art betrachtet werden mag. Die Rückführung aller bis jetzt bekannter Arten Asymphylodora auf eine, nämlich auf A. tincae, ohne über ein Vergleichsmaterial zu verfügen, ist meiner Meinung nach ziemlich voreilig. Das von mir beschriebene Asymphylodora demeli sp. n. unterscheidet sich von anderen Asymphylodora-Arten 1) durch eine beständige Lage der Dotterstöcke in der hinteren Körpergegend; 2) durch kleinere Ausmaße des Cirrusbeutels; 3) durch einen kurzen und geraden Oesophagus und 4) durch die Gestalt der Eier.

Die Species wurde mit dem Namen des langjährigen Leiters des Seefischereilaboratoriums in Hel Herrn Kazimierz Demel benannt.

¹) Alle Messungen wurden an Exemplaren unternommen, welche im Sublimat konserviert waren.

Parasitische Würmer von Gobius minutus Pall.

II. Fam. Heterophyidae.

Cryptocotyle concavum (Creplin 1825).

Die Metazerkarien dieser Trematoden waren in den Muskeln und auf den Kiemen von *Gobius minutus* eingekapselt. Ich gebe keine genauen statistischen Daten für die Häufigkeit des Auftretens dieser Art, da nicht bei allen sektionierten Fischen die Muskeln und Kiemen untersucht wurden.

Cestoidea.

Die Bandwürmer bilden die maximale Infizierung von Gobius minutus. Die erste Stelle nimmt in dieser Hinsicht das Larvalstadium von Botriocephalus scorpii ein, nachher folgen der Reihe nach: Proteocephalus sp., Ligula intestinalis und endlich Caryophyllaeus sp. Alle genannten Arten habe ich entweder nebeneinander oder getrennt angetroffen.

Die einzelnen Abschnitte des Verdauungskanals beherbergen entsprechende Bandwurmarten. Den Magen und einen unbedeutenden Teil des Darmes behaftet die Larve von Bothriocephalus scorpii. Im weiteren Darmabschnitte tritt Proteocephalus sp. auf, und erst hinter ihm Caryophyllaeus sp.

III. Fam. Caryophyllaeidae.

Caryophyllaeus sp. Taf. 10, Fig. 7.

Dieser Bandwurm wurde 3 mal festgestellt. Die Gesamtzahl der gefundenen Individuen betrug 6 Exemplare. Alle waren geschlechtlich unreif und besassen nur Anlagen von Geschlechtsorganen. Die Körperlänge schwankte in den Grenzen von 2 bis 3 mm; Körperbreite von 600 bis 675 μ . Der stark metabolische Scolex besaß die Länge von 225 bis 600 μ ; Breite des Scolex 450-870 μ . Auf Grund der Gestalt des Scolex dürfte man annehmen, das die von mir gefundenen jungen Individuen der Art *Caryophyllaeus laticeps* (Pall. 1781) angehören.

IV. Fam. Proteocephalidae.

Proteocephalus spec. Taf. 10, Fig. 5.

Auf die allgemeine Zahl von ca 100 Individuen, welche im Darm von 20 Fischen festgestellt wurden, habe ich nur einmal eine geschlechtsreife Form gefunden, deren Uterus reife Eier mit

257

entwickelten Embryonen enthielt. Während meiner Untersuchungen über die Fische des polnischen Balticums habe ich diese Art ebenfalls im Darm von Syngnathus typhle gefunden (Markowski 1933). In beiden Fällen konnte ich wegen allzu spärlichen Vergleichsmaterials diese Form nicht genau bestimmen. Die Länge der geschlechtlich unreifen Individuen schwankte von 405 μ bis 2 mm; Breite von 195 bis 440 μ . Der Scolex besaß 4 Saugnäpfe und einen Scheitelorgan. Die Ausmaße der Saugnäpfe betrugen 52-54 $\mu \times 60-68 \mu$. Das Scheitelorgan: Länge 27-41 μ ; Breite 27-41 μ .

V. Fam. Ptychobothriidae.

Bothriocephalus scorpii (Müller 1776 (larva). Taf. 10, Fig. 6.

Das Larvalstadium tritt bei *Gobius minutus* sehr häufig auf (Tab. II). In 240 infizierten Fischen habe ich ca 1200 Larven dieses Bandwurms gefunden.

VI. Fam. Ligulinae.

Ligula intestinalis (Linn. 1758).

Bei 12 infizierten Fischen wurden ca 20 Individuen in der Leibeshöhle festgestellt. Die Größe der Bandwürmer schwankte von 4 mm bis 6 cm. Im allgemeinen tritt dieser Bandwurm häufiger im Frühling (April) auf.

Nematoda.

In 16 Exemplaren der infizierten Fische wurden 2 Nematodenarten festgestellt, welche bis jetzt für *Gobius minutus* noch nicht notiert waren. Außerdem habe ich auf der Leber sehr junge Larvalstadien gefunden, deren Artangehörigkeit ich nicht bestimmen konnte. Deswegen wurden sie in die Tabellen nicht aufgenommen.

VII. Fam. Heterocheilidae.

Contracoecum aduncum (Rud. 1802) larva.

Einer der häufigeren Parasiten der Ostseefische. In Gobius minutus habe ich das Auftreten dieses Nematoden im Darm festgestellt. In 8 infizierten Fischen wurden 10 Exemplare Contracoecum aduncum gefunden. Alle waren geschlechtlich unreif und besassen im vorderen Körperende einen larvalen Bohrzahn. Die Länge der Larven schwankte von 0.5 bis 1.7 cm.

259

VIII. Fam. Cucullanidae.

Cucullanus fusiformis (Mol. 1860).

Sehr gemein bei *Pleuronectes flesus*. Bei *Gobius minutus* habe ich die Form in 8 Individuen gefunden.

Acanthocephala.

Die Kratzer bilden einen minimalen Infizierungsprozent. Ich habe nur eine Art gefunden, die sowohl in Süßwasserfischen als in Seefischen schmarotzt.

IX. Fam. Neoechinorhynchidae.

Neoechinorhynchus rutili (Müller 1780).

Die Anwesenheit dieses Parasiten wurde bei 5 Fischen festgestellt. Die Gesamtzahl der gefundenen Würmer betrug 5 Exemplare $(4_{O^7} - 1_{Q})$.

Zoologisches Institut der Universität Warszawa¹) und Meeresversuchsstation Hel.

Literaturverzeichnis.

