

799  
N° 5—7 B II

MAI—JUILLET

1937

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  
1937





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).

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



*Bastardy perlic (Numida meleagris L.) i kura domowego (Gallus domesticus L.) otrzymane drogą sztucznej inseminacji. — Guinea-fowl (Numida meleagris L.) and Common Fowl (Gallus domesticus L.) Hybrids Obtained by Means of Artificial Insemination<sup>1</sup>.*

Note préliminaire

de M. J. **MARCHLEWSKI**,

présentée le 10 mai 1937, par M. H. Hoyer m. t.

(Planche 8).

Great possibilities of obtaining hybrids between various species and genera of birds are being given by the artificial insemination method, which is easily performed, by collecting the sperm and its introduction into the oviduct by means of a pipette.

The methods of sperm collection were evolved by Nikitin (1932) and Serebrowskij and Sokołowskaja (1934). The first mentioned author did collect sperm into a rubber sachet placed over the cloacal opening of the hen. The others obtained sperm through electric stimulation. Burrows and Quinn (1935) caused ejaculation by massage of the lower parts of the cock's abdomen. Nikitin demonstrated also a simple method of introducing the semen into the oviduct.

In recent times a number of efforts at artificial insemination of birds has been performed. Nikitin (1932), inseminating hens with undiluted sperm, obtained eggs that were fertilized until the eighth day after insemination. Warren and Scott (1935) inseminated turkey hens with fowl sperm and, vice versa, and received fertilized eggs. The embryos died before hatching. Quinn and Burrows (1936) found, that by means of artificial insemination of Silkie Bantams with sperm of heavy breeds the per-

<sup>1</sup>) This research was carried out with the financial help granted by the Board of the Tyszkowski Foundation.



centage of insemination amounted to 97%, whilst natural copulation gave only 3.7% of fertilized eggs. Grodziński and Marchlewski (1935) found that the dilution of sperm with the aid of a number of dilutors, does not inhibit the fertilizing capacity of the semen.

After mastering and slightly altering the Nikitin method, (Grodziński and Marchlewski) and after studying the behaviour of spermatozoa „in vitro“ I tried to accomplish crossing guinea-fowls with a domestic cock. This was done in two periods, i. e., during the spring of 1935 and 1936. In the first year I possessed two, in the second five grey guinea-fowls. The semen was obtained from a White Leghorn cock.

#### **The results of artificial crossing**

Two grey guinea-fowls, isolated from males of their own kind and completely free from guinea sperm, received eleven injections of White Leghorn sperm in the period between 19. IV. and 16. VI. The injections were repeated at intervals of 4—5 days. The guinea-hens produced during this period 38 eggs, 7 of which were fertile. Four embryos died after about four days of development, one started to hatch after the 26-th day, but died on the next. This hybrid shows malformation of the left eyeball and shortening of the maxillar part of the beak. Two others embryos died at about the seventeenth day of incubation. The next year, five guinea-fowls received 12 inseminations each of White Leghorn sperm between 9. V. and 19. VII. The injections were administered every 5 days. The guinea-fowls produced 51 eggs, three of them fertilized. One embryo survived until the date of hatching, about the 27th day. The process of hatching lasted however abnormally long, and on the next day the hybrid died. The two others died as well, one on the seventeenth, the other on the twentieth day of hatching.

On the whole, therefore, I received six hybrids which did reach stages of development enabling the estimation of their down colour, as well as certain details of their external structure. Four others, being too young were not suited for comparative morphological studies. On comparing the hybrids with embryos of hens and of guinea-fowls of the same developmental stages, it was possible to ascertain a number of intermediate or typically parental features.



The colour of the down and feet resembled that of the White Leghorn father. Five hybrids were white, two of which had small patches of grey down on the back (figs 1 b, 4, 5, pl. 8). One, of the year 1935, was totally grey coloured. The legs of all hybrids were uniformly yellow, as in White Leghorn chicks.

The beak of the hybrids resembles that of the guinea-fowl. In the angle of the beak, one can find lean, skinny outgrowths which, hanging down from the upper part of the beak, do cover to some extent its mandibular part (fig. 1 b). Similar outgrowths, but much more strongly developed are to be found in guinea-fowl embryos (fig. 1 c), which in adult birds form long cutaneous outgrowths. The middle part of the head is in the hybrids, just like in guinea-fowls chicks, absolutely level; hen chicks do show the rudiment of a comb in the corresponding place (figs 1 a, 2 a).

The placing and shape of the scales on the tarsus (fig. 3 b) is typical for guinea-fowls (fig. 3 c). The anterior part of this region is covered with larger and more elongated scales, whilst posterior parts are covered with small scales more circular in shape. Fowl chickens have elongated scales on the anterior and posterior tarsal surface, with circular ones running solely on the medi-lateral parts of the tarsus (fig. 3 a, pl. 8).

The incubation period of the hybrids nears rather that of the pure guinea-fowls, than that of the common fowl. The latter, as is well known, hatch after 22 days, whilst the normal incubation of guinea-fowls varies from 25—28 days.

### Summary

Grey guinea-hens artificially inseminated with White Leghorn sperm produced 89 eggs, 10 of this number were fertile, thus, the percentage of fertilization amounts to 11%.

Four embryos died after four days of incubation, three after seventeen, but two started hatching on the 26-th day, but died before emerging from the egg shell.

The down colour of most of the hybrids and the colour of all legs resembled that of the White Leghorn. The pattern of the tarsal scales and the type of the head appendages were that of the guinea-fowl.



The period of incubation was longer than that of the common fowl and resembled that of guinea-fowl chicken.

I wish to express my sincere thanks to Professor Z. Grodziński for much encouragement and advice during the course of my study.

From the Institute of Comparative Anatomy, of the Jagellonian University Kraków.

### Explanation of the table 8

Fig. 1 a. White Leghorn chick. (In the angle of the beak no outgrowths).

Fig. 1 b. Guinea-fowl White Leghorn hybrid (small outgrowths in the angle of the beak).

Fig. 1 c. Guinea-fowl chick (big outgrowths in the angle of the beak).

Fig. 2 a. Head of the White Leghorn chick.

Fig. 2 b. Head of the hybrid.

Fig. 2 c. Head of the guinea-fowl chick.

Fig. 3 a. Tarsus of the White Leghorn chick.

Fig. 3 b. Tarsus of the hybrid.

Fig. 3 c. Tarsus of the guinea-fowl chick.

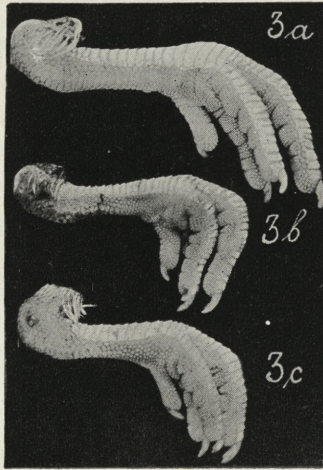
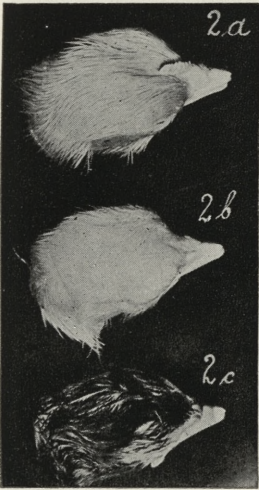
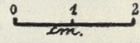
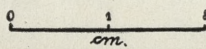
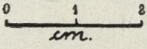
Fig. 4. White Leghorn guinea-fowl hybrid in the seventeenth day of incubation (small patch of grey down on the back).

Fig. 5. The same as on fig. 4.

### Literature cited

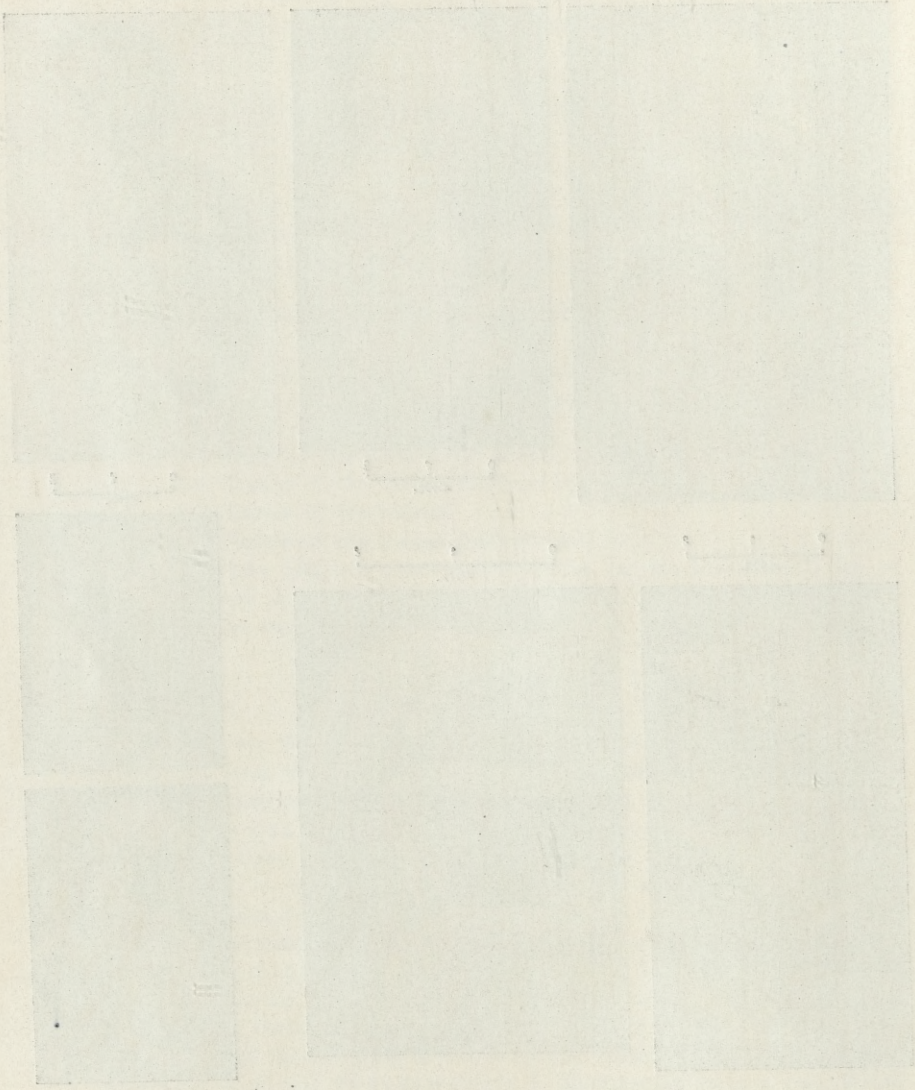
1. Burrows W. H. and Quinn J. P. A new method of obtaining spermatozoa from the domestic fowl. *Poultry Sc.* 1935. 14. — 2. Dunn L. C. Selective fertilization in fowls. *Poultry Sc.* 1927. 6. — 3. Grodziński Z. and Marchlewski J. H. Studies on the motility of the spermatozoa of the Domestic Cock outside the organism. *Bull. de l'Acad. Polon. d. Sc. et d. Lettr.* 1935. — 4. Ivanov E. J. Experiences sur la fecondation artificielle des oiseaux. *C. R. Soc. Biol.* 1913. 75. — 5. Jull M. A. and Quinn J. P. The inheritance of body weight in the domestic fowl. *Journ. Hered.* 1931. 22. — 6. Nikitin M. V. Problems of artif. insemin. *Probl. Zhivotn.* 1032. — 7. Payne L. F. Vitality and activity of sperms and artif. insemin. of the chicken Okla. *Agr. Exp. St.* 1914. — 8. Quinn J. P. and Burrows W. H. Artificial insemination in fowls. *Journ. Hered.* 1936. 27. — 9. Serebrowskij A. S. and Sokołowska I. Elektroejakulacja u ptic. *Probl. Zhivotnow.* 1934. — 10. Spallanzani L. *Dissertation on the natural history of animals and plants.* 1784. — 11. Warren D. C. and Scott H. M. An attempt to produce turkey chicken hybrids. *Jurn. Heredity* 1935. 26.





J. Marchlewski.







*Przeżywanie tkanek martwego zarodka kury w temperaturze +38°C. — Das Überleben der Gewebe in der Temperatur von +38°C nach dem Tode des Hühnerembryos.*

Mémoire

de M. J. WILBURG,

présenté le 10 mai 1937, par M. H. Hoyer m. t.

Das Problem des Überlebens von Geweben und ganzer Organe nach dem plötzlichen Tode des Organismus ist nicht neu. Schon seit langem wußte man, daß aus dem Körper auspräparierte Herzmuskeln der Amphibien längere Zeit überleben, daß das Flimmerepithel der Luftröhre längere Zeit nach dem Tode des Tieres seine Tätigkeit beibehält. Obwohl man vermutete, daß auch die Gewebe anderer Organe sich genau so verhalten, so hatte man doch dafür keine Beweise. Ebenso kannte man auch nicht die Bedingungen, die für das Überleben am günstigsten waren. Erst die Einführung von Gewebezüchtung *in vitro* führte zur Aufklärung dieses Problems.

Einer der wichtigsten ausschlaggebenden Faktoren für die Dauer des Überlebens von Geweben ist die Temperatur, in der sich der abgetötete Organismus befindet. Grodziński untersuchte eingehender den Einfluß der Temperatur von +38°C auf das Überleben der Aortenwand von Hühnerembryonen. Bucciantes gelangte zu einer Reihe interessanter Ergebnisse bezüglich des Überlebens von Geweben aus verschiedenen Organen des Hühnerembryos, welche in einer Temperatur von -25° bis +20°C aufbewahrt waren.