1. Beneden van P. J., 1870. Les poissons des Côtes de Belgique, leurs parasites et leur commenseaux. - 2. Diesing K., 1851. Systema Helminthum. Vindobonae. — 3. Hausmann L., 1897. Ueber Trematoden der Süßwasserfische. Rev. Suisse de Zool. Bd. 5. - 4. Linstow O., 1878. Compendium der Helminthologie. Hannover. - 5. Loos A., 1894. Die Distomen unserer Fische und Frösche. Bibliotheca Zoologica. Bd. 6 Heft 16. -6. Lühe M., 1909. Trematodes. Süßwasserfauna Deutschlands. - 7. Markowski St., 1933. Die Eingeweidewürmer der Fische des polnischen Balticums. Arch. Hydrob. i Ryb. Vol. 7. - 8. Markowski St., 1935. Über den Entwicklungszyklus von Bothriocephalus scorpii (Müller 1766). Bull. Acad. Polon. d. Sc. et d. Lett. Sér. B. Sc. Nat. (II). - 9. Markowski St.-1935. Einfluß der Milieuveränderungen auf die Entwicklung der Eeier von Bothriocephalus scorpii (Müller 1776). Bull. Acad. Polon. de Sc. et d. Lett. Sér. B. Sc. Nat. (II). - 10. Meyer A., 1933. Acanthocephala in Bronn Klassen u. Ordnungen Bd. 4. - 11. Nicoll W., 1915. A list of the Trema, tode parasites of British marine fishes. Parasitology vol. 7 N. 4. - 12. Odhner T., 1911. Zum natürlichen System der digenen Trematoden II. Zool. Anz. Bd. 37 N. 12/13. - 13. Ozaki Y., 1925. On a new genus of Fish Trematodes. Genarchopsis and a new species of Asymphylodora. Jap. Journ.

¹) Die Ausführung obiger Arbeit wurde mir durch ein Subsidium seitens des Fundusz Kultury Narodowej (Nationalkulturfonds) ermöglicht.

of Zool. Vol. 1, — 14. Stossich M., 1898. Saggio di una fauna elmintologica di Trieste e Provincie Contermini. Program. d. Civica Scuola Super. Trieste. — 15. Witenberg G., Eckmann F., 1934. Notes on Asymphylodora tincae (Trematoda). Ann. Mag. Nat. Hist. Ser. 10. Vol. 14. — 16. Zschokke F., 1884. Recherches sur l'organisation et la distribution zoologique des vers parasites des Poissons d'eau douce. Dissertation. — 17. Zschokke F., 1933. Die Parasitenfauna der Gattung Coregonus. Rev. Suisse de Zool. Vol. 40. N. 32.

Erklärung der Tafel 10.

Fig. 1—5. Asymphylodora demeli sp. nov. Individuen in verschiedenen Stadien der Geschlechtsreife. Vergr. ca $\times 100$.

m = metraterm,

o = ovarium,

t = testis,

v = vitellaria.

Fig. 4. Ei von Asymphylodora demeli sp. nov. Vergr. ca \times 800.

Fig. 5. Proteocephalus sp. Junges Individuum. Vergr. ca \times 80.

Fig. 6. Bothriocephalus scorpii. Larvalstadium. Vergr. ca \times 40.

Fig. 7. Caryophyllaeus sp. Vergr. ca \times 30.

260



St. Markowski.

Z. Raabe del.



Naczynia krwionośne mózgu śluzicy (Myxine glutinosa). Über die Blutgefäße des Gehirns von Myxine glutinosa L.

Mémoire

de M. R. TOWARNICKI,

présenté le 3 juin 1935, par M. H. Hoyer m. t.

(Planche 11).

Schrifttum und Material.

Über die Verteilung der Blutgefäße am Gehirn von Myxine liegen nur wenige Beobachtungen vor. Müller, Cole und Grodziński haben eine Übersicht über die Blutgefäße des Körpers gegeben, dieselben aber nur bis zum Gehirn verfolgt. Sterzi allein beschreibt in seinem Werke über das Nervensystem der Wirbeltiere auch die Gehirngefäße. Da letzterer aber seine Untersuchungen an nur spärlichem und erst nach der Fixierung injiziertem Materiale ausgeführt hat, war es ihm nicht möglich, verschiedene Einzelheiten zu erkennen. Deshalb beschloß ich, die in den Beschreibungen noch vorhandenen Lücken zu vervollständigen und die bei Myxine bestehenden Verhältnisse mit denen anderer Wirbeltiere zu vergleichen.

Das Material stammte aus Bergen in Norwegen, wo es von Grodziński mit Berlinerblau injiziert und in Bouin'scher Flüssigkeit fixiert wurde. Behufs Darstellung der Gefäße wurden an 15 Exemplaren die Gehirne von den Muskel- und Knorpelteilen befreit, aber in der bindegewebigen Hülle belassen. Alsdann wurden die Gehirne mit Cederholzöl, seltener nach der Spalteholz'schen Methode aufgehellt.

Die ein- und ausführenden Blutgefäße der Gehirnhüllen.

Im vorderen Teile des Körpers der *Myxine* verlaufen drei Arterien parallel zueinander. Die eine von ihnen ist unpaar (Taf. 11, Fig. 1. a. v. i.) und liegt als Fortsetzung der Aorta unter der Chorda,

die beiden anderen verlaufen als *Aa. carotides communes* (Fig. 1. a. cm.) zu beiden Seiten der vorhergehenden und sind ventralwärts verschoben.

Die Aa. carotides communes (Müller, Cole, Grodziński) teilen sich in der Nähe des Schädels in die Aa. carotides externae und internae (Fig. 1. a. c. e., a. c. i.). Die ersteren verlaufen nach vorn an den Seiten des Kopfes. Sie geben an ihrem Ursprung die A. linguomuscularis (Müller, Grodziński) an den Zungenaparat und seine Muskeln ab (Fig. 1. a. lm., Ap. lm.). Die Aa. carotides internae verbinden sich unter der Chorda zu einem unpaaren Gefäß, nähmlich zu der A. vertebralis capitis (Fig. 1, 2. a. v. c.).

Die A. vertebralis impar (Müller, Cole, Grodziński) gibt nach vorn längs ihrem Verlaufe mehrere Aa. segmentales ab (Fig. 1. a. s.). Sie läuft an ihrem Ende in zwei Arme aus, die sich mit den Aa. carotides internae verbinden. Von den gegabelten Armen der A. vertebralis impar zweigt sich jederseits die A. auricularis (Grodziński) zu den Gehörkapseln ab (Fig. 1, 2. a. a., Au.).

Die A. vertebralis capitis (Müller, Cole, Grodziński) entsteht aus der Vereinigung der Aa. carotides internae als ein unpaares Gefäß. Sie verläuft anfangs dicht unter der Chorda und dringt im Gebiet der Gehörkapseln durch eine Öffnung in die bindegewebige Gehirnhülle dort ein, wo das Rückenmark ins verlängerte Mark übergeht. Alsdann teilt sie sich in zwei Arme, in die Aa. carotides cerebri (Sterzi, Cole), welche weiter in der Wand der Gehirnhülle an den Seiten des Hirnbodens bis zum Endhirn sich fortsetzen (Fig. 2. a. c. c., Tel.). An dieser Stelle treten sie aus der bindegewebigen Gehirnhülle heraus und wenden sich nach kurzem Verlaufe nach unten bis zum Gaumen, wo sie als Aa. palatocerebrales enden.

Außer den Gehirnarterien, welche ich in dem nächsten Abschnitte beschreibe, zweigen sich von den Aa. carotides cerebri noch die Gesichtsgefäße ab, und zwar von der Seite der A. carotis cerebri in der Höhe der Hypophyse (Fig. 2. H.) mit einem gemeinsamen kurzen Stamme, der Truncus facialis (Fig. 2. tr. f.), welcher sich in zwei Arterien teilt. Die eine von ihnen, die A. facialis (Fig. 1, 3. a. fc.) durchbricht unweit ihres Anfanges die bindegewebige Gehirnhülle und endet außerhalb von ihr in den zwischen dem Zungenapparat- und dem Pterygoidalknorpel ausgespannten Muskeln. Die zweite, die A. oculo-nasalis (Fig. 1, 3. a. o. n.) verläuft nach vorn und teilt sich in der bindegewebigen Gehirnhülle in zwei Arterien, von denen jede sich ausserhalb der Gehirnhülle noch in zwei im Auge und im Riechorgan endenden Aste teilt (Fig. 1. Oc., Ap. o.). An der Verzweigungsstelle in der Höhe des vorderen Teiles des Endhirns enden die ersteren von ihnen als Aa. ophtalmicae in der Augenkapsel (Fig. 3. Oc, a. o.), indem sie auf derselben ein Gefäßnetz bilden; von den beiden anderen verläuft die eine in einen großen Bogen medianwärts vor dem Riechlappen als A. olfactoria (Fig. 3. L. o., a. ol.) und gibt viele Zweigchen zwischen die Knorpel des Riechorgans ab, die zweite verläuft als A. nasalis weiter zur Nase der Längsachse des Tieres parallel (Fig. 3. a. n.).

Von den Venen, welche die Halsarterien begleiten, sind die Vv. cardinales anteriores (Müller, Cole, Grodziński) zu erwähnen. Sie verlaufen den Halsarterien parallel, sind aber im Verhältnis zu den letzteren mehr lateral- und ventralwärts verschoben. Sie nehmen längs ihres Verlaufes die Vv. segmentales auf (Fig. 1. v. s.). In die Halsvenen münden auch die VV. cardinales anteriores profundae, die das Blut aus dem Gesichtsteile des Kopfes, und zwei Vv. cardinales anteriores superficiales, die das Blut aus der Gehirnhülle sammeln (Fig. 1. v. cd. a., v. cd. s.). Die V. cardinalis anterior profunda und superficialis vereinigen sich miteinander in der Nähe des Pharynx und bilden die gemeinschaftliche V. cardinalis anterior.

Die eigentlichen Blutgefäße des Gehirns.

Von der A. carotis cerebri gehen von der Gehirnkapsel auf die Oberfläche des Gehirns in der Reihenfolge von hinten nach vorn folgende Arterien über: die A. rhombencephalica, die A. cerebralis posterior, die A. cerebralis media und die größte von ihnen, die A. cerebralis anterior. Diese Arterienäste bilden weiterhin Gefäßnetze, welche schon in der primitiven Gehirnhaut liegen.

Die A. rhombencephalica (Taf. 11, Fig. 2. a. r.), verläuft als kleiner Seitenzweig (Sterzi) der A. carotis cerebri nach vorn vor der Gehörkapsel und teilt sich nach kurzem Verlaufe in zwei kleine Aste, den Ramus anterior et posterior (Fig. 2. r. a., r. p.), die sich ins Gefäßnetz des verlängerten Markes auflösen. Der Ramus anterior richtet sich gewöhnlich nach dem vorderen Teil des 18

Bulletin III. B. II. 1935.

verlängerten Markes, doch gibt es auch Fälle, in welchen beide Äste nach vorn oder nach hinten verlaufen.

Die A. cerebralis posterior (Fig. 1, 2. a. c. p.), ist dicker als die vorhergehende, sie geht vom äußeren Rande der A. carotis cerebri aus und teilt sich bald in zwei kleine Arterien, von denen eine in die seitliche Wand des verlängerten Markes dringt, die zweite auf seine Dorsalseite übergeht und dort endet.

Die A. cerebralis media (Fig. 1, 2. a. c. m.) entspringt unweit der vorherigen Arterie an der äußeren Seite der A. carotis cerebri und verläuft der Mitte des Hirns zustrebend zum Boden des Zwischenhirns, wo sie endet. Nach kurzem Verlaufe gibt sie medialwärts die A. infundibularis (Fig. 2. a. c. i.) ab, welche bis zum infundibularen, basalen Teile der Hypophysis reicht.

Die A. cerebralis anterior (Fig. 1, 2. a. c. a.) ist die größte der oben erwähnten seitlichen Abzweigungen der A. carotis cerebri (Sterzi). Sie zweigt sich von der letzteren in der Höhe der Hypophysis ab, verläuft der Längsachse des Gehirns parallel und geht unter dem Endhirn auf die Riechlappen über. Ihr erster Ast, der dicht an ihrem Ursprung entspringt, ist die A. hypophysealis (Sterzi). Die weiteren sich von ihr abzweigenden Äste verlaufen lateral, verbreiten sich an den vorderen Teilen des Endhirns als Aa. prosencephalicae (Fig. 2. a. p.) und gehen unter vielfachen Verzweigungen in das Gefäßnetz über, welches die Oberfläche des Hirns bedeckt. Der Endabschnitt der A. cerebralis anterior gelangt auf die Riechlappen, an deren vorderem Rande derselbe auf der Dorsalseite zwischen den Riechnerven in Form der kleinen Aa. lobi olfactorii endet (Taf. 11, Fig. 3. a. c. o.).

Die beschriebenen Arterien gehen alle in das Gefäßnetz von verschieden großen Maschen über, welches sich in der ursprünglichen, undifferenzierten Gehirnhaut der Ventral- und Dorsalseite des Hirns befindet. Von diesem Gefäßnetze zweigen sich schwache, aber zahlreiche Gefäßchen in das Innere des Hirns ab. Die Hauptvenen, welche das Blut aus dem Hirn aufnehmen, befinden sich auf der Dorsalseite desselben, reichen aber mit seitlichen Zweigen auch auf die Seiten und teilweise noch bis auf die Hirnbasis. Sie stehen mit den Gefäßnetzen der Gehirnhaut und den das Gehirn von unten nach oben umkreisenden Gefäßen in Verbindung. Die Venen verlaufen in den Furchen, die die einzelnen Gehirnabschnitte voneinander abgrenzen, so daß man einen länglichen, durch die Längsfurche des Hirns verlaufenden Venenstamm und eine Reihe von Lateralvenen unterscheiden kann.

Der venöse Gefäßstamm ist der Sinus sagittalis (Fig. 1, 3. s. s.), welcher in der medianen Längsfurche zwischen der rechten und linken Hälfte des Hirns von den Riechlappen bis zum verlängerten Mark verläuft. In ihm münden folgende Venen: die V. olfactoria media, die Vv. olfactoriae laterales, V. cerebralis anterior, V. cerebralis media und V. rhombencephalica. Dieser Sinus teilt sich im hinteren Teile in zwei Arme, mit denen er in die Vv. cardinales anteriores superficiales mündet.