Meine Untersuchungen erweitern in gewisser Beziehung die Beobachtungen Grodzińskis über das Überleben von Geweben bei +38° und dadurch erhalten die Untersuchungen Bucciantes



eine Vervollständigung und einen Abschluß. Bucciante hatte nämlich nicht den ganzen Embryo im Ei in einer Temperatur von  $+38^{\circ}\text{C}$ , sondern nur die einzelnen Abschnitte in Ringerscher Flüssigkeit aufbewahrt, also in für die Gewebe günstigeren Bedingungen hinsichtlich größerer Sauerstoffzufuhr.

Neun Tage alte Hühnerembryonen tötete ich nach der von Grodziński angegebene Methode ab, indem ich durch eine kleine Öffnung in der Eischale eine Scheere ins Innere einführte und die Nabelgefäße durchschnitt, um eine Entblutung hervorzurufen. Die Öffnung verklebte ich mit in Paraffin getränktem Papier, um die Eier im Thermostaten in der Temperatur von  $+38^{\circ}\text{C}$  aufzubewahren. Bei solchem Verfahren wurden Eier jedoch sehr leicht infiziert, was sich bei Eiern, welche länger als drei Tage im Thermostaten gehalten wurden, bemerkbar machte. Erst nachdem ich nach verschiedenen Versuchen die Eischale vor der Bebrütung und vor dem Abtöten des Embryos mit einer alkoholischen Lösung von Thymol desinfiziert und nach der Entblutung des Hühnerembryos und Verschließung der Öffnung der Eischale mit in Paraffin getränktem Papier das ganze Ei in sterilisierte Watte eingehüllt hatte, legte ich es erst dann in den Thermostaten. Dank diesen Vorsichtsmaßregeln gelang es mir eine Infektion zu verhüten. Alsdann legte ich Kulturen von den einzelnen Organen im hängenden Tropfen am Deckglas an. Als Nährmedium benutzte ich das Plasma eines einjährigen Huhns und den in Tyrodescher Lösung im Verhältniß von 1:3 verdünnten Embryosaft. In ähnlicher Weise wurden auch Kontrollkulturen angelegt.

Bei den Untersuchungen berücksichtigte ich Organe wie das Herz (Vorhof und Kammer), die Iris, das Gehirn, den Darm, die Leber, die Haut (vom Kopf und von den Extremitäten), die Area pellucida und das Amnion, wobei ich meine Aufmerksamkeit auf das Verhalten der Epithel- und Bindegewebezellen und der Makrophagen richtete.

Vom Ansetzen der Kulturen bis zum Beginn des Wachstums verfloßen mindestens 12 Stunden. Die Ruhepause konnte sogar drei Tage dauern, was im Zusammenhang mit der Zeit, welche vom Tode des Embryos bis zum Ansetzen der Kultur verfloßen war, stand. Die entsprechende Ruhepause für Gehirnkulturen, welche 1, 2, 3, 4, 5 Stunden, nach der Entblutung des Embryos an-



gesetzt wurden, betrug 12, 20, 24, 48, 72 Stunden. Die Ruhepause für Leberkulturen, welche in der 1. und 2. Stunde nach der Entblutung des Embryos angesetzt wurden, betrug 12 Stunden, die in der 3. Stunde angelegten Leberkultur dauerte 24 Stunden, die Ruhepausen für die in der 4., 5., 6. Stunde angesetzten Leberkulturen dehnten sich bis auf 48 Stunden aus.

Die Intensität des Wachstums bei der Mehrzahl der untersuchten Organe, die vom Embryo stammten, der nach dem Tode eine Stunde in der Temperatur von  $+38^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt wurde, glich annähernd der Intensität normaler Kulturen, die aus dem Explantat auswandernden Zellen breiteten sich nämlich in nächsten Abschnitten des Nährmediums gleich stark aus. Die Intensität wurde umso geringer, je später eine Kultur nach dem Tode des Embryos angesetzt wurde, wobei die Lebenskraft der einzelnen Organe und Gewebe eine große Rolle spielte; so nahm das starke Wachstum der Leber in Kulturen, die in der 1. Stunde nach dem Tode des Embryos angesetzt waren, nach 3 Stunden ab und nach 5 Stunden waren nur noch einzelne Zellen fähig, ins Nährmedium überzugehen. Die Area pellucida wies noch nach 160 Stunden ein starkes Wachstum auf, nach 191 Stunden aber ein schwächeres. Das Gehirn ließ während seines Überlebens niemals ein größeres Wachstum erkennen; man konnte höchstens einige Zellen und Nervenfasern in manchen Punkten des Explantats beobachten. Das Amnion bildete in dieser Hinsicht bis zu einem gewissen Grade eine Ausnahme, denn es wuchs sogar nach 221 Stunden bis zur Hälfte des Nährmediums aus.

Wie aus dem Diagramm zu ersehen ist, haben das Amnion, die Area pellucida und die Haut (von Kopf und von den Gliedmaßen) in experimentellen Bedingungen die größte Lebenskraft. Alle überleben den Tod des Embryos mindestens 168 Stunden, und das Amnion sogar 221 Stunden. Im Gegensatz zu den vorher erwähnten Organen überleben in unseren Versuchen das Herz (Vorhof und Kammer), die Iris, das Gehirn, der Darm und die Leber kaum 7 Stunden.

Auf Grund der Dauer des Überlebens kann man die Organe des Hühnerembryos in zwei Gruppen einteilen. Zur ersten Gruppe gehören: das Amnion, die Area pellucida und die Haut, d. h. diejenigen Organe, welche sich außerhalb des Körpers beziehungsweise auf seiner Oberfläche befinden. Zur zweiten Gruppe gehören:



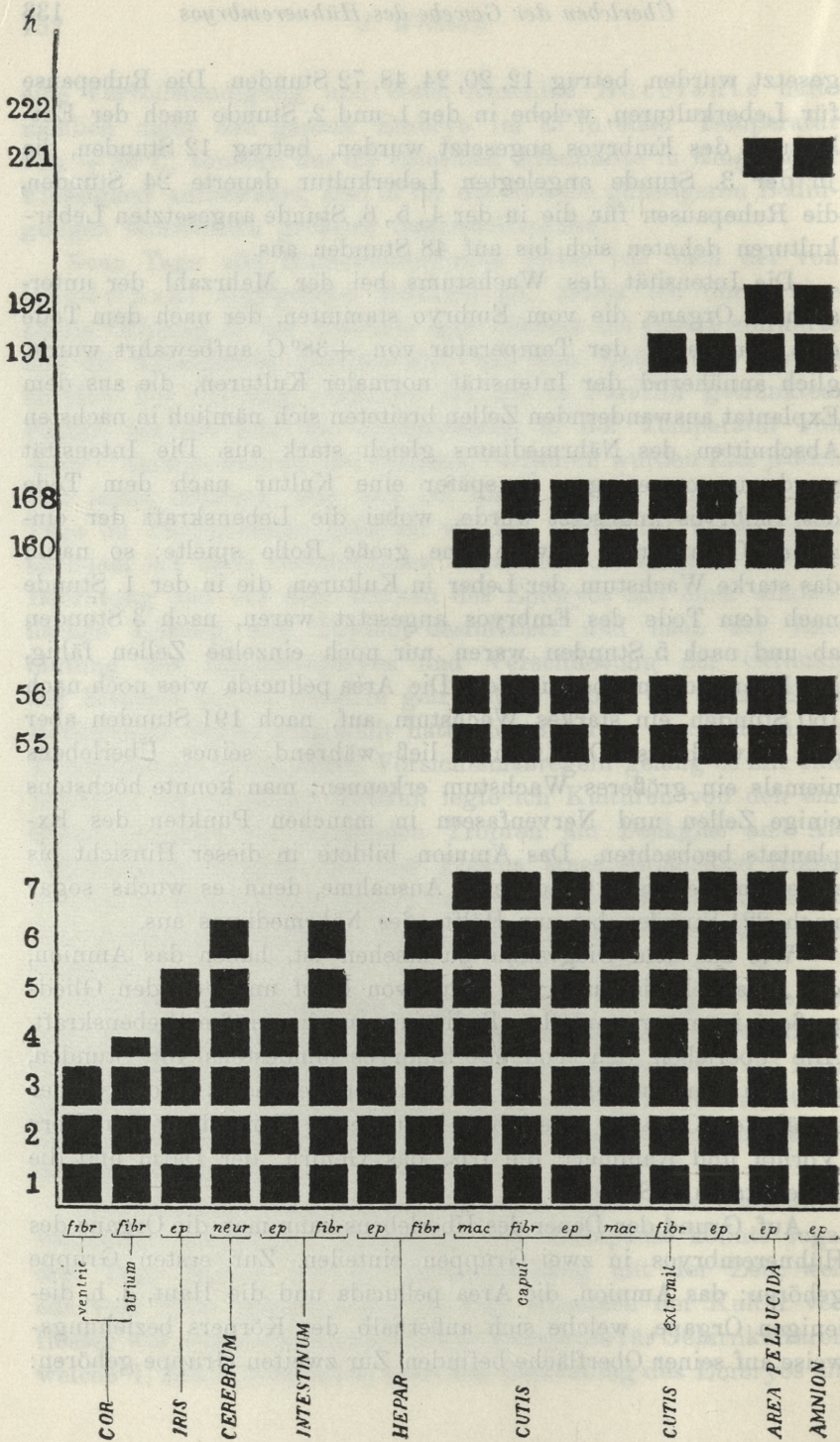




Diagramm. Die Ziffern auf der y-Achse bezeichnen die Stunden des Überlebens. Auf der x-Achse sind die Namen der Organe und Gewebe angegeben.

das Herz, die Iris, der Darm, das Gehirn und die Leber, d. h. die im Inneren des Körpers sich befindenden Organe. Dank ihrer Lage sind die zur ersten Gruppe gehörenden Organe den Organen der zweiten Gruppe überlegen; sie haben nämlich eher die Möglichkeit den Sauerstoff und die Nahrungssäfte sowohl aus dem Fruchtwasser des Amnions und der Allantois als auch direkt aus der Luft zu schöpfen, was für die Dauer des Überlebens eine Grundbedingung ist. Ebenso ist höchstwahrscheinlich auch der Grad der Spezialisierung für die Dauer des Überlebens ausschlaggebend. Die Organe der II Gruppe sind von komplizierterem Bau und ihr Überleben ist mithin auch kürzer.

Wie nach einem gewaltsamen Abtöten des Organismus nicht alle Organe gleichzeitig absterben, so sterben auch gewisse Zellarten der Organe früher ab, andere dagegen später. Die Makrophagen der Haut des Kopfes und der Extremitäten leben unter experimentellen Bedingungen um 2 bzw. 23 Stunden kürzer als die Epithel- und Bindegewebezellen. Das Epithel des Darmes und der Leber lebt kürzer als die Fibroblasten dieser Organe und in der Haut ist das Verhalten beider Arten dieser Gewebe ähnlich.

Die Zellen desselben Typus zeigen in verschiedenen Organen eine verschiedene Lebensdauer. So überlebt das Darmepithel den Tod des Embryos kaum 4 Stunden, wogegen das Epithel des Amnions noch 221 Stunden nach dem Abtöten des Embryos weiterlebt. Das Leber- und Darmepithel besitzt dieselbe Lebensdauer. Die Fibroblasten der Haut der Gliedmaßen leben 33 Stunden länger als jene der Haut des Kopfes. Die Fibroblasten des Vorhofes sind widerstandsfähiger als jene der Kammer, welche eine Lebensfähigkeit aufweisen, die der Aortenwand ähnelt (Grodziński).

Bei der Zusammenstellung sowohl der obigen Ergebnisse als auch der Angaben Bucciantes ergibt sich die Tatsache, daß die Temperatur von 0°C die günstigsten Bedingungen für das Überleben der Gewebe bietet. Nur das Epithel der Leber und die Iris findet bei einer Temperatur von +5 bis +10°C günstigere Lebensbedingungen. Eine Temperatur unter 0°C vertragen die Gewebe des abgetöteten Hühnerembryos viel schlechter. Jedenfalls ist eine



Temperatur unter  $0^{\circ}\text{C}$  ( $-4^{\circ}$  bis  $-14^{\circ}\text{C}$ ) für die zur II Gruppe gehörigen Organe viel günstiger als diejenige von  $+38^{\circ}\text{C}$ , für die zur I Gruppe gehörigen Organe ist es gerade umgekehrt. Meine Untersuchungen bestätigen weiter die Beobachtungen Bucciantes, daß verschiedene Organe, ferner verschiedene Zellarten in denselben Organen, als auch dieselben Gewebe in verschiedenen Organen eine verschiedene Lebensdauer aufweisen.

### Zusammenfassung.

Auf Grund der Ergebnisse meiner Untersuchungen kann man die Organe des Hühnerembryos hinsichtlich der Dauer des Überlebens in der Temperatur von  $+38^{\circ}\text{C}$  nach dem Abtöten des Embryos in zwei Gruppen einteilen. Die erste Gruppe umfaßt die Haut, die Area pellucida und das Amnion, welche nach dem Abtöten des Embryos länger als 160 Stunden überleben. Zur zweiten Gruppe gehören Herz, Gehirn, Iris, Darm und die Leber, welche höchstens 7 Stunden nach Abtöten des Embryos überleben.

Diese Eigentümlichkeit steht mit der Lage dieser Organe im Hühnerei und höchstwahrscheinlich auch mit der Spezialisierung im Zusammenhange.

Die verschiedenen, das Organ bildenden Gewebe zeichnen sich durch eine verschiedene Lebensfähigkeit aus.

Ähnliches gilt für das Verhalten derselben Arten von Geweben in verschiedenen Organen.

Bei Zusammenstellung obiger Versuche mit den Angaben Bucciantes kommt man zum Ergebnis, daß das Optimum des Überlebens von Geweben nach dem Abtöten des Hühnerembryos sich bei einer Temperatur von  $0^{\circ}\text{C}$  befindet.