Sein Verlauf ist nicht geradlinig, da derselbe sich an den Stellen, wo Querfurchen sind, leicht einsenkt und besonders stark in der Gegend des Mittelhirns, welches tiefer als die benachbarten Gehirnabschnitte liegt. Ferner besitzt der *Sinus sagittalis* in seinen verschiedenen Abschnitten einen verschiedenen Durchmesser und macht daher den Eindruck eines wellenförmig verlaufenden Gefäßes.

Den vorderen Zufluß des Sinus bildet eine unpaare Vene, die V. olfactoria medialis (Fig. 3. v. o. m.), welche in der Furche zwischen den Riechlappen liegt. Diese Vene kommt von der Ventralseite des Endhirns und mündet in der Gegend der Epiphyse in den Sinus sagittalis. Die ersten paarigen Venen, die in den Sinus münden, sind die Vv. olfactoriae laterales (Fig. 1, 3. v. o. l.). welche beiderseits in der Furche zwischen den Riechlappen und dem Endhirn liegen. Sie entspringen auf der Ventralseite und sammeln das Blut aus den Riechlappen und dem Endhirn. Die folgende V. cerebralis anterior (Fig. 1, 3. v. c. a.), deren Anfang nicht so weit auf die Ventralseite als die vorhergehende Vene reicht, läuft in der Furche zwischen dem Endhirn und Zwischenhirn und sammelt Blut aus beiden Abschnitten des Vorderhirns. Die V. cerebralis media (Fig. 1, 3. v. c. m.) verläuft in der Furche zwischen dem Zwischen- und Mittelhirn und nimmt das Blut überwiegend aus dem Mittelhirn auf. Die letzte Vene, die V. rhombencephalica (Fig. 1, 3. v. r.) nimmt als deutlich ausgebildetes Gefäß auf der Ventralseite des Gehirns ihren Ursprung und verläuft seitwärts auf die Dorsalseite, wo sie sich mit dem Sinus vereinigt. Diese Vene sammelt Blut aus dem Trigeminuslappen und dem gesamten verlängerten Marke.

Kaudal verbindet sich der Sinus sagittalis mit der linken und der rechten V. cerebralis posterior (Fig. 1, 3. v. c. p.). Die Venen

18*

befinden sich an der Oberfläche des hinteren Teiles des verlängerten Markes auf der Höhe der Gehörkapsel. Nach dem Durchbruche durch die bindegewebige Gehirnhülle verlaufen sie nach außen und nach dem hinteren Rande der Gehörkapsel, wo sie sich in die *Vv. cardinales anteriores superficiales* fortsetzen (Fig. 1. v. d. s.).

Mit den Gehirngefäßen der Bdellostomiden, von denen Worthington *Bdellostoma dembeyi* und Sterzi *Homea stouti* untersucht haben, läßt sich einstweilen kein Vergleich durchführen, da die Beschreibungen der Gehirngefäße dieser Arten bis jetzt zu unvollständig sind.

Vergleichende Anatomie der Gehirngefäße der Myxine.

Wie bekannt, setzt sich der Circulus Willisi des Menschen aus den miteinander vorne verbundenen Aa. cerebrales anteriores und der aus den Aa. cerebrales vertebrales stammenden A. basilaris und aus den Rami communicantes posteriores, welche den hinteren Verschluß des Arterienrings bilden, zusammen.

Bei der *Myxine* und auch beim Neunauge ist ein geschlossener Ring der Hirnarterien weder im vorderen noch im hinteren Teile des Gehirns vorhanden. Die *Aa. cerebrales anteriores* verlaufen zwar am verbreiteten Vorderhirn bis zu den Riechlappen, treten aber weder vorne noch hinten miteinander in Verbindung, so daß von einem *Circulus* nicht gesprochen werden kann. Der Grund hierfür ist wohl in der tiefen Entwicklungsstufe der Cyclostomen zu suchen. Denn schon bei Selachiern (Hyrtl) findet sich die hintere Vereinigung des *Circulus*, ebenso nach Socha beim Frosch, bei *Squalus* nach Hyrtl auch noch die vordere.

Die Venen der *Myxine* sind wie bei höheren Wirbeltieren vornehmlich auf der Dorsalseite des Gehirns angeordnet, und zwar verläuft über die Mitte des Gehirns ein Längsstamm, in welchen eine Reihe von Quergefäßen mündet.

Während bei *Tropidonotus* im Gebiet der Längsvene zwei quere Venen in Gestalt von *Sinus* auftreten: ein vorderer zwischen dem Vorderhirn und dem Mittelhirn und ein hinterer zwischen dem Mittelhirn und dem verlängerten Marke (Grodziński), sind bei der *Myxine* meist vier Quervenen aber kein *Sinus* vorhanden, was in der primitiven Form des Myxinegehirnes im Verhältnis zum Schlangenhirn seine Erklärung findet. Der *Plexus* chorioideus legt sich zwar nach Holmgren im vierten Ventrikel an, geht aber später bei erwachsenen Schlangen zugrunde (Edinger).

Das Blut aus dem Hirn leiten bei den Amnioten zwei Venen ab, von denen die eine vor und die andere hinter dem Gehörorgan liegt; die tetztere ist der Sinus occipitalis, welcher sich aus der V. cerebralis posterior bildet. Beide Gefäße münden in die V. capitis lateralis oder in die ihr zugehörigen Venen (Grodziński). Bei der Myxine sammelt sich Blut in Längsstamm des Gehirns und mündet dann nur mittels einer Vene, der V. cerebralis posterior in die V. cardinalis anterior superficialis. Die V. cerebralis posterior würde somit dem Sinus occipitalis der höheren Wirbeltiere entsprechen. Was die Anamnia anbelangt, so fließt das Blut aus dem Gehirn auch bei Selachiern und Urodelen mittels zweier Gefäße ab (Rex). Nur das Venensystem des Frosches erinnert insofern an die bei Myxine herrschenden Verhältnisse, als auch dort nur eine das Blut aus dem Gehirn ableitende Vene vorhanden ist und zugleich auch die Quersinus fehlen (Socha). Ein Unterschied besteht insofern, als beim Frosch die aus dem Schädel austretende Vene vor dem Gehörorgan liegt, während sie bei der Myxine hinter der Gehörkapsel liegt. Beim Frosche sind die einzelnen Gehirnbläschen wie bei der Muxine hintereinander angeordnet, ohne durch tiefe Einsenkungen getrennt zu sein. Daher können sich keine quer verlaufende Sinus, sondern nur quer angeordnete Venen ausbilden.

Die stärksten Gefäße treten bei der Myxine im vorderen Teil des Gehirns auf. Die A. cerebralis anterior, die größte der Gehirnarterien, versorgt das Endhirn samt den Riechlappen. Unter den Venen besitzt die Myxine drei stark entwickelte Riechvenen, die das Blut aus den Riechlappen ableiten. An Stärke kommt ihnen noch die V. rhombencephalica nahe, die das Blut aus dem Lobus N. trigemini sammelt. Es ist dies wohl damit in Zusammenhang zu setzen, daß die Myxine sich hauptsächlich mittels der Riech- und Tastorgane orientiert und daher die Riech- und Trigeminuslappen so stark entwickelt sind.