Hiermit spreche ich Herrn Prof. Dr Z. Grodziński sowohl für die Anregung, als auch für das Interesse beim Durchführen dieser Arbeit den herzlichsten Dank aus.

Institut der Vergleichenden Anatomie der Jagellonischen Universität, Kraków.

### Literaturverzeichnis.

- 1) Bucciante L. 1930, Resistenza dei tessuti di embrioni di pollo a temperature molto basse. *Monit. zool. ital.* XL. — 2) Bucciante L. 1931, Sulla sopravvivenza alle basse temperature (fino a  $-25^{\circ}$ ) dei vari tessuti di embrioni di pollo di cui fu interrotta l'incubazione. *Arch. exper. Zellforsch.*



Bd. XI. — 3) Bucciante L. 1933, Ulteriori ricerche sulle condizioni piu adatte alla sopravvivenza dei vari tessuti embrionali di pollo alla morte dell'organismo. Arch. exper. Zellforsch. Bd. XIV. — 4) Fischer Al. 1930, Gewebezüchtung. Handb. d. Biol. d. Gewebezellen *in vitro*. München. — 5) Grodziński Z. 1932, Das Überleben der Gewebe bei Temperatur von  $+38^{\circ}$  nach dem Tode des Organismus. Arch. exper. Zellforsch. Bd. XII. — 6) Levi G. 1934, Explantation, besonders die Struktur und die biologischen Eigenschaften der *in vitro* gezüchteten Zellen und Gewebe. Ergeb. Anat. Entwicklungsgesch. Bd. XXXI. — 7) Lewis W. H. 1923, Amniotic ectoderm in tissue-cultures. Anat. Rec. XXVI. — 8) Lewis W. H. and McCoy. 1922. Survival of cells after death of the animal. Anat. Rec. vol. XXIII.

*The Blood Vessels of the Thymus Gland in Some of the Sallentia.*

Manuscript

de M. H. SZARSKI,

présenté le 10 mai 1937, par M. H. Hoyer m. d. r.

(Planche 9).

### Introduction

The blood vessels of the thymus in *Rana esculenta* were first described with accuracy by Gaupp. According to this author the thymus artery comes from *Arteria muscularis A. cutanea externa* and the veins from *Arteria interna*. Notes regarding the blood vessels of the thymus of *Amphibia* are also found in the works of Bogdan and Salkind. The former describes the cyclical changes in the capillaries of the thymus, which consist of yearly development in spring of new capillaries, when the old ones are simultaneously closed. Salkind writes that in the toad the blood is conveyed to the thymus by many little vessels, and that the arteries penetrate into the centre of the gland, while the veins are branched on the thymus surface, therefore the capillaries run vertical to the surface of the gland. Such a distribution of blood vessels in the thymus gland was described a long time ago as characteristic to mammals (Kelliker, His, Afanassiew, Renaud).

The distribution of capillaries in the thymus gland has been described with accuracy only respecting mammals. His gives the diameters and the number of capillaries in the lobules (acini) of the thymus, and in contradiction to Simon, asserts that the diameters of the meshes of the net formed by blood vessels are



1923. Survival of cells after death of the animal. *Anal. Rec.* vol. XXIII.  
 1922. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XXIII.  
 1921. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XXII.  
 1920. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XXI.  
 1919. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XX.  
 1918. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XIX.  
 1917. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XVIII.  
 1916. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XVII.  
 1915. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XVI.  
 1914. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XV.  
 1913. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XIV.  
 1912. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XIII.  
 1911. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XII.  
 1910. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. XI.  
 1909. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. X.  
 1908. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. IX.  
 1907. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. VIII.  
 1906. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. VII.  
 1905. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. VI.  
 1904. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. V.  
 1903. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. IV.  
 1902. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. III.  
 1901. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. II.  
 1900. *Survival of cells after death of the animal.* *Anal. Rec.* vol. I.



*Blood Vessels of the Thymus in Salamanders* 141

larger than the diameter of the blood vessels themselves. Further  
draws attention to the fact that in the cortical layer of the  
thymus the capillaries are more abundant than in the medulla.  
Köller (1907) describes the relation of the capillaries to the  
corpuscles of Hassall in the thymus of human foetus. According  
to him, the Hassallian corpuscles do not derive from  
blood vessels and have no special blood supply. Corvino also  
states that no special relation between the distribution of the  
arteries and the thymic corpuscles is to be observed.

**Unaczynienie grasicy u niektórych płazów bezogonowych. —  
The Blood Vessels of the Thymus Gland in Some of the  
Salientia.**

Mémoire

de M. H. SZARSKI,

présenté le 10 mai 1937, par M. H. Hoyer m. t.

(Planche 9).

### Introduction

The blood vessels of the thymus in *Rana esculenta* were first described with accuracy by Gaupp. According to this author the thymic artery comes from *Ramus auricularis A. cutaneae magnae*, and the thymic vein opens into *V. jugularis interna*. Notes regarding the blood vessels of the thymus of Amphibia are also found in the works of Dustin and Salkind. The former describes the cyclical changes in the capillaries of the thymus, which consist of yearly development in spring of new capillaries, when the old ones are simultaneously closed. Salkind writes that in the toad the blood is conveyed to the thymus by many little vessels, and that the arteries penetrate into the centre of the gland, while the veins are branched on the thymus surface, therefore the capillaries run vertical to the surface of the gland. Such a distribution of blood vessels in the thymus gland was described a long time ago as characteristic to mammals (Kölliker, His, Afanassiew, Renaud).

The distribution of capillaries in the thymus gland has been described with accuracy only respecting mammals. His gives the diameters and the number of capillaries in the lobules (acini) of the thymus, and in contradiction to Simon, asserts that the diameters of the meshes of the net formed by blood vessels are



larger than the diameters of the blood vessels themselves. Ebner draws attention to the fact that in the cortical layer of the thymus the capillaries are more abundant than in the marrow. Kostowiecki describes the relation of the capillaries to the corpuscles of Hassall in the thymus of human foetuses. According to him, the Hassallian corpuscles do not derive from blood vessels and have no special blood supply. Cortivo also affirms that no special relation between the distribution of the blood vessels and the corpuscles of Hassall in the thymus gland exists.

### Material and methods

I examined the blood vessels of the thymus gland in the following species of Amphibia: *Rana esculenta* (12 thymuses), *R. terrestris* (4 thymuses), *R. temporaria* (13 thymuses), *Bufo bufo* (8 thymuses), *B. viridis* (8 thymuses), *Hyla arborea* (10 thymuses), *Pelobates fuscus* (6 thymuses), *Bombina variegata* and *B. bombina* (8 thymuses). All the animals were found in the vicinity of Cracow, they were injected with Prussian blue and fixed *in toto* in formalin. The sections were subsequently performed under a binocular microscope. The majority of the injections were made during the breeding seasons of the individual species, only the specimens of *Rana esculenta* were injected chiefly in winter. For the sake of better visibility of small vessels I cleared the thymuses in terpinol, or I embedded thymuses in paraffin and celloidin, and then I cut them into complete series of slips of 120—10  $\mu$ . All measurements were performed on preparations fixed, dehydrated and closed in Canada-balsam.

### Larger blood vessels entering the thymus

1) *Rana esculenta* L. In *R. esculenta* the thymus is situated behind and above the mandibular joint under *M. depress. mandibularis* as a bean-shaped body on *M. cucullaris*, in such manner that the long axis is parallel to the direction of the muscle fibrils in *M. cucullaris*. From above a single artery reaches the thymus as described by Gaupp. Frequently before reaching the thymus the artery divides into smaller vessels. *A. thymica* derives from *R. auricularis A. cutaneae magnae* (Fig. 1, RA),



a vessel which forms an anastomosis between the cutaneous artery and *A. temporalis* (AT). From the posterior edge of the thymus run some short vessels which join together near the gland, forming the thymic vein. *V. thymica* runs between *M. cucullaris* and *M. dorsalis scapulae* collecting from them minute vessels, approaches *R. lateralis A. cutaneae magnae* (RL), and flows into *V. jugularis interna* (VI) opposite the opening of *V. vertebralis* (VV). Besides this vein described by Gaupp, sometimes from the inferior margin of the gland arises another vein which runs into *V. hyoidea*. This vein, after joining *V. mandibularis*, opens into *V. jugularis externa*. The second thymic vein is rare (found 3 times in 12) and never assumes larger dimensions.

2) *Rana terrestris* Andr. (*arvalis* Nilss). The position of the thymus, as also its vessels, is very similar to that described in *R. esculenta*. *V. thymica* in *R. terrestris* never collects blood from *M. dorsalis scapulae*. In one thymus (of 4 examined) the thymic vein did not open into the inferior jugular vein as happens in the majority of cases, but surrounded *M. cucullaris* proximally and ran independently to *V. cava anterior*. The thymic artery of this thymus, as well as all blood vessels on the opposite side of the body, were quite normal.

3) *Rana temporaria* L. In this species the thymus gland is situated a little lower than in those previously described and, therefore, it is partially hidden by the mandibular joint. The veins of the thymus in this species are particularly variable. Sometimes the blood vessels are quite similar to those described in *R. esculenta* with this difference that in the thymic vein the vessels never open from *M. dorsalis scapulae*, and the branch from *M. cucullaris* is very long and slender. In the majority of cases, from the thymus a second vein runs to *V. hyoidea* or to *V. pharyngea* both of which open into the external jugular vein (VE). It sometimes happens that the thymic vein which opens into *V. jugularis interna* surrounds *M. cucullaris* proximally not distally and opens into the internal jugular vein under *Crista parotica*.

The thymic artery invariably has the previously described course, in one specimen however other slender arteries ran on both sides of the body to the thymuses, from the *R. lateralis A. cutaneae magnae* (RL) besides the usual vessels.



4) *Bufo bufo* L. Blood vessels in the temporal region of toads and especially the veins, have a course which differs considerably from Gaupp's description of *Rana esculenta*. *R. auricularis A. cutaneae magnae* (Fig. 2, RA) exists in toads like in *Rana* and forms similarly an anastomosis between *A. cutanea magna* (AC) and *A. temporalis* (AT). *V. cutanea magna* is completely absent, therefore the facial vein (VF) which in *Rana* forms the cutaneous vein surrounds the mandibular joint on the proximo-caudal side

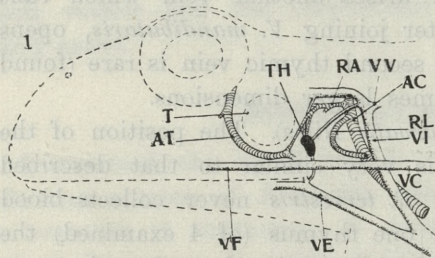


Fig. 1. *Rana temporaria*.

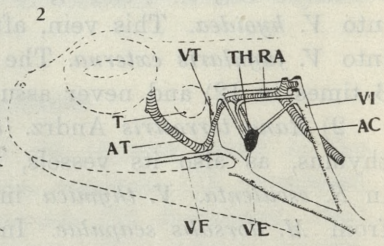


Fig. 2. *Bufo bufo*.

and after joining *V. mandibularis* and *V. lingualis* forms *V. jugularis externa* (VE). Such a distribution of veins in the temporal region is peculiar to the majority of *Salientia*, as stated first by Marriner in *Hyla aurea*, afterwards by Gillies in *Hyla coerulea*, and lastly by Bhaduri in *Bufo melanosticus* and *Cacopis systoma*. I also found a similar course of veins in genera *Bombina* and *Pelobates*. Another peculiarity of toads is the presence of the tympanic vein described by Bhaduri, which vessel connects the internal jugular vein (VI) with *V. facialis*.

The thymus in *Bufo bufo* is situated beneath *M. depressor mandibulae* in a strong capsule of connective tissue, but its caudal margin usually emerges from beneath the muscle and appears directly after removal of the skin. The thymic artery originates as in *Rana* in *R. auricularis A. cutaneae magnae* (RA) and penetrates into the thymus from the front and from above. The distribution of veins is characterised by a great variety. I observed four possibilities: 1) The thymic vein surrounds, as in *R. esculenta*, *M. cucullaris* on the lateral side and opens into the vein which comes from the skin to *V. jugularis interna*. This thymic vein usually collects the blood likewise from *M. cucullaris*,



and sometimes it does not originate from thymus but it is limited only to the muscle. 2) The thymic vein opens into *V. jugularis interna* but surrounds *M. cucullaris* not distally only proximally. 3) The thymic vein opens into the *V. jugularis interna* under *Crista parotica*. 4) *V. thymica* opens directly into *V. jugularis externa* (VE) or into *V. facio-mandibularis*.

Usually several veins run independently from a single thymus, and then between them are visible strong anastomoses (Fig. 7). It never happens that only one vein exists. Mostly the strongest vein is that which opens into the external jugular vein. All the previously described thymic veins also collect the blood from the surrounding muscles, chiefly from *M. cucullaris* and *M. depress. mandibulae*.

5) *Bufo viridis* Laur. In this species the thymus gland is situated immediately under the skin on the posterior margin of *M. depress. mandibulae* in a strong capsule of connective tissue. The course of the vessels on the surface of the thymus is not very apparent, the connective tissue there having a great quantity of melanophores. After cutting away *M. depress. mandibulae* all the thymic vessels may be seen distinctly as they run in the fascia of *M. cucullaris*. The thymic artery runs in the same manner as in *Bufo bufo*, before reaching the thymus it usually divides into smaller vessels. The thymic vein opens into the internal jugular vein (VI) under the insertion of *M. cucullaris* to the skull. It sometimes happens that there exists another thymic vein, opening into the facial vein (VF).

6) *Hyla arborea* L. The thymus is to be found in *Hyla* under *M. depress. mandibulae* or immediately under the skin on the posterior margin of this muscle. The investigation of the course of blood vessels is made difficult by the great quantity of fat which is stored in the connective tissue.