Wenn man die Blutgefäße des Gehirns der verschiedenen Wirbeltiere miteinander vergleicht, so kann man eine gewisse Steigerung in der Entwicklung des Blutgefäßsystems feststellen. Die niedrigste Stufe bezüglich der Entwicklung der Arterien

finden wir bei der Myxine und beim Neunauge, bei denen die Hauptarterien der rechten und linken Seite des Gehirns miteinander nicht anastomosieren. Die zweite Stufe tritt im Hirn bei manchen Selachiern und beim Frosch auf, bei welchen sich die Hauptarterien im Gebiet des verlängerten Markes miteinander verbinden, im vorderen Teil des Gehirns aber noch gesondert verlaufen. Die dritte Stufe stellen einige Selachierarten und die Amnioten dar. bei denen ein geschlossener Circulus Willisi vorhanden ist. Bezüglich der Anordnung der Venen, kann man zwei Typen unterscheiden. Das Venensystem des Gehirns der Myxine und des Frosches stellen einen Typus dar. Bei beiden Formen ist der vollständige Mangel von Quersinus festzustellen und nur eine Vene führt Blut aus dem Gehirn ab. Beim Frosche liegt diese Vene vor und bei der Myxine hinter dem Gehörorgan. Der zweite Typus findet sich im Gehirn gewisser Anamnier und aller Amnioten, bei denen Quersinus und ferner Plexus chorioidei existieren und zugleich zwei das Blut vom Gehirn ableitende Venen auftreten, welche vor und hinter dem Gehörorgan liegen.

Die Gefäßvarietäten des Gehirns der Myxine.

Die Unbeständigkeit der Gefäße bezüglich ihres Vorhandenseins, Verlaufes und Aussehens bei der *Myxine* hat schon Cole und Grodziński hervorgehoben. Das Gleiche gilt auch für die Gehirngefäße, von denen die Arterien im allgemeinen weniger veränderlich sind als die Venen. Die letzteren zeigen so viele Abweichungen, daß ich unter den 15 von mir untersuchten Myxinengehirnen keine zwei mit vollständig identischer Ausbildung der Venen vorfand.

Sehr oft zeigt das auf dem Gehirne der *Myxine* vorhandene Venensystem gemäß der angeführten Beschreibung das folgende Bild: Der *Sinus sagittalis* verläuft als umpaares Gefäß in der Längsfurche des Gehirns, nimmt von beiden Seiten vier Paare Venen auf und teilt sich im Gebiet des verlängerten Markes in zwei Arme, durch die er kaudal von der Gehirnkapsel in die Halsvenen mündet (Textfig. 1. a.).

Abweichungen von diesen Verhältnissen treten an allen Venen, sowohl am Längsgefäß als auch an den in dasselbe mündenden Venen auf. Das Längsgefäß, der *Sinus sagittalis*, ist in vielen Fällen unpaar, kann aber im vorderen und hinteren Abschnitte

aus zwei Venen von verschiedener Länge bestehen (Textfig. 1. c.). Im hinteren Abschnitt des Gehirns können die Vv. cerebrales



Textfig. 1. Die Venenvarietäten des Gehirns von Myxine. Abkürzungen wie auf der Tafel 11.

posteriores, welche sich zum einheitlichen Sinus sagittalis nicht vereinigt haben, gleich stark sein, doch kommen auch Gehirne vor, auf denen eine Vene bedeutend dicker ist als die andere (Textfig. 1. b. c. d.), ja eine der beiden Vene kann sogar fehlen, so daß das Blut nur durch ein Gefäß den Schädel verläßt. Diese

269

Bilder sprechen zu Gunsten einer paarigen Anlage des Sinus, wie dies auch bei Tropidonotus beobachtet worden ist.

Die von der Seite jederseits kommenden Venen münden für gewöhnlich in den unpaarigen Sinus sagittalis. Selten sind aber die Venen desselben Paares von gleicher Stärke, ja sie können auf einer Seite oder sogar auf beiden Seiten fehlen wie die V. cerebralis media auf der Textfig. 1. b. Die Anordnung der Venen kann auch eine ganz unregelmäßige sein, wenn die der anderen Seite des Gehirns korrespondierende Vene fehlt und im darauf folgen den Gehirnteil das umgekehrte Verhältnis besteht (Textfig. 1. c. d.) Solche Unregelmäßigkeiten sind nicht durch mangelnde Füllung der Gefäße mit Injektionsmasse hervorgerufen, wie man vermuten könnte, sondern durch die Primitivität der Venen, welche selbst bei erwachsenen Exemplaren noch keine bestimmte Bahnen aufweisen.

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für vergleichende Anatomie an der Jagellonischen Universität ausgeführt. Dem Herrn Prof. Dr. Z. Grodziński spreche ich meinen besten Dank für das von ihm mir zur Verfügung gestellte Material und für die vielen während der Arbeit erteilten wertvollen Ratschläge und technische Winke aus. Auch Herrn Prof. Dr. H. Hoyer bin in für die Durchsicht der Arbeit zu Dank verpflichtet. Das Material wurde dank einem Subsidium seitens des Fundusz Kultury Narodowej gesammelt.

Erklärung der Tafel 11.

Alle Abbildungen wurden vermittels Abbeschen Zeichenapparates angefertigt. Die Venen sind schwarz, die Arterien schraffiert. Jeder Abbildungist ein Maßstab beigegeben, dessen Länge einem Millimeter entspricht.

Fig. 1. Seitenansicht des Kopfes der Myxine mit den Gehirngefäßen und den zu- und ableitenden Blutgefäßen sowie mit der Gehirnhülle.

Fig. 2. Ventralansicht des Gehirns samt der Gehirnhülle.

Fig. 3. Dorsalansicht des Gehirns mit entfernter Gehirnhülle.

Abkürzungen.

a.	a.	— a. auricularis	a.	c.	i. — a. carotis interna
a.	c.	cm. — a. carotis communis	a.	c.	a. — a. cerebralis anterior
a.	c.	c. — a. carotis cerebri	a.	c.	m a. cerebralis media
a.	c.	e. — a. carotis externa	a.	c.	p a. cerebralis posterior



M.S.

1mm.

v.cd.s.

3

a.a.

M.S.



Oe.

v.cd. a.s.

M.s. Ch. a.c.cm. a.v.i. v.cc

a.o.n.

V.T. --

K.C.a. --

S.S. ..

K.C.M.-

Ац.-

a.a.--

a.v. c .---

a.c.i. -

V.S. ----

1

rcin.org.pl

1mm

Ap.I.m.