The course of the veins in that species is very similar to that in *Bufo*, but *V. tympanica* (Fig. 3, VT) does not anastomose with *V. jugularis interna* (VI) and therefore all the blood flows from the brain through the internal jugular vein. The thymic artery originates like in *Bufo* and *Rana* in a vessel forming an anastomosis between *R. auricularis A. cutaneae magnae* (RA) and *A. temporalis* (AT). The thymic vein runs into *V. facialis* (VF) or into *V. jugularis interna* (VI). Sometimes the vein which origi-



nates in the anterior margin of the thymus opens into the small *V. tympanica* (VT) which does not anastomose with *V. jugularis interna* (VI) as in toads. All above described thymic veins can occur simultaneously in the same gland, it happens also that they are connected by anastomosing vessels.

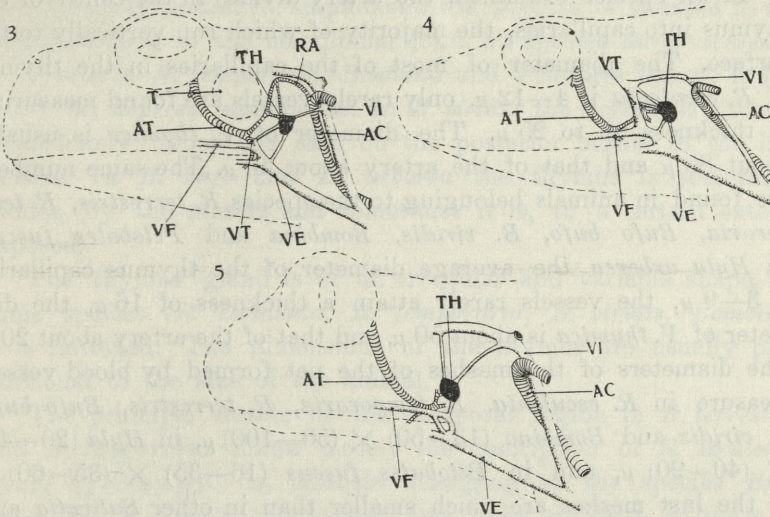
7) *Bombina bombina* L. and *B. variegata* L. Owing to difficulties in specifying these two species, and to the common occurrence of bastards (Horbulewicz), I will describe both forms together. The course of blood vessels in the temporal region of those animals differs from those previously described. The anastomosis between *A. cutanea magna* (Fig. 4, AC) and *A. temporalis* (AT) does not exist. The cutaneous artery pierces *M. depress. mandibulae* and divides on the inner surface of the skin. The blood flows to the region of the mandibular joint only through *A. temporalis* (AT). The course of the veins is similar to that in toads. The facial vein (VF) opens into the external jugular vein (VE) and is connected by *V. tympanica* (VT) with *V. jugularis interna*. The latter is, in this species, a very slender vessel (VI), and therefore the greater part of the blood from the head flows through *V. tympanica* and *V. facialis* into the external jugular vein (VE).

In *Bombina* the thymus is rather large and is surrounded by connective tissue possessing a large quantity of melanophores. The gland is completely hidden by *M. depress. mandibulae*. The blood vessels of the thymus are well standardized. The thymic artery originates from a little branch of *A. temporalis* (AT) which runs in the direction of *Crista parotica*. The thymic vein opens into *V. facialis* (VF) or into *V. tympanica* (VT). It is characteristic of the genus *Bombina* that the blood vessels on the surface of the thymus run in shallow grooves.

8) *Pelobates fuscus* Laur. The distribution of vessels in the temporal region of this amphibian bears the greatest resemblance to that described in *Bombina*, but owing to the absence of *V. tympanica* it resembles that of *Hyla arborea*. Through *A. cutanea magna* (Fig. 5, AC) the blood flows only to the skin, and to the region of the mandibular joint through *A. temporalis* (AT) only. The facial vein (VF) divides near this joint into two vessels which embrace the mandible, medially and laterally. Under the mandible these vessels join each other and form *V. jugularis externa* (VE)



together with *V. mandibularis* and *V. lingualis*. The thymus in this species is found under *M. depress. mandibulae* on *M. cucullaris* immediately above the mandibular joint. The blood supply of the thymus is characterised by a great variability. Sometimes the vessels run in the same manner as described in *Bombina*,

Fig. 3. *Hyla arborea*.Fig. 4. *Bombina*.Fig. 5. *Pelobates fuscus*.

the thymic vein opens into the facial vein (VF) and the thymic artery originates in the *A. temporalis* (AT). In several specimens, however, the thymic vein opened into *V. jugularis interna*, surrounding *M. cucullaris* as described in *Rana*, or it opened into the internal jugular vein (VI) under the *Crista parotica*. Occasionally all these vessels are found in a single thymus. In one specimen the blood flowed to the thymus gland from the aorta through *A. subclavia* and *A. occipito-vertebralis*. From the last named, originated the thymic artery.

#### The distribution of capillaries in the thymus

In accordance with Salkind I observed that the veins are branched on the surface of the thymus, and the arteries penetrate into the centre of the gland. When the gland is flat, as in *R. terrestris*, the veins form a circular vessel (Fig. 6, Pl. 9), and



when its shape is more cuboid the veins are dispersed over the whole surface of the gland (Fig. 7, Pl. 9). These remarks may be applied to all species examined, except *Pelobates fuscus*. In specimens belonging to this species the veins not only surround the surface of the thymus but also penetrate into its centre (Fig. 8, Pl. 9).

In all species examined, the artery divides in the centre of the thymus into capillaries, the majority of which run vertically to the surface. The diameter of most of the capillaries in the thymus of *R. esculenta* is 4–12  $\mu$ , only rarely vessels are found measuring in thickness up to 25  $\mu$ . The diameter of *V. thymica* is usually about 80  $\mu$  and that of the artery about 40  $\mu$ . The same numbers are found in animals belonging to the species *R. terrestris*, *R. temporaria*, *Bufo bufo*, *B. viridis*, *Bombina* and *Pelobates fuscus*. In *Hyla arborea* the average diameter of the thymus capillaries is 3–9  $\mu$ , the vessels rarely attain a thickness of 16  $\mu$ , the diameter of *V. thymica* is about 50  $\mu$ , and that of the artery about 20  $\mu$ . The diameters of the meshes of the net formed by blood vessels measure in *R. esculenta*, *R. temporaria*, *R. terrestris*, *Bufo bufo*, *B. viridis* and *Bombina* (13–50)  $\times$  (50–100)  $\mu$ , in *Hyla* (20–40)  $\times$  (40–90)  $\mu$ , and in *Pelobates fuscus* (16–35)  $\times$  (35–60)  $\mu$ , so the last meshes are much smaller than in other *Salientia* and they approach the dimensions reached in the thymus of mammals as measured by Ebner (22–45  $\mu$ ). It is worthy of mention that meshes on the side of flat thymuses are peculiar. They assume here an oval shape, their long axis being about 220  $\mu$  and the short about 16  $\mu$  (Fig. 6). Also, the presence of cysts influences the shape and dimensions of the meshes, because the vessels never enter into them. Such parts of the thymus which are deprived of vessels sometimes reach very considerable dimensions as in one specimen of *Bufo viridis* where each of the thymuses was taken up by a single cyst of 3 mm in diameter.

The distribution of blood vessels has no special relation to the localization of Hassallian cells, as also epiteloidal and myoidal cells (Dustin). Sometimes these cells are situated in the immediate neighbourhood of blood vessels, sometimes, however, they are found in places rather distant from capillaries. A special net of vessels which would spread on the surface of the cysts was not evident, on the contrary, the vessels in the neighbourhood of the cysts are more scarce than in other places. It was not



possible either to see any definite difference between the quantity of capillaries in the cortex and in the medulla of the thymus gland.

### Summary

In all the examined amphibians the thymus is situated in the neighbourhood of the mandibular joint. In species *Rana esculenta*, *R. terrestris*, *R. temporaria*, *Bombina* and *Pelobates fuscus*, it lies under *M. depress. mandibulae*. In *B. viridis* the thymus is situated immediately under the skin on the posterior border of the last muscle. In *B. bufo* and *H. arborea* the thymus is sometimes hidden by the muscle and sometimes it is, to a certain extent, exposed.

The thymus gland is of an irregular and variable shape, in some species (*R. esculenta*, *R. temporaria*, *B. viridis*, *Bombina*) it is flattened. The dimensions of the thymus are usually proportional to the size of the animal.

The principal vessels of the temporal region in *R. terrestris* and *R. temporaria* follow closely the description of *R. esculenta* given by Gaupp. In animals belonging to the species *Bufo bufo* and *B. viridis* the vessels run quite similarly to those in *B. melanostictus* as described by Bhaduri, namely, *V. cutanea magna* is absent, *V. facialis* opens into *V. jugularis externa*, *V. jugularis interna* is connected by *V. tympanica* with *V. facialis*. The vessels assume a very similar arrangement in *Hyla arborea*, but *V. tympanica* does not anastomose in this case with *V. jugularis interna*.

In *Bombina* and *Pelobates fuscus*, *A. cutanea magna* does not anastomose with *A. temporalis*, but conveys the blood to the skin only. The blood flows to the region of the mandibular joint only through *A. temporalis*. In both forms *V. cutanea magna* is non-existent and *V. facialis* opens into *V. jugularis externa*. In *Bombina* besides those vessels there is a *V. tympanica* which connects *V. jugularis interna* with *V. facialis*.

*Arteria thymica* derives in all forms examined from *A. temporalis* or from the vessel which connects this artery with *A. cutanea magna*. The thymic veins open into *V. jugularis interna*, or into *V. jugularis externa*, directly or by means of other veins. In *R. temporaria*, *Bufo bufo*, and *Hyla arborea* it happens regu-



larly that from one thymus several veins derive which are connected by anastomoses.

The course of the thymic veins is characterized by a great variability, especially conspicuous in species: *R. temporaria*, *Bufo bufo*, *Hyla arborea* and *Pelobates fuscus*.

In all the examined species, with the exception of *Pelobates fuscus*, the veins run on the surface of the gland; whereas the arteries penetrate into its centre. In *Pelobates* the veins likewise penetrate into the thymus.

In the species *Pelobates fuscus* the density of capillaries in the thymus approaches that found in the thymus of mammals, in remaining forms it is much lower.

The localization of Hassalls cells, myoidal and epiteloidal cells, has no influence on the distribution of the capillaries, while the presence of cysts impedes the existence of capillaries in their vicinity.

In conclusion, I must express my deep gratitude to Prof. Dr. Z. Grodziński for the subject, his valuable guidance, and kind assistance shown me in the course of these researches. I also offer my acknowledgments to Mr. W. Juszczyk for kindly providing me with material for my work.

### Description of figures in text and in plate 9

Abbreviations:

AC = *A. cutanea magna*.

AT = *A. temporalis*.

MC = *M. cucullaris*.

RA = *R. auricularis A. cutaneae magnae*.

RL = *R. lateralis A. cutaneae magnae*.

T = *Tympanum*.

TH = *Thymus*.

VA = *V. cava anterior*.

VC = *V. cutanea magna*.

VE = *V. jugularis externa*.

VF = *V. facialis*.

VI = *V. jugularis interna*.

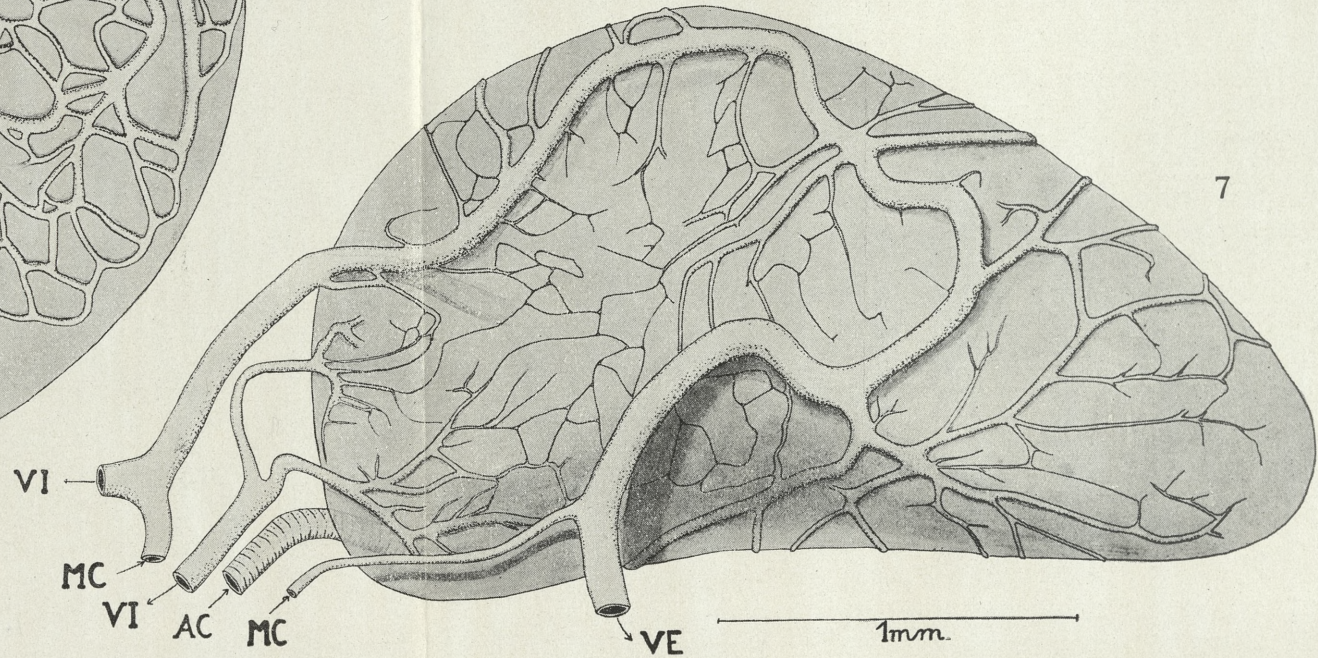
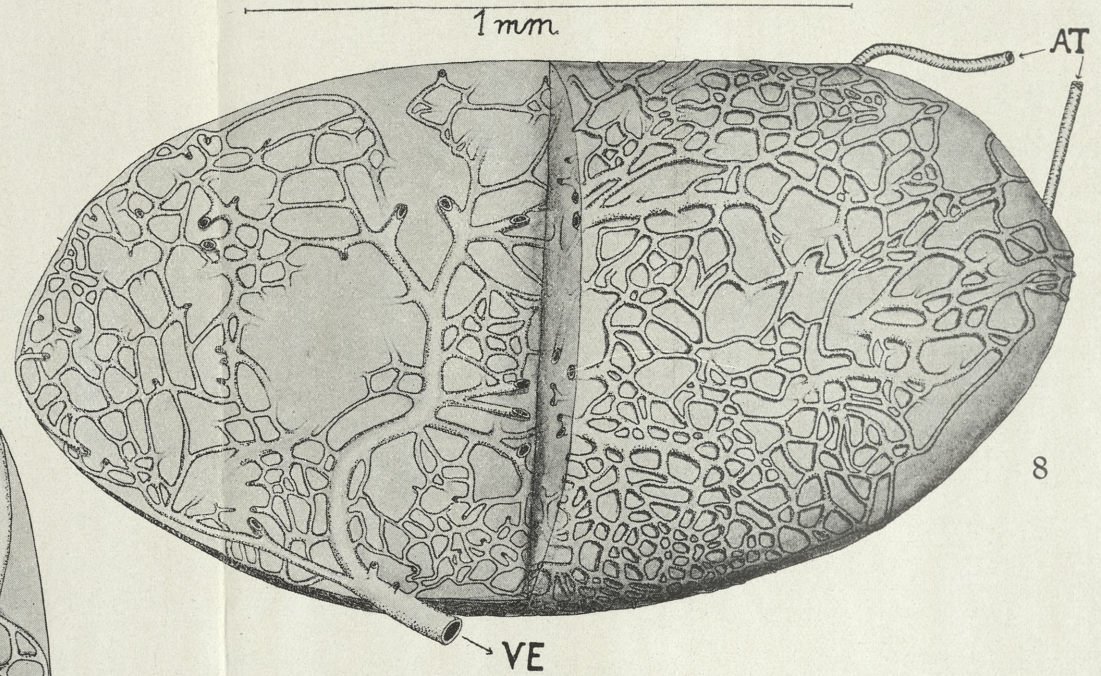
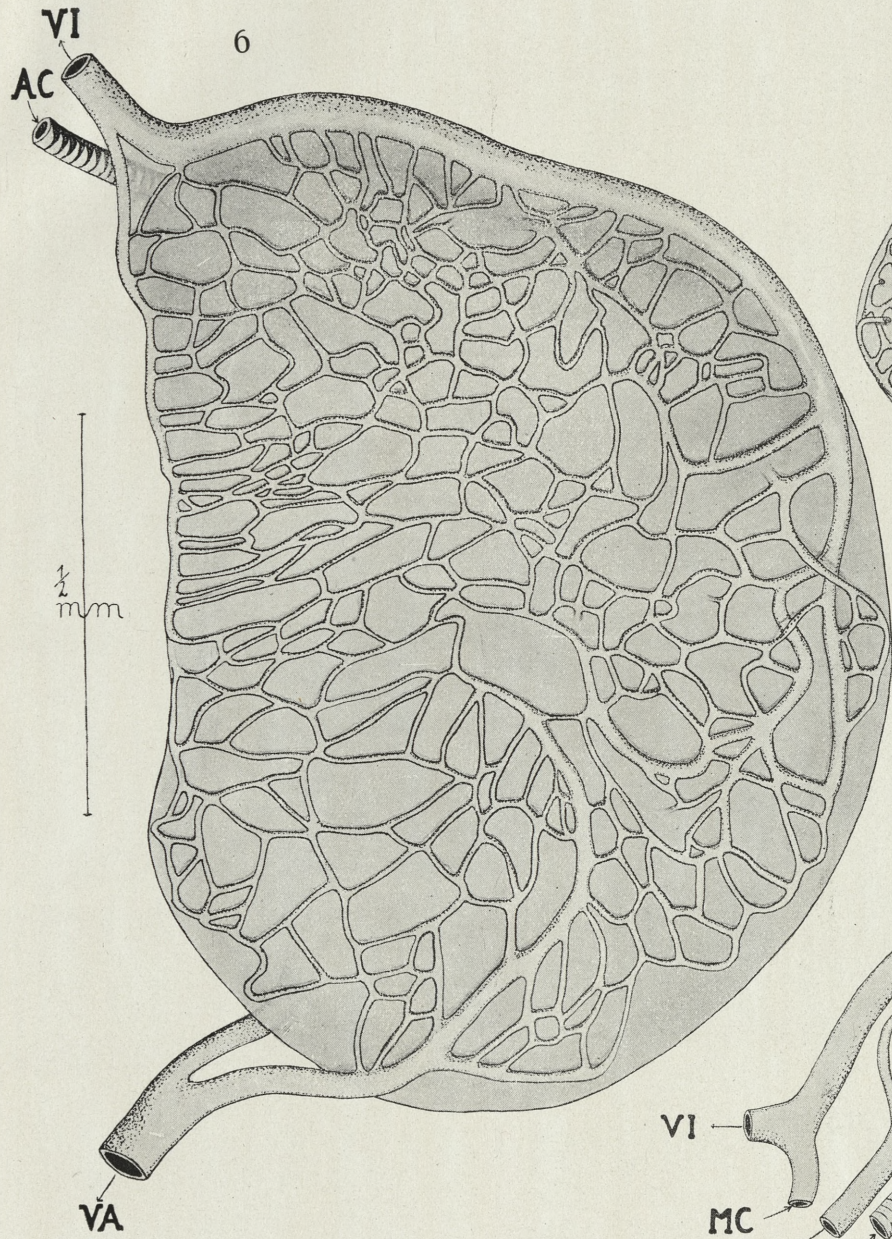
VT = *V. tympanica*.

VV = *V. vertebralis*.

Fig. 1—5. Synthetic schemes to illustrate the most commonly found courses of thymic blood vessels. Fig. 6—8, are drawn with the Abbé camera lucida, — denotes the enlargement.

Fig. 6. The left thymus of *Rana temporaria*. Principal vessels and the superficial net of capillaries are shown.





H. Szarski del.







Fig. 7. The left thymus of *Bufo bufo*. Superficial veins and smaller blood vessels are shown.

Fig. 8. The right thymus of *Pelobates fuscus*. By making two vertical cuts a fourth part of the gland was removed, therefore the central vessels of the organ are visible, as well as the cysts deprived of capillaries.

### Bibliography

1. Afanassiew B. Weitere Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Thymus und der Winterschlagdrüse der Säugethiere. Arch. mikr. anat. 14. 1877. — 2. Bhaduri J. L. Observations on the course of the facial vein and the formation of the external jugular vein in some Indian frogs and toads. Journ. Proceed. Asiatic Soc. Bengal. 27. 1933. — 3. Bhaduri J. L. Notes on the arterial system of the common Indian toad *Bufo melanostictus*. Ibidem 26. 1931. — 4. Bolau H. Glandula Thyreoidea und Glandula Thymus der Amphibien. Zool. Jahrb. Anat. Ont. 12. 1899. — 5. Cortivo B. Sulla fine vascularizzazione del timo. Monit. Zool. Ital. 43. 1933. — 6. Dustin A. P. Recherches d'histologie normale et expérimentale sur le thymus des Amphibiens Anoures I. Arch. Biol. 28. 1913. — 7. Ebner V. von. Von der Thymus. Koellikers Handb. d. Gewebelehre. 6. Aufl. 1902. — 8. Gaupp E. Anatomie des Frosches. Braunschweig 1899. — 9. Gelderen Chr. van. Venensystem. Handb. vergl. Anat. Wirbelt. Bd. 6. Berlin 1933. — 10. Gillies C. D. A note on the precaval system of *Hyla coerulea* White. Proc. R. Soc. Queensland. Brisbane 1914. — 11. Hammar J. A. Die normal morphologische Thymusforschung im letzten Vierteljahrhundert. Leipzig 1936. — 12. His W. Beiträge zur Kenntnis der zum Lymphsystem gehörigen Drüsen. Z. wiss. Zool. 10. 1860, 11. 1861. — 13. Horbulewicz L. Die Verbreitung der *Bombinator*- und *Triton*- Arten im bereiche der Bezirke Sambor, Drohobycz und Stryj (Kleinpolen). Bull. Acad. Polon. Sciences. Cracovie 1927. — 14. Klose W. Beiträge zur Morphologie und Histologie der Schilddrüse, der Thymusdrüse und des Postbranchialen Körpers von *Proteus anguineus* Z. Zellforsch. 14. 1932. — 15. Koelliker A. Mikroskopische Anatomie 1852. — 16. Kostowiecki M. Über die Beziehung der Hassallschen Körperchen zu dem benachbarten Blutgefässen in der Thymus menschlicher Föten. Bull. Acad. Polon. Sciences. Cracovie 1930. — 17. Marriener G. Anatomy of *Hyla aurea*. Trans. N. Zeal. Inst. 36. Wellington 1906. — 18. Maurer F. Schilddrüse, Thymus und Kiemenreste der Amphibien. Morph. Jahr. 13. 1888. — 19. Noble G. K. The Biology of Amphibia. N. York 1931. — 20. Pischinger A. Kiemenanlagen und ihre Schicksale bei Amnioten. Schilddrüse und epiteliäle Organe der Pharynxwand bei Tetrapoden. Handb. Vergl. Anat. Wirbelt. Bd. III. Berlin 1937. — 21. Renaud J. Traité d'histologie pratique. 1897. — 22. Salkind J. Contributions histologiques à la biologie comparée du thymus. Arch. zool. expèr. gen. 55. 1915. — 23. Werner F. Amphibia-Lurche. Kükenthal Handb. Zool. 6. II. Berlin 1930.







*Badania nad wpływem braku i nadmiaru hormonu tarczycowego w organiźmie matki na gruczoły tarczycowe zarodków i nad wpływem częściowego usunięcia gruczołów przytarczycowych na poród. — Untersuchungen über den Einfluß von Mangel und Überschuß des Schilddrüsenhormons im mütterlichen Organismus auf die Schilddrüsen der Föten sowie über den Einfluß einer teilweisen Entfernung der Nebenschilddrüsen auf den Geburtsakt<sup>1)</sup>.*

Mémoire

de MM. **S. SKOWRON**, **Z. WICIŃSKI** et **S. ZAJĄCZEK**,

présenté le 10 mai 1937, par M. E. Godlewski m. t.

(Planche 10).

In der vorliegenden Arbeit beabsichtigten wir den Einfluß zu untersuchen, welchen die Thyreoidektomie bei der Mutter auf die Schilddrüse der Föten ausübt, um festzustellen, wie und bis zu welchem Grade die Gestaltung der Schilddrüsen der Föten beeinflußt wird, wenn man der Mutter, welche ihre eigene Schilddrüse besitzt, Schilddrüsenhormon verabreicht. Die zu diesem Zwecke ausgeführten Versuche ermöglichten uns auch den Zusammenhang zwischen den Nebenschilddrüsen und dem Geburtsakt festzustellen.

I.

Die Versuche wurden an Kaninchen ausgeführt. In der ersten Versuchsreihe wurde an schwangeren Weibchen zwischen dem 12—29 Tag der Schwangerschaft eine totale Exstirpation beider Schilddrüsenlappen samt dem sie verbindenden Isthmus durch-

<sup>1)</sup> Ausgeführt mit Unterstützung des Tyszkowski-Fonds.



geführt. In jedem Falle wurde später nach Beendigung des Experiments kontrolliert, ob wirklich die Schilddrüse gänzlich entfernt worden war und ob nicht eine Regeneration aus eventuell übriggebliebenen Resten der Drüse stattgefunden hatte. Die gänzliche Exstirpation der Schilddrüse beim Kaninchen läßt sich ohne größere Schwierigkeiten durchführen, wenn man nur darauf achtet, daß während der Operation der N. recurrens nicht beschädigt wird (Lampé, B o m s k o v).

Ungeachtet dessen, in welcher Schwangerschaftsperiode die Schilddrüsenexstirpation ausgeführt wurde, entwickelten sich die Föten normal und die Jungen kamen zur normalen Zeit zur Welt. Nach dem Wurf zogen die thyreoidektomierten Weibchen ihre Jungen auf und wurden wieder schwanger, wobei die Schwangerschaft, ähnlich wie die erste, einen normalen Verlauf hatte. Auch nichtschwängere Weibchen, denen die Schilddrüse exstirpiert wurde, wurden befruchtet. Diese Ergebnisse führen also zu dem Schluß, daß die Schilddrüsenexstirpation bei unserer Tierart weder auf die Konzeptionsfähigkeit noch auf den Verlauf der Schwangerschaft, die Lebensfähigkeit der Jungen und die mütterliche Pflege einen Einfluß ausübt. Zur Erläuterung obiger Feststellungen kann die folgende kurze Zusammenstellung der betreffenden Versuchsprotokolle dienen.

TABELLE I.