2



a. fc. — a. facialis	M. o. — medulla oblongata
a. h. — a. hypophysealis	Mes. — mesencephalon
a. i. — a. infundibularis	N. o. — nervus opticus
a. lm. — a. linguomuscularis	N. t. — nervus trigeminus
a. l. o. — a. lobi olfactorii	Oc. — occulus
a. n. — a. nasalis	Oe. — oesophagus
a. o. n. — a. oculo-nasalis	r. a. — ramus anterior
a. ol. — a. olfactoria	r. p. — ramus posterior
a. o. — a. ophtalnica	Tel telencephalon
a. p. c. — a. palato-cerebralis	tr. f. — truncus facialis
a. p. — a. prosencephalica	v. cd. — v. cardinalis anterior
a. s. — a. segmentalis	v. cd. p v. cardinalis anterior pro-
a. v. c. — a. vertebralis capitis	funda
a. v. i. — a. vertebralis impar	v. cd. s v. cardinalis anterior su-
Ap. lm. — apparatus linguomuscularis	perficialis
Ap. o. – apparatus olfactorius	v. c. a. — v. cerebralis anterior
Au. — auriculus	v. c. m. – v. cerebralis media
Ch. — chorda	v. c. p. — v. cerebralis posterior
Die. — diencephalon	v. o. l. — v. olfactoris lateralis
H. — hypophysis	v. o. m. — v. olfactoria media
L. o. — lobus olfactorius	v. r. — v. rhombencephalica
L. t. – lobus nervi trigemini	v. s. – v. segmentalis.

Literaturverzeichnis.

1. Cole J. F. A monograph on the general morphology of the Myxinoid Fishes, based on a study of Myxine. Part. IV. On same peculiarities of the afferent and efferent branchial arteries of Myxine. Trans. R. Sc. Vol. 48. Edinburgh 1912. - 2. Derselbe. Part. VI. The morphology of the vascular system. Ibidem Vol. 54. 1924. - 3. Favaro G. Ciclostomi in Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Bd. VI. Leipzig 1924. -4. van Gelderen Chr. VI. Venensystem in Bolk's Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. Bd. VI. 1933. - 5. Grodziński Z. Über das Blutgefäßsystem von Myxine glutinosa L. Bull. Acad. Pol. B. 1926. - 6. Derselbe. Die Blutgefäßentwicklung bei der Natter, Tropidonotus natrix L. Mémoires Acad. Pol. Nº 1. Cracovie 1926. - 7. Derselbe. Sur les vaisaeux sanguins de l'intestin chez les cyclostomes. Compt. Rend. Ass. Anat. Nancy 1932. - 8. Hafferl A. V. Das Arteriensystem in Bolk's Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. Bd. VI. 1933. -9. Hyrtl J. Das arterielle Gefäßsystem der Rochen. Denkschr. Akad. Wiss. math. nat. Kl. Wien Bd. 15. 1858. - 10. Derselbe. Die Kopfarterien der Haifische. Ibidem Bd. 22. 1872. - 11. Müller J. Vergleichende Anatomie der Myxinoiden. Über das Gefäßsystem. Berlin 1841. - 12. Pietschmann. Cyclostomata in Kükenthal's Handbuch der Zoologie. Bd. VI. 1 Teil 1934. -13. Retzius G. Das Gehirn und das Auge von Myxine. Biologische Untersuchungen Jena 1893. Bd. V. - 14. Derselbe. Über die Hy-

271

R. Towarnicki: Blutgefäße des Gehirns u. s. w.

pophysis von Myxine. Ibidem 1895. Bd. VII. — 15. Rex H. Beiträge zur Morphologie der Hirnvenen der Elasmobranchier. Morph. Jb. Bd. 17. 1891. — 16. Derselbe. Beiträge zur Morphologie der Hirnvenen der Amphibien, Ibidem Bd. 19. 1892. — 17. Socha P. Die Entwicklung der Blutgefäße des Gehirns von Grasfrosch. Bull. Acad. Pol. B. 1930. — 18. Sterzi G. II sistema nervoso dei Vertebrati. Vol. 1. Ciclostomi. Padova 1907. — 19. Streeter G. L. The developmental alterations in the vascular system of the brain of the human embryo. Contributions to Embryology N^o 24. 1918.

o - o verbelinds canit

272

Doświadczenia nad anoksybiozą u poszczególnych stadjów rozwojowych żaby Rana fusca. – Recherches sur l'anoxybiose des embryons de Grenouille Rana fusca dans différents stades du développement.

Note préliminaire de M^{me} I. LATINIK-VETULANI,

présentée le 1 juillet 1935, par M. E. Godlewski m. t.

Nous savons que les oeufs fécondés supportent bien l'anoxybiose et atteignent le stade de la blastula dans des conditions anaérobiques [Roux (1885), Samassa (1896), Godlewski (1901)], quoique leur développement soit alors quelque peu ralenti (Godlewski). Après une anaérobiose prolongée, on voit cependant se former des blastulas anormales et les embryons finissent par périr. Malgré un arrêt passager du développement, Godlewski put le voir continuer en exposant les embryons à l'action d'un courant d'oxygène après une anaérobiose dont la durée s'étendait jusqu'à 47 heures. Un certain pour-cent d'embryons avait supporté l'anaérobiose, de sorte que la restitution était suivie d'un développement ultérieur tout à fait normal.

Non seulement l'anoxybiose complète, mais aussi une basse pression partielle de l'oxygène, p. ex. $1^{\circ}/_{\circ}$ de celui-ci dans le milieu ambiant, entraîne une inhibition précoce du développement qui n'atteint que le stade de la blastula et celui de la gastrula dans d'autres épreuves, après quoi l'embryon cesse de se développer et périt, quoique l'oxygène ne soit pas épuisé [Parnas et Krasińska (1921)].

Les oeufs vierges de *Rana fusca* se comportent autrement que les embryons; en effet, Bataillon a montré qu'ils peuvent séjourner sans dommage jusqu'à 40 heures dans l'air, mais qu'a-

près un séjour de 24 heures dans une atmosphère privée d'oxygène. ils sont déjà incapables de se développer. Ainsi que je l'ai démontré dans ma première note préliminaire (Latinik-Vetulani. 1933), non seulement les stades initiaux du développement mais aussi les stades plus avancés, soit les blastulas, les gastrulas, les neurulas, voire même les larves, supportent sans en souffrir l'action d'un milieu anaérobique. La durée d'une action pareille, supportée sans préjudice, est plus longue pour les stades embryonnaires initiaux que pour les stades plus avancés. Le développement se poursuit dans l'anaérobiose, quoiqu'il soit plus lent que chez les embryons cultivés à l'air. Les embryons placés dans un milieu anaérobique éliminent du dioxyde de carbone dont la production diminue à mesure que dure la privation d'oxygène. L'intensité de cette production varie également dans les différents stades; ainsi elle est faible au cours de la segmentation, et augmente dans de fortes proportions pour des stades plus avancés, surtout lorsque les embryons sont exposés à l'anaérobiose au stade de la neurula.

Le problème du métabolisme aérobique et anaérobique chez la Grenouille a été dernièrement étudié par Jean Brachet (1934) qui lui a consacré un ouvrage très important et suggestif. S'appuyant sur les résultats de différentes expériences, cet auteur aboutit à la conclusion que pendant la segmentation les embryons de Grenouille n'ont besoin »ni d'oxygène atmosphérique, ni d'oxygène activé par le ferment respiratoire« de Warburg, de sorte que dans ce stade le développement anoxybiotique ne reposerait pas, suivant lui, sur la glycolyse, mais probablement sur l'exploitation de la réserve oxydante qu'ils renferment. Ce n'est que dans les stades plus avancés qu'un rôle important reviendrait à la glycolyse dans le métabolisme anoxybiotique d'après Brachet.