Nr. des Tieres	Schilddrüsenexstirpation ausgeführt... Tage vor dem Wurf	Bemerkungen
3	5	Geburt normal, wird wieder schwanger
9	6	» » » » »
10	6	» » wird zum zweiten und dritten Mal schwanger
17	3	» »
18	6	» » wird wieder schwanger
23	18	» »
24	7	» » wird wieder schwanger
25	12	» »
26	11	» »
28	2	» » wird wieder schwanger
29	2	» » » » »



Unsere Ergebnisse bestätigen die Feststellungen anderer Verfasser, welche größtenteils mit anderem Material ausgeführt worden sind. Caro stellte fest, daß nach Exstirpation von 7/8 der Schilddrüse die Schwangerschaft einen normalen Verlauf nahm, während Friedmann angibt, daß totale Schilddrüsenexstirpation bei Katzen und Hunden die Konzeptionsfähigkeit und den Verlauf der Schwangerschaft nicht beeinflußt. Blumenthal berichtet dagegen, daß die Schilddrüsenexstirpation bei Ziegen oft Abortus und Verlust der Konzeptionsfähigkeit herbeiführt. Von den neueren Verfassern bemerkte Krichesky keinen Einfluß der Schilddrüsenexstirpation auf die Schwangerschaftsdauer. Dieser Autor führte die Schilddrüsenexstirpation 2 Stunden bis zu 12 Tagen nach der Begattung aus, während unsere Experimente zwischen dem 13—29 Tag der Schwangerschaft ausgeführt wurden. Krichesky, der sich auf nicht veröffentlichte Ergebnisse von J. F. Eckert und H. Mazur stützt, gibt an, daß die Schilddrüsenexstirpation bei der Ratte in den ersten zwei Dritteln des Schwangerschaftsperiode Abort oder Resorption der Föten hervorruft. In Veröffentlichungen älterer Verfasser begegnet man oft Angaben über den Einfluß einer Schilddrüsenexstirpation auf die Schilddrüse der Neugeborenen. Halsted gibt an, daß Hündinnen nach teilweiser Schilddrüsenexstirpation Junge mit zwanzigfacher Schilddrüsenkompensationshypertrophie werfen, Edmunds, Hunt und Gauthier bemerkten ebenfalls an demselben Material Schilddrüsenhypertrophie der Neugeborenen. Im Gegensatz zu obigen Verfassern fanden Schlagenhauer und v. Wagner bei Hündinnen, und Knaus bei Meerschweinchen keine Veränderungen an den Schilddrüsen der Nachkommenschaft thyreoidektomierter Mütter.

In unseren, an Kaninchen ausgeführten Versuchen konnten wir keine Vergrößerung der Schilddrüsen der Neugeborenen feststellen, zu welcher Zeit immer während der Schwangerschaft der Mutter die Schilddrüse exstirpiert wurde. Auch dann, wenn die Schilddrüsenexstirpation vor der Befruchtung ausgeführt wurde und die Föten vom ersten Beginn der Entwicklung an sich in einem mütterlichen Organismus ohne Schilddrüse befanden, bemerkten wir keine Größenveränderung an den Schilddrüsen der Neugeborenen. Das histologische Bild der Schilddrüsen der Neugeborenen dagegen, welche von thyreoidektomierten Müttern stammen,



scheint im Vergleich mit den Kontrolltieren einige Unterschiede aufzuweisen. Selbstverständlich ist die Schilddrüse »ein sehr labiles Organ, auf welches die Diät, die Inkrete der übrigen endokrinen Drüsen, der Arbeits- und Ruhezustand Einfluß hat und deswegen verändert sich das histologische Bild dieses Organs in Abhängigkeit von allen diesen Einflüssen. Eine zu sehr ins Einzelne gehende Beschreibung der Schilddrüse führt besonders bei der Beschreibung der menschlichen Schilddrüse zu Fehlschlüssen« (Cameron). Die Labilität dieses Organs tritt auch in seiner Struktur in den verschiedenen Lebensperioden des Individuums zutage, trotzdem können einige Einzelheiten des histologischen Baus der Drüse als Indikator für die Intensität der sekretorischen Funktion angesehen werden. Zwar ist Selzer der Ansicht, »daß die Schilddrüse (beim Menschen) sowohl in gesundem Zustand, wie auch krankhaft verändert, wenn sie eine größere Menge tätigen Sekretes produziert, keine kennzeichnenden Veränderungen der Gewebestruktur aufweist, die man mit den gewöhnlichen Mitteln erkennen könnte« und rät zur Vorsicht beim Interpretieren der Ergebnisse experimenteller Untersuchungen an Tieren, doch nehmen viele Forscher einen engen Zusammenhang zwischen dem funktionellen Zustand der Schilddrüse und ihrer Struktur an. Es folgt dies sowohl aus der genauen Untersuchung der Sekretionsprozesse in den Zellen der Schilddrüse der Kontrolltiere und derjenigen, die mit thyreotropem Hormon injiziert wurden (Severinghaus), wie auch aus den Beobachtungen von Krjlow und Sternberg über die Veränderung der Kolloidmenge in Abhängigkeit von Kopulation und Schwangerschaft. Es ist also nichts Unerwartetes, wenn man allgemein annimmt, daß die Verhöherung der Epithelzellen der Drüse, die Verminderung des Kolloids und kleine Follikel das Kennzeichen einer erhöhten Schilddrüsenfunktion sind. Zwar eignet sich die Kaninchenschilddrüse verhältnismäßig am wenigsten zu histologischen Untersuchungen, da sie beim erwachsenen Tier starke Unterschiede im histologischen Bau sogar bei einheitlichem Futter zeigt (Krogh und Okkels), doch weist selbst bei diesem Tier das Bild der Schilddrüse nach der Kopulation oder in der Schwangerschaftsperiode deutliche einseitige Veränderungen auf. Ähnlicherweise ruft auch die Verabreichung von Thyrosin bei allen Versuchstieren Abplattung der Epithelzellen hervor (Koszyk). Endlich sei



bemerkt, daß im Gegensatz zu den erwachsenen Tieren, denn solche untersuchten Krogh und Okkels, die Schilddrüsen von Neugeborenen bei den Kontrolltieren eine ziemlich weitgehende Ähnlichkeit des histologischen Bildes aufweisen, wobei die Ähnlichkeit bei Kontrolltieren aus einem Wurf größer war als bei solchen, die aus verschiedenen Würfen stammen. Es scheint sich also der Verschiedenheit der Schilddrüsenstruktur bei älteren Tieren ein eher einheitlicher Schilddrüsenbau der Neugeborenen anzuschließen. In unseren Versuchen wurden die Schilddrüsen der Kontroll- und Versuchstiere sofort nach der Geburt der Jungen fixiert, um die Wirkung extrauteriner Einflüsse auf die Schilddrüsenstruktur auszuschließen. Von jedem Wurf wurden Schilddrüsen von 3—4 Neugeborenen fixiert. Da wir mit der Möglichkeit eines unmittelbaren oder mittelbaren Einflusses, d. h. durch die Schilddrüse der Mutter, durch Temperatur und Futter auf die Schilddrüse der Jungen rechnen mußten, entnahmen wir den Neugeborenen die Schilddrüse fast das ganze Jahr hindurch, vom Frühling angefangen bis ans Ende des Winters und wachten gleichzeitig darüber, daß das Futter der Muttertiere einheitlich war.

Die Schilddrüsen von neugeborenen Kontrolltieren, das heißt von solchen, die von Müttern mit erhaltener Schilddrüse stammten, weisen ein ziemlich einheitliches mikroskopisches Bild auf. Die Drüsenfollikel sind von mittlerer Größe, mäßig stark gefüllt mit Kolloid, welches in den oberflächlichen Schichten teilweise vakuolisiert ist. Die Epithelzellen sind kubisch; die Drüse selbst ist stark durchblutet. Mitotische Zellteilungen im Follikelepithel sind selten. Während die Schilddrüsen neugeborener Kontrolltiere eine einheitliche mikroskopische Struktur aufweisen, zeigen die Schilddrüsen Neugeborener, welche von thyreoidektomierten Müttern stammen, größere Verschiedenheiten auf. In den Drüsen der Neugeborenen fällt vor allem eine schwächere Durchblutung auf, welche unabhängig vom Zeitpunkt der Schilddrüsenexstirpation bei der Mutter erscheint. In der Mehrzahl der Fälle vermehrt sich die Menge des Kolloids in den Follikeln, welche gleichzeitig größer werden und von flacheren Epithelzellen umgeben sind. Diese großen Follikel sieht man bei Neugeborenen von thyreoidektomierten Müttern mehr, als bei neugeborenen Kontrolltieren. Außerdem trifft man nur in seltenen Fällen auf eine Randvakuosierung des Kolloids, welche ein Anzeichen seiner Resorption ist



(Severinghaus), obwohl in den mittleren Partien des in den Follikeln angesammelten Kolloids Vakuolen auftreten. Mitosen sind seltener als bei Kontrolltieren. Die Mikrophotographie 1 (Taf. 10) stellt die Schilddrüse eines neugeborenen Kontrolltieres dar, die Mikrophotographie 2 dagegen die Schilddrüse eines neugeborenen Jungen einer thyreoidektomierten Mutter. Es muß betont werden, daß im Bereich der Schilddrüse, sowohl der Muttertiere als auch der Neugeborenen Bezirke auftreten, die Unterschiede in der Follikelgröße und Kolloidmenge aufweisen, wobei die Abplattung der Zellen besonders in den großen Follikeln hervortritt, was selbstredend die präzise Klassifizierung der Gesamtheit des Bildes sehr erschwert. Im ganzen weisen jedoch die histologischen Merkmale des Schilddrüsenbildes von Neugeborenen, welche von thyreoidektomierten Müttern stammen, auf verminderte Tätigkeit der Drüse hin, obwohl ein Fall ungeklärt bleibt, in welchem die sich in einem mütterlichen Organismus, welcher noch vor Schwangerschaftsbeginn thyreoidektomiert wurde, entwickelnden Föten keine Anzeichen verminderter Drüsenaktivität zeigten, da sie eine große Anzahl kleiner Follikel und ziemlich hohe Zellen enthielten. Auf Grund obiger Beobachtungen ist es also schwer genau zu bestimmen, ob die an der Mutter ausgeführte Schilddrüsenexstirpation die Schilddrüse der Nachkommenschaft beeinflusst. Wenn man nämlich das Auftreten von Veränderungen, welche eine Verminderung der Funktion der fötalen Drüse bezeugen, anerkennt, so muß man auch annehmen, daß nicht nur das thyreotrope Hormon des Fötus und eventuell der Mutter, wenn das Letztere die Plazenta durchdringen kann, sondern auch das mütterliche Schilddrüsenhormon als Aktivator der fötalen Schilddrüse wirkt! Wir sind der Ansicht, daß diese Frage durch Versuche an besser geeignetem Material gelöst werden kann, als es Kaninchen sind, deren Schilddrüse durch ihre strukturellen Veränderungen keine entschiedene Antwort gibt. Nur in einem Falle weist der Bau der Schilddrüse der Neugeborenen mittelbar auf die Möglichkeit des Vorhandenseins eines aktivierenden Einflusses des mütterlichen Schilddrüsenhormons hin; es handelt sich um Neugeborene von einem und demselben Wurf, welche von einer thyreoidektomierten Mutter stammen, deren Schilddrüse aber dabei Anzeichen einer stark erhöhten Funktion zeigte. Wir beschreiben daher diesen Fall etwas ausführlicher. Bei der Schilddrüsenexstir-



pation am Weibchen Nr 10, welche 7 Tage vor der Geburt ausgeführt wurde, bemerkten wir, daß die Schilddrüse stark durchblutet und vergrößert war. Die mikroskopische Untersuchung wies hohe Epithelzellen auf, wenig Kolloid, kleine Drüsenfollikel und eine sehr starke Durchblutung. Die beigefügte Mikrophotographie 3 (Taf. 10) stellt die Schilddrüse des Weibchens Nr 10 dar, die Mikrophotographie 4 die Schilddrüse eines anderen Weibchens aus derselben Schwangerschaftsperiode. In den Schilddrüsen der Neugeborenen waren die Follikel klein, sie enthielten eine kleine Menge vakuolisierten Kolloids, die Zellen waren ziemlich hoch mit großen bläschenförmigen Kernen. Man sieht also, daß in diesem Falle trotz Schilddrüsenexstirpation bei der Mutter die Schilddrüse der Föten erhöhte Aktivität verrät, was möglicherweise mit dem Überschuß an mütterlichem Schilddrüsenhormon im Zusammenhange steht, welches durch die Plazenta dringen und aktivierend auf die Schilddrüse des Neugeborenen wirken könnte. Es wäre nämlich schwer auf eine andere Weise den Zusammenhang zwischen dem Bau der Schilddrüse der Mutter und der Struktur der Schilddrüsen der Nachkommenschaft in dem beschriebenen Fall zu erklären.

## II.

Bei gänzlicher Schilddrüsenexstirpation beim Kaninchen entfernt man auch gleichzeitig das Paar innerer Nebenschilddrüsen, von denen je eine in dem unteren Teil jedes der zwei Schilddrüsenlappen liegt. Beim Kaninchen ist bekannterweise außer dem inneren Nebenschilddrüsenpaare noch ein zweites, äußeres, vorhanden, welches außerhalb des Schilddrüsenorgans in der Nähe der Halsschlagader liegt. Endlich kommen noch sehr oft überzählige Nebenschilddrüsen vor, welche im Bereich der Thymus liegen und deren Anzahl bis auf dreißig steigen kann (siehe Bomskov, Seite 402). Wenn man mit der Schilddrüse das innere Paar der Nebenschilddrüsen beim schwangeren Kaninchen entfernt, erfolgen gewöhnlich keine sichtbaren Veränderungen des Schwangerschaftsverlaufs, es treten auch keine Symptome eines Tetanus auf und die Geburt verläuft in den meisten Fällen normal. Es kommt jedoch vor, daß die auf diese Weise operierten Weibchen während des Geburtsaktes unter Anzeichen eines heftigen Tetanus verenden. Manchmal wird die Geburt nicht be-



endet und nur ein Teil der Jungen geworfen, während der Rest im Uterus verbleibt. In anderen Fällen wieder werden zwar alle Jungen geworfen, aber der Tetanus verhindert die Mutter alle Plazenten aufzufressen, wie das normalerweise geschieht. Diese Beobachtungen führen zu dem Schlusse, daß der Geburtsakt selber eine größere Menge Schilddrüsenhormons benötigt, dessen Menge durch die Entfernung des inneren Nebenschilddrüsenpaares mitsamt der Schilddrüse stark herabgesetzt wird. Wie wir jedoch schon erwähnten, tritt der Tod während der Geburt nur bei einer gewissen Anzahl der operierten Weibchen ein, was man, unserer Ansicht nach, vor allem durch die bei den verschiedenen Individuen schwankende Quantität des nach der Operation stehengebliebenen Nebenschilddrüsenorgans erklären kann, aus welchem die überzähligen Nebenschilddrüsen und das äußere Paar bestehen. In den meisten Fällen reicht diese Quantität zur Durchführung der Geburt aus, wenn es aber vorkommt, daß sie zu klein ist, treten Tetanusanzeichen bei den Tieren auf, welche das innere, mitsamt dem Schilddrüsenorgane entfernte Drüsenpaar nicht mehr besitzen. Der Tod des Tieres während der Geburt kann auch dann vorkommen, wenn beiderseitig nur die unteren Teile der Schilddrüsenlappen, welche die inneren Nebenschilddrüsen enthalten, entfernt wurden, während die oberen Teile der Schilddrüsenlappen geblieben sind.

Wir schließen daraus, daß der Grund für den Tod des Tieres ausschließlich in der teilweisen Parathyreoidektomie zu suchen ist, während die Thyreoidektomie in dieser Hinsicht keine Wirkung ausübt.

Wenn das Tier nach Exstirpation des inneren Nebenschilddrüsenpaares die Geburt normal überstanden hat, verlaufen auch die nachfolgenden Geburten regelrecht ohne Anzeichen von Tetanus. Wir sind der Ansicht, daß in diesen Fällen die Menge von Nebenschilddrüsenhormon, welche die äußeren und überzähligen Drüsen produzieren, ausreicht. Außerdem muß man auch mit einer kompensativen Hypertrophie des Nebenschilddrüsenorgans rechnen. Auf die letzte Möglichkeit weisen unsere Beobachtungen, aus denen folgt, daß die Entfernung des inneren Nebenschilddrüsenpaares am Anfang der Schwangerschaft in der Regel keinen Tetanus während der Geburt hervorruft, dieser aber vorkommen kann, wenn die Operation in der zweiten Hälfte oder am



Ende der Schwangerschaft ausgeführt wurde, also zu einem Zeitpunkt, wo die kompensative Hypertrophie wahrscheinlich noch nicht genügend weit fortgeschritten war. Nur in einem Falle hatte die Entfernung der Schilddrüse mit dem inneren Nebenschilddrüsenpaar am 11 Schwangerschaftstage zu normaler Zeit eine Geburt von toten und teilweise im Zerfall befindlichen Jungen zur Folge. Das Tier zeigte fünf Tage vor dem Geburtsakt Anzeichen eines leichten Tetanus, die jedoch gänzlich vorübergingen, nachdem die toten Jungen geworfen worden waren.

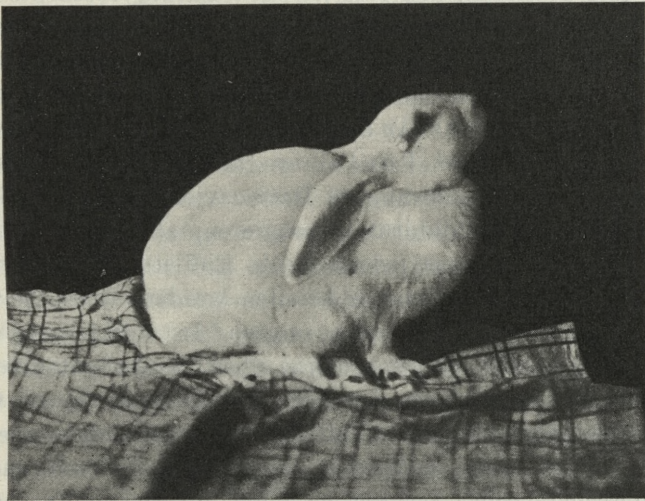


Abb. 1. Kennzeichnende Stellung des Tieres nach Exstirpation beider Nebenschilddrüsenpaare.

Die Entfernung des äußeren Drüsenpaares gab niemals positive Resultate, d. h. ein Auftreten von Tetanus während der Geburt wurde nicht verzeichnet; manchmal ruft nicht einmal die Exstirpation beider äußeren und einer inneren Nebenschilddrüse während der Geburt Tetanus hervor. Die Exstirpation beider, des inneren sowohl wie des äußeren Nebenschilddrüsenpaares bewirkt jedoch immer ein promptes Auftreten von Tetanus und das Tier verendet spätestens am fünften Tage nach der Operation. Die beigefügte Abbild. 1 zeigt die für das Kaninchen charakteristische Stellung nach Exstirpation des inneren und äußeren Nebenschilddrüsenpaares.



In zwei Fällen hatte die Exstirpation der unteren Schilddrüsenlappen mit dem inneren Nebenschilddrüsenpaar allein, den Tod des Tieres unter Tetanusanzeichen einige Tage nach der Operation, aber noch vor der Geburt, zur Folge.

Auf Grund der obigen Angaben kommen wir zum Schluß, daß zur Zeit des Geburtsaktes selbst der Bedarf an Nebenschilddrüsenhormon besonders anwächst. Unsere Vermutungen bekräftigen auch ältere und neuere Angaben über die Funktion der Nebenschilddrüsen während der Schwangerschaft. Es wurde nämlich schon früher erwiesen, daß eine teilweise Parathyreoidektomie bei schwangeren Tieren Tetanusanzeichen hervorruft, während dieselbe Operation bei nicht schwangeren Tieren keine länger dauernden Symptome einer hormonalen Insuffizienz bewirkt. Derartige Ergebnisse erhielt Vassale an Hündinnen, Pineles an Katzen, Erdheim, Adler und Thaler an Ratten. Adler und Thaler beschreiben, daß schwangere Ratten viel stärker auf die Entfernung der Nebenschilddrüsen reagieren, als nichtschwangere Weibchen, welche letztere jedoch nach Eintritt der Schwangerschaft sogar dann von Tetanus befallen werden, wenn sie vorher keine postoperativen Symptome zeigten. In Verbindung damit stehen auch klinische Beobachtungen über das Auftreten von Tetanus während der Schwangerschaft bei Frauen, denen vorher bei einer Kropfoperation ein Teil des Nebenschilddrüsenorgans entfernt worden war. Außerdem kann Tetanus während der Schwangerschaft selbst bei vorher nicht operierten Frauen vorkommen. Anzeichen von Tetanus kommen jedoch ziemlich selten vor, oft tritt dagegen eine Erhöhung der neuromuskulären Irritabilität ein, was auch von einer gewissen Unzulänglichkeit der produzierten Nebenschilddrüsenhormonmenge zeugt. Die Ergebnisse der obigen Verfasser weisen also auf eine Erhöhung der Nebenschilddrüsenhormonproduktion hin, unsere Versuche dagegen zeigen, daß die größte Erhöhung der Nebenschilddrüsenfunktion in den Zeitpunkt des Geburtsaktes selber fällt, denn dann treten am ehesten die Tetanusanzeichen nach teilweiser Parathyreoidektomie auf. Klinische Beobachtungen zeigen, daß, wenn während der Schwangerschaftsperiode bei Frauen Tetanus auftritt, er meistens gegen Ende der Schwangerschaft beginnt um während des Wochenbettes zu enden. Hoffmann bestimmte die Nebenschilddrüsenhormonmenge im Blut schwangerer Frauen



und fand, daß erst im 3—4 Schwangerschaftsmonat bestimm-  
bare Hormonmengen in 75 cm<sup>3</sup> Blutplasma vorkommen. Diese  
Menge wächst bis zum 7 resp. 8 Monat unmerklich an, vermehrt  
sich aber stärker gegen Ende der Schwangerschaft. Es ist also  
die Annahme berechtigt, daß die Funktion der Nebenschilddrüsen  
besonders zu Ende der Schwangerschaft anwächst, das heißt  
dann, wenn, wie wir aus unseren Versuchen schließen, das Be-  
dürfnis nach dem Hormon am größten ist. Zu ähnlichen Schlüs-  
sen führen auch Adler's Untersuchungen über die Senkung  
des Kalziumspiegels im Blut von Schwangeren. Diese Senkung  
beginnt gegen den 3-ten Schwangerschaftsmonat und dauert,  
indem sie sich gleichmäßig vergrößert, ungefähr bis zum 9-ten  
Monat an. Gegen den 10-ten Monat folgt eine leichte Kal-  
ziumspiegelerhöhung und während der Geburt wächst die Kal-  
ziummenge so stark, daß sie die untere Grenze der physiologi-  
schen Schwankungen erreicht. 24—48 Stunden nach der Geburt  
fällt die Kalziummenge wieder und dieser Zustand dauert unge-  
fähr bis zum 8-ten Tag an. Unserer Meinung nach beweist die  
Senkung des Kalziumniveaus während der Schwangerschaft, daß  
das Nebenschilddrüsenhormon trotz einer, freilich nur geringen  
Vergrößerung seiner Menge bis zum 8 resp. 9 Schwangerschafts-  
monat (vergl. oben erwähnte Untersuchungen von Hoffmann),  
nicht ausreicht. Eine plötzliche Erhöhung des Kalziumniveaus im  
Blut zu Ende der Schwangerschaft, welches durch eine erhöhte  
Sekretionsfunktion der Nebenschilddrüsen zustande kommt, kann  
man als regulative Sicherung des Organismus für die Zeit des  
Geburtsaktes betrachten, wenn das Bedürfnis von Nebenschild-  
drüsenhormon am größten ist. Die von Adler bemerkte Senkung  
des Kalziumniveaus nach der Geburt fällt schon in eine weniger  
kritische Zeit, wo es nicht mehr nötig ist eine größere Menge  
Nebenschilddrüsenhormons zu mobilisieren.

Evans, Szurek und Kern bemerkten, daß auch bei einer  
beiderseitigen Thyreoparathyreidektomie bei Hündinnen und nach  
längerer Verabreichung von Kalziumlaktat und Kalziumglukonat  
zwecks Behebung der postoperativen Tetanussymptome, der zur  
Zeit des Oestrus auftretende Tetanus nicht immer mit einer Sen-  
kung des Kalziumniveaus im Blut verbunden ist. In manchen  
Fällen trat nämlich trotz starker Kalziumniveausenkung kein  
Tetanus auf, in anderen Fällen wieder zeigte sich Tetanus,



obwohl die Kalziummenge fast normal war. Die genannten Verfasser zitieren die Untersuchungen von Mathieu und Barnes, welche keinen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Tetanus und der durch Follikelhormon hervorgerufenen Senkung des Kalziumniveaus bei parathyreoidektomierten Hündinnen, bei denen künstlicher Oestrus mittels Follikelhormon hervorgerufen wurde, bemerkten. Auf Grund dieser Angaben sind Evans, Szurek und Kern zu der Ansicht gelangt, daß man den oft bei parathyreoidektomierten Hündinnen während des Oestrus auftretenden Tetanus (Dragstedt, Phillips und Sudan) eher »to an instability of the nervous system (rather) than to changes in ionic balance in the blood stream at oestrus« zurechnen muß. Es ist klar, daß die Aufregung und Beweglichkeit des Tieres während des Oestrus leicht das »neuromuskuläre Gleichgewicht« bei Tieren ohne Nebenschilddrüsen stört, es steht jedoch oft in Verbindung damit eine Senkung des Kalziumniveaus im Blut, welche hauptsächlich von der Funktion der Nebenschilddrüsen abhängt. Tatsache ist, daß der Tetanus sogar bei nicht verringerter Kalziummenge mit der Entfernung der Nebenschilddrüsen, also mit Hormonmangel im Zusammenhang steht. Vor kurzem hat F. Mathieu erwiesen, daß teilweise Parathyreoidektomie bei einer Hündin sowohl während des Oestrus, wie auch der späteren Schwangerschaftsstadien das Auftreten von schweren Tetanusanfällen bewirkt. Der Tetanus war besonders stark in den letzten Tagen der Schwangerschaft. Die Tetanusanzeichen waren sowohl während des Oestrus als auch während der Schwangerschaft immer mit einer starken Herabsetzung des Kalziumniveaus im Blut verbunden, was deutlich auf einen Zusammenhang mit der Funktion der Nebenschilddrüsen hinweist.