Je me suis proposée alors d'étudier dans mes recherches dont je dois l'initiative au Professeur Godlewski, le problème comment l'absence d'oxygène agit sur le développement ainsi que sur le métabolisme des oeufs et des embryons de *Rana fusca*. Je désirais établir notamment la durée de l'exposition dans une atmosphère anoxybiotique que supportent les oeufs et les différents stades embryonnaires, ainsi que je voulais me rendre compte de l'intensité de leur production de CO_2 dans les différentes heures de cette exposition.

Matériel et méthode.

Je me suis servie dans mes recherches d'oeufs et d'embryons de *Rana fusca*. Pour déterminer la quantité de CO₂, éliminé dans une atmosphère d'hydrogène, j'employais le microrespiromètre de Thunberg et Winterstein, modifié par Białaszewicz. Cet appareil rempli d'hydrogène était entièrement plongé dans de l'eau à 20° C.

Avant d'introduire les embryons dans le microrespiromètre, j'évacuais à l'aide d'une machine pneumatique le gaz qu'ils contenaient et les saturais d'hydrogène dûment purifié que produisait un appareil de Kipp; ensuite j'évacuais encore une fois le gaz du milieu où se trouvaient les embryons, afin d'écarter ce qui restait d'oxygène, enfin je les saturais encore une fois d'hydrogène.

Résultats.

Les expériences sur des oeufs vierges de Rana fusca m'apprirent que la production de CO_2 dans une atmosphère privée d'oxygène est insignifiante, vu que 100 oeufs éliminaient 1 à 2 mm³ de dioxyde de carbone dans l'espace d'une heure et que cette production ne variait pas pendant une dizaine d'heures ou n'accusait qu'une légère diminution. Malgré l'élimination si peu changée de CO_2 pendant toute la durée de l'épreuve, les oeufs avaient cependant perdu la faculté d'être fécondés.

Il résulte de l'exposition des différents stades embryonnaires à l'action de l'atmosphère d'hydrogène que les embryons de divers âges ne diffèrent pas seulement par le fait que les stades précoces supportent sans préjudice des expositions plus prolongées que les stades avancés, ainsi que J. Brachet le rapporte dans les détails, mais encore par le fait que l'intensité de leur production de CO2 est, elle aussi, différente. En effet cette production est très faible chez les embryons en voie de se segmenter; elle augmente chez la blastula et au commencement de la gastrulation, quoiqu'elle soit inférieure chez la gastrula avancée à celle qu'on observe dans les stades qui la précèdent (blastula et jeune gastrula); enfin elle s'accroît très considérablement lorsqu'on expose la neurula à l'action d'une atmosphère privée d'oxygène. P. ex. dans la troisième heure de l'anoxybiose, la production de CO₂ calculée pour 1 heure et 100 embryons, s'élève à environ 3 mm³ pendant la segmentation et équivaut à plus ou moins

15 mm³ chez les embryons dont la lèvre dorsale commence à se former; elle correspond à environ 7 mm³ chez la gastrula avancée, à peu près à 20 mm³ chez la neurula et à environ 12 mm³ chez celle dont le tube neural vient de se fermer. Les embryons dans les stades larvaires suivants, soumis à l'action de l'anoxybiose produisent de moindres quantités de CO_2 que la neurula, et la production de dioxyde de carbone continue à baisser jusqu'au stade de la larve éclose à branchies externes bien développées. Chez les larves encore plus avancées dont les branchies sont déjà en partie recouvertes, l'élimination de CO_2 est bien plus intense que dans tous les stades précédents, mais la durée de la période où elles supportent l'anoxybiose est très course; ainsi p. ex. les larves mesurant 15 mm de long, exposées dans une atmosphère privée d'oxygène périssent déjà après 3 heures.

Dans tous les stades, la production de CO_2 baisse en général à mesure que dure l'anoxybiose et ce n'est que chez la gastrula très avancée que, pendant quelques heures, elle se maintient à peu près au même niveau ou qu'elle diminue très lentement pour recommencer parfois à monter un peu, après plusieurs heures.

Je tâchais encore d'étudier une autre question. Il s'agissait notamment d'établir en combien de temps se produit la restitution chez les embryons après une anaérobiose d'une durée définie, comme il fallait se rendre compte si cette restitution est complète. A cet effet, dans une série d'expériences les embryons étaient soumis toutes les 24 heures à l'action d'une atmosphère d'hydrogène où ils séjournaient pendant 5 heures, après quoi ils étaient exposés à l'air. Je répétais les épreuves durant 4 jours de suite et m'aperçus qu'après ces courtes périodes d'anaérobiose, la restitution des embryons était complète; en effet, ayant été privés d'oxygène 2, 3 ou 4 fois, les embryons éliminaient le dioxyde de carbone, comme s'ils n'avaient été soumis qu'une seule fois aux épreuves. Si l'action de l'atmosphère dépourvue d'oxygène était plus prolongée et si la période de restitution s'étendait à un laps de temps plus court, l'anaérobiose durant environ 10 heures et la période de restitution variant de 12 à 14 heures on voyait pendant la troisième exposition à l'action d'un milieu privé d'oxygène, les embryons arrivés au stade de la neurula produire moins de CO, qu'ils en auraient éliminé, si à ce stade ils avaient été exposés la première fois à l'anaérobiose.

Il résulte de ce qui précède, qu'une restitution complète n'a pas encore eu lieu dans ce cas-là.

Discussion des résultats.

Les différences dans la façon de réagir à un milieu anaérobique qu'on observe entre les divers stades, se traduisent non seulement par la durée de l'anoxybiose que les embryons supportent sans en souffrir ainsi que par l'intensité de l'élimination de l'anhydride carbonique, mais elles se manifestent également par la rapidité avec laquelle baisse la production de CO., Si cette production diminue lentement dans les stades précoces, il en est autrement dans ceux qui éliminent une plus grande quantité de CO₂, aussi la courbe correspondant à cette élimination baisse-t-elle rapidement. La production de dioxyde de carbone diminue évidemment à mesure que l'anoxybiose se prolonge, vu qu'au commencement de l'épreuve il y a plus de métabolites servant au metabolisme anaérobique ainsi que l'intoxication par les produits de celui-ci augmente à mesure de la durée de l'anaérobiose. Seule la gastrula avancée se comporte autrement à cet égard, car la baisse de la production de CO₂ est ici pendant plusieurs heures insignifiante ou nulle et celle-ci peut même légèrement augmenter après quelques heures. Ce phénomène s'explique peut-être par le fait que la gastrula avancée se rapproche du stade où l'élimination de CO₂ est beaucoup plus intense que dans les stades précédents. D'après les résultats des recherches de M. Konopacki et B. Konopacka, la neurula est riche en glycogène lequel, comme l'a montré J. Brachet, disparaît après l'exposition à l'action d'une atmosphère dépourvue d'oxygène. Il se pourrait donc que la gastrula avancée mobilisât ce glycogène et que c'est pour cette raison que l'élimination de l'anhydride carbonique se maintient longtemps au même niveau.

Il ne faut également pas perdre de vue dans cette expérience le rapport entre la durée de l'anoxybiose que les embryons supportent sans en souffrir et la quantité de CO₂ éliminé dans ce laps de temps. Les embryons en voie de segmentation, capables de séjourner plus de 24 heures dans une atmosphère privée d'oxygène sans subir de dommage, éliminent très peu de dioxyde de carbone pendant tout ce séjour. Si nous comparons avec ce stade la neurula qui produit beaucoup plus de CO₂ dans l'anoxybiose, nous voyons que, bien qu'elle vive moins longtemps (moins de

278 I. Latinik-Vetulani: Anoxybiose des embryons etc.

20 heures) dans un milieu sans oxygène, elle élimine cependant beaucoup plus de dioxyde de carbone dans ce laps de temps, que les embryons en voie de segmentation n'en produisent dans toute la période où ils supportent sans dommage l'action d'une atmosphère dépourvue d'oxygène. Il n'est guère probable que dans l'un et l'autre cas l'inhibition du développement soit la conséquence d'une intoxication par les produits du métabolisme anaérobique, à moins d'admettre que ceux-ci sont bien plus toxiques pour la blastula qu'ils ne le sont pour la neurula. On pourrait partager l'opinion de J. Brachet, suivant lequel le métabolisme anaérobique repose sur un autre principe dans les stades précoces du développement que dans les stades plus avancés. Cependant il serait également possible d'admetre, que c'est la diminution de la quantité des matériaux utilisés dans le métabolisme anaérobique qui influence la durée de l'anoxybiose que supportent les embryons, ainsi que l'intensité de l'élimination du dioxyde de carbone.

Les expériences sur les effets que produisent des expositions intermittentes à l'action d'un milieu anaérobique semblent indiquer que la restitution ne s'opère pas aussi vite qu'on pourrait le croire d'après les recherches de J. Brachet. Si dans les expériences la dette d'oxygène était compensée en 20 minutes, c'est peut-être parce qu'il s'agissait d'un processus physique, soit de la pénétration de l'oxygène dans les embryons. Ce problème réclame de nouvelles expériences où il faudrait faire varier la durée de l'anoxybiose et la période de restitution.

Bibliographie.

 Bataillon E. La parthénogénèse des Amphibiens et la »fécondation chimique« de Loeb. Annales des Sc. Nat. 9° Série, Zoologie, 1912. — 2. Brachet Jean. Étude du métabolisme de l'oeuf de Grenouille (Rana fusca) au cours du développement I. Arch. de Biol. 45, 1934. — 3. Godlewski Emil jun. Die Einwirkung des Sauerstoffes auf die Entwickelung von Rana temporaria und Versuch der quantitativen Bestimmung des Gaswechsels in den ersten Entwickelungsstadien. Arch. Entw.-mech. der Organismen, 11, 1901. — 4. Latinik-Vetulani I. Badanie nad oddychaniem beztlenowem we wczesnych stadjach zarodkowych żaby. Pamiętnik XIV Zjazdu Lek. i Przyr. polskich w Poznaniu 1933. — 5. Parnas J. K. i Krasińska Zofja. Über den Stoffwechsel der Amphibienlarven. Biochem. Ztschr., 116, 1921. — 6. Roux Wilhelm. Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryo Nr. III. Breslauer ärztl. Ztschr. 1885. Roux's Gesammelte Abhandl. B. II. — 7. Samassa H. Cité d'après Needham., Chemical Embryology, 1931.
BULLETIN INTERNATIONAL DE L'ACADÉMIE POLONAISE DES SCIENCES ET DES LETTRES

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

Nº 1-3 B I, 1935.

Bursa A. Liste des algues recuellies 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 Suwałki.
- Woloszyńska J. Die Algen der Tatraseen und Tümpel. II. Über zwei Gymnodinien aus den Seen »Morskie Oko« und »Czarny Staw pod Rysami«. (Planche 1).
- Woloszyńska J. Bemerkungen über eine seltene Planktondiatomee des Brackwassers Attheya decora West.
- Woloszyńska J. Über eine Wasserblüte von Cyanophyceen in der Danziger Bucht und eine Wucherung der Diatomee *Chaetoceros Eibenii* Grun. (Planches 6-7)

Nº 3-5 B II, 1935.

- Friedberg W. Turritella scalaria de Buch und einige Bemerkungen über evolute Gastropodenschalen (Planche 4).
- Konopacka B. Recherches histochimiques sur le développement des Poissons. I. La vitellogénèse chez le Goujon (Gobio fluviatilis) et la Carpe (Cyprinus carpio) (Planche 6).
- Markowski St. Einfluß der Milieuveränderungen auf die Entwicklung der Eier von Bothriocephalus scorpii (Müller 1776).
- Passowicz K. Studien über das Verhalten des Wasserflohes Daphnia pulex de Geer in Zuchtlösungen von verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen.

Ramult M. Observations on the Embryonic and Larval Development in Sacculina (Rhizocephala) in Changed Osmotic Conditions of Medium.

Rogoziński F. et Główczyński Zb. Sur la valeur nutritive de la graine d'Alpiste (*Phalaris canariensis*).

Rogoziński F. et Główczyński Zb. L'irridiation et la croissance (Planche 3). Zaćwilichowski J. Über die Innervation der Haftapparate der Karpfenlaus Argulus foliaceus L. (Brianchura) (Planche 5).

TABLE DES MATIÈRES.

Juin-Juillet 1935.

J. Tur. Les néoplasmoïdes embryonnaires obtenus par voie expérimentale (Planche 7)	183
J. JAROCKI. Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. General remarks on Protozoan parasites of <i>Pulmonata</i> . Transfer experiments with species of <i>Heterocineta</i> and <i>Chaetogaster limnaei</i> , their additional host. Some new Hypocomid Ciliates (Planche 8)	201
L. D. LIOSNER und M. A. WORONZOWA. Weitere Untersuchung über den Mechanismus der Perforation der operculären Membran im Metamorphoseprozeß der schwanzlosen Amphibien. (Zur Frage der sogenannten autonomen und abhängigen Entwicklung der Körperteile meta- morphosierander Amphibien II) (Planche 9)	921
ST. MARKOWSKI. Die parasitischen Würmer von Gobius minutus Dell dez polnischen Baltieume (Blenche 10)	251
R. TOWARNICKI. Über die Blutgefäße des Gehirns von Myxine	201
I. LATINIK-VETULANI. Recherches sur l'anoxybiose des em- bryons de Grenouille <i>Rana fusca</i> dans différents stades	201
du développement	273

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 $\cdot I_{\circ}$ contient les mémoires qui se rapportent aux diverses branches de la Botanique (la Systématique, l'Anatomie et la Physiologie des Plantes), l'autre $\cdot II_{\circ}$ est réservée aux publications qui concernent le vaste domaine des recherches morphologiques et physiologie, Histologie, Psychologie, Zoologie systématique et expérimentale).

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 éparément.

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).