### III.

Der Zweck der nächsten Versuchsreihe war die Feststellung, ob und in welchem Grade die Schilddrüsen der Föten beeinflusst werden, wenn man einem schwangeren Weibchen Thyreohormon verabreicht. Wir waren nämlich der Meinung, daß es auf diese Weise möglich sein würde sichere Feststellungen zu machen über das Durchdringen des Schilddrüsenhormons durch die Plazenta in der Richtung von Mutter zu Fötus. Kleine Unterschiede im Bau der Plazenta sollen bei verschiedenen Nagetieren die Durch-



lässigkeit der Plazenta für verschiedene Substanzen beeinflussen, das heißt also auch die Durchlässigkeit für Hormone, weswegen die Untersuchung einer jeden Art im Grunde genommen verschiedene Ergebnisse haben kann. Es kommt sogar im Bereich von einer und derselben Art zu verschiedenen Folgerungen. Während z. B. nach Needham die Plazenta für Thyrosin bei Menschen, Kaninchen, Katze, Hund, Ziege und Schwein durchlässig ist, nehmen manche Verfasser an, daß die Plazenta von Meerschweinchen und Hunden für diese Verbindung undurchlässig ist. Schlossmann kommt nach Zusammenstellung der betreffenden Angaben zum Schlusse, daß die Plazenta grundsätzlich für Thyrosin durchlässig ist, undurchlässig dagegen für eiweißgebundenes Schilddrüsenhormon. Courrier und Aron bemerkten bei ihren an Meerschweinchen und Hunden ausgeführten Versuchen, während welcher sie die Muttertiere mit größeren Mengen frischer Schilddrüse fütterten, keine Veränderungen in den Schilddrüsen der Föten, während Döderlein, welcher hochschwangeren Meerschweinchen eine Suspension getrockneter Schilddrüse in Wasser in die Speiseröhre einflößte, in den ersten Lebenstagen der Jungen einen erhöhten Stoffumsatz nachwies, was das Durchdringen des Hormons durch die Plazenta beweist. Im Gegensatz zu Courrier und Aron bemerkte Takahashi unter Berücksichtigung von deren Methodik Veränderungen in den Schilddrüsen neugeborener Kaninchen, was für eine wahrscheinliche Durchlässigkeit der Plazenta für Schilddrüsenhormon spricht. Im Autoreferat seiner japanisch geschriebenen Arbeit gibt der Verfasser jedoch nur an, daß die Nachkommenschaft von mit Schilddrüsenhormon gefütterten Müttern im Vergleich mit den Kontrolltieren histologisch eine bessere Entwicklung von Schilddrüse, Thymus, Hypophyse, Nebennieren und Gonaden zeigte. Außerdem bemerkte Takahashi eine verminderte Anzahl von Föten, Beschleunigung des Wachstums und Entwicklung der Jungen und größeres Gewicht der endokrinen Organe der Nachkommenschaft. Die Literaturangaben zeigen also, daß die Frage, wie das der Mutter verabreichte Schilddrüsenhormon die Föten beeinflusst, noch nicht endgültig gelöst ist.

In unseren Versuchen verabreichten wir weiblichen Kaninchen in verschiedenen Schwangerschaftsperioden mittels einer Sonde eine wässrige Suspension getrockneter Schilddrüse in den Magen.



Wir benützten ein Präparat von L. Spiess (Glandthyreoid) in Form von Tabletten zu 0·1 gr (1 gr Präparat entspricht 6 gr frischen Organs). Die Anzahl der in den letzten 6—9 Tagen der Schwangerschaft eingegebenen Tabletten betrug 12—29. In den Fällen, wo das Schilddrüsenpräparat längere Zeit hindurch (10 Tage) eingegeben wurde und die Gesamtzahl der Tabletten 30 oder mehr betrug, starben die Föten mit nachfolgender Resorption derselben ab oder es trat Abortus ein. Diese Tatsache war schon früher bekannt (Takahashi, Engelhart, Knaus u. a.). Ähnliche Erscheinungen konnte man auch nach Verabreichung von thyreotropem Hormon beobachten (Glaubach, Döderlein), wobei man bemerkte (Döderlein), daß dieses Hormon beim Meerschweinchen nicht nur die Schilddrüse der Mutter, sondern auch diejenige der Föten aktiviert, was für ein Durchdringen dieses Faktors durch die Plazenta spricht. Bekanntlich ruft neben einem Überschuß von thyreotropen und gonadotropen Hormonen auch Follikelhormon Abortus hervor (Parkes und Bellerby, Kelly, Courrier und seine Schule, Cikowski, Skowron und Turyna, Keller und Skowron, Skowron, Peraus).

Einer von uns (Skowron) hat endlich festgestellt, daß männliches Hormon ebenfalls Abortus hervorruft und daß, während sowohl Follikelhormon wie auch männliches Hormon beim Kaninchen abortiv wirken, diese Hormone zusammen angewendet sich bis zu einem gewissen Grade antagonistisch verhalten. Man muß dann die Dosen beider Hormone stark vergrößern, um einen positiven dh. abortiven Effekt zu erreichen. In einer kürzlich erschienenen Publikation führt A. M. Hain gänzlich falsch die Ergebnisse dieser Arbeit an, indem sie behauptet, daß einer von uns lediglich den Antagonismus zwischen dem männlichen und dem Follikelhormon betont hätte. Die mit anderem Material (Ratten), anderen Präparaten arbeitende Verfasserin konnte den bei gleichzeitigem Verabreichen bemerkten Antagonismus zwischen dem männlichen und dem Follikelhormon nicht bestätigen und kommt zu dem Schluß, daß »male hormone may, in itself, be an interruptive agent and abortifacient«, welchen Schluß einer von uns (Skowron) schon drei Jahre früher aus seinen Untersuchungen gezogen hat, was er sogar im Titel seiner von der Verfasserin zitierten Publikation vermerkte: »Interruption de la ge-

#### Errata.



station chez des lapines sous l'influence de l'hormone génitale mâle«<sup>1)</sup>.

Der histologische Bau der Schilddrüsen der neugeborenen Kaninchen, welche von Müttern stammen, denen Schilddrüsenhormon in noch nicht abortiver Dosis verabreicht wurde, zeigen keine Veränderungen, die denjenigen analog wären, welche in der Schilddrüse der mit Schilddrüsenhormon gefütterten Mutter auftreten. Bei der Mutter bewirkt nämlich die Verabreichung von Schilddrüsenhormon eine Erhöhung der Kolloidmenge in der Schilddrüse, die Epithelzellen sind abgeplattet, das Kolloid selbst ist festerer Konsistenz und weniger vakuolisiert. Auf diese Weise reagiert die Schilddrüse von Ratten, Kaninchen und Mäusen auf Thyrosin oder Fütterung mit Schilddrüse (Cameron). Kürzlich betont wieder Koszyk hauptsächlich die Abplattung der Epithelzellen. Diese Veränderungen, die übrigens denjenigen ähnlich sind, welche die Jodverabreichung hervorruft, zeugen von einer verminderten Funktion der eigenen Schilddrüse, welche von einem Überschuß des eingeführten Hormons hervorgerufen wird. Ähnliche Umwandlungen bemerkten auch Courrier und Aron bei Meerschweinchen. Im Gegensatz zur Schilddrüse der Mutter zeigten jedoch die von uns untersuchten Schilddrüsen der Neugeborenen, wenn die mittlere Tagesdosis des der Mutter verabreichten Schilddrüsenhormons ungefähr 2—3 Tabletten (Gland-Thyreoid, Spiess) während der 6—8 letzten Tage der Schwangerschaft betrug, keinerlei histologische Anzeichen einer verminderten Drüsenfunktion. Im Gegenteil, die Schilddrüsen der Kaninchen von einigen Würfen enthielten weniger und an den Rändern stark vakuolisiertes Kolloid, die Epithelzellen waren eigentlich niedrig-zylindrisch und oft erschienen unter ihnen Mitosen. Wir sind der Ansicht, daß die Ergebnisse unserer Versuche, trotz mangelnder deutlicher Veränderungen in den fötalen Schilddrüsen dafür sprechen, daß die Kaninchenplazenta für das Schilddrüsenhormon durchlässig ist. Wenn man nämlich die Undurchlässigkeit der Plazenta für das Schilddrüsenhormon annimmt, so kann man das Verhalten der Schilddrüsen der Neugeborenen, welche von der Mutter Nr 10 stammen und oben beschrieben wurden, nicht erklären. Wenn man sodann die Untersuchungen Takahashis an Kaninchen

<sup>1)</sup> Vergl. auch J. M. Robson. Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. v. 35. 1936—37.



und von Döderlein an Meerschweinchen berücksichtigt, die das Durchdringen des Hormons durch die Plazenta für wahrscheinlich halten, so muß man annehmen, daß der Überschuß von Schilddrüsenhormon, welches die mütterliche Schilddrüse inaktiviert, beim Fötus keine analogen Veränderungen hervorruft, sondern auf seine Drüse eher stimulierend wirkt, wofür auch die von uns manchmal beobachteten Veränderungen in der Schilddrüse der Neugeborenen sprechen, die eher eine Stimulierung als eine Hemmung der Inkretionstätigkeit bezeugen. Die Tatsache, daß Courier und Aron keinerlei Veränderungen in der Nachkommenschaft hyperthyreoidisierter Mütter (Meerschweinchen) fanden, spricht unserer Meinung nach nicht gegen die Durchlässigkeit der Plazenta für das Schilddrüsenhormon, da die genannten Verfasser in den fötalen Schilddrüsen eher eine Herabsetzung der Inkretionstätigkeit zu finden hofften, weil sie der Meinung waren, daß dieses Hormon sowohl auf den mütterlichen als auch auf den fötalen Organismus dieselbe Wirkung ausübt. Indessen sprechen die Befunde eher für eine andere Deutung, laut deren das im Überschuß verabreichte Schilddrüsenhormon in höherem oder geringerem Grad nur die mütterliche Schilddrüse inaktiviert, während es auf die fötalen mehr stimulierend wirkt.

Zusammenfassend kommen wir zu folgenden Ergebnissen:

- 1) Das Durchdringen des Schilddrüsenhormons durch die Kaninchenplazenta ist wahrscheinlich erwiesen, wobei der Überschuß des verabreichten Hormons nur auf die Schilddrüse der Mutter hemmend wirkt, bei den Föten aber eine eher stimulierende Wirkung ausübt.
- 2) Der Bedarf des Organismus an Nebenschilddrüsenhormon steigert sich besonders zur Zeit des Geburtsaktes.

Aus dem Biologisch-Embryologischen Institut der Jagellonischen Universität in Kraków (Leiter: Prof. Dr E. Godlewski).

### Schrifttum.

1. M. Adler. Arch. Gyn. B. 143. 1930. — 2. A. Adler u. H. Thaler. Zeitschr. Geburtsh. Gyn. B. 62. 1908. — 3. Blumenthal. Verhandl. d. 23 Kongr. f. inn. Med. 1906. — 4. Chr. Bomskov. Methodik d. Hormonforschung. Leipzig 1937. — 5. A. T. Cameron. Recent advances in endocrinology. III ed. London. 1936. — 6. Caro. Berlin. Klin. Wschr. 1905. — 7. S. Cikowski, S. Skowron i E. Turyna. Ginek. Pol. T. XII. 1933. — 8.



- R. Courrier e. M. Aron. Compt. Rend. Soc. Biol. T. 100. 1929. — 9.  
R. Courrier e. R. Kehl. Compt. Rend. Soc. Biol. T. 112. 1933. — 10.  
R. Courrier e. R. Raynaud. Compt. Rend. Soc. Biol. T. 115. 1934. T. 116.  
1934. — 11. G. Döderlein. Arch. Gyn. B. 133. 1928. — 11. G. Döderlein. Arch. Gyn. B. 155. 1934. — 13. Dragstedt, Phillips a. Sudan. Amer. Journ. Physiol. v. 65. 1923. — 14. Edmunds, Hunt, Gauthier. zit. n. G. Döderlein. — 15. E. Engelhart. Klin. Wschr. J. 14. 1935. — 16. E. I. Evans, S. Szurek a. R. Kern. Amer. Journ. Physiol. v. 117. 1936. — 17. J. Friedmann. Arch. f. Gyn. B. 153. 1933. — 18. S. Glau-bach. Wien. Klin. Wschr. J. XLVII. 1934. — 19. H. J. Halsted. Hopk. hosp. rep. 1. 1896. zit. n. H. Knaus. — 20. A. M. Hain. Quart. Journ. Exper. Physiol. v. 26. 1937. — 21. F. Hoffmann. Arch. f. Gyn. B. 153. 1933. — 22. T. Keller i S. Skowron. Ginek. Pol. T. XIII. 1934. — 23. G. L. Kelly. Surgery etc. v. 52. 1931. — 24. J. Koszyk. Bull. Ac. Pol. Cl. Méd. 1936. — 25. H. Knaus. Arch. Klin. Chir. B. 131. 1924. — 26. B. Krichesky. Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. v. 32. 1935. — 27. L. N. Krjlow u. A. J. Sternberg. Endokrinologie. B. 10. 1932. — 28. M. Krogh u. H. Okkels. Klin. Wschr. 1936. — 29. A. E. Lampe. Handb. d. biolog. Arbeitsmeth. — 30. Mathieu a. Barnes. Amer. Journ. Physiol. v. 105. 1933. — 31. Mathieu. F. Compt. Rend. Soc. Biol. T. 124. 1937. — 32. J. Needham. Chemical Embryology. v. III. Cambridge. 1931. — 33. Schlagenhauer u. v. Wagner. zit. n. H. Knaus. — 34. H. Schlossmann. Ergebn. Physiol. B. 34. 1932. — 35. A. Selzer. Pol. Przegł. Chir. T. XV. 1936. — 36. A. E. Severinghaus. Zeitschr. Zellf. mikr. Anat. B. 19. 1933. — 37. S. Skowron. Compt. Rend. Soc. Biol. T. 119. 1935. — 38. S. Skowron. Pol. Gaz. Lek. 1935. — 39. A. S. Parkes a. C. W. Bellerby. Journ. Physiol. v. 64. 1927. — 40. A. Peraus. Bull. Ac. Pol. Cl. Méd. 1936. — 41. T. Takahashi. Fol. endocr. jap. 5. 1929. Autoref. Ber. ges. Physiol. B. 53. 1930.

### Erklärung der Tafel 10.

Mikrophot. 1. Vergr. 200×. Schilddrüse eines neugeborenen Kontroll-tieres. Kleine Drüsenfollikel mit schwach vakuolisierten Kolloid (k).

Mikrophot. 2. Vergr. 200×. Schilddrüse eines Neugeborenen von einer thyreoidektomierten Mutter. Die Drüsenfollikel größer, mit am Rand schwach vakuolisiertem Kolloid gefüllt. Vakuolen innerhalb des Kolloids (v). Blutgefäße mit Blutkörperchen (n).

Mikroph. 3. Vergr. 200×. Schilddrüse des Weibchens Nr. 10 thyreoidekto-miert 7 Tage vor der Geburt. Wenige kleine Drüsenfollikel mit kleiner Kol-loidmenge. Drüsenzellen ziemlich hoch mit großen bläschenförmigen Kernen.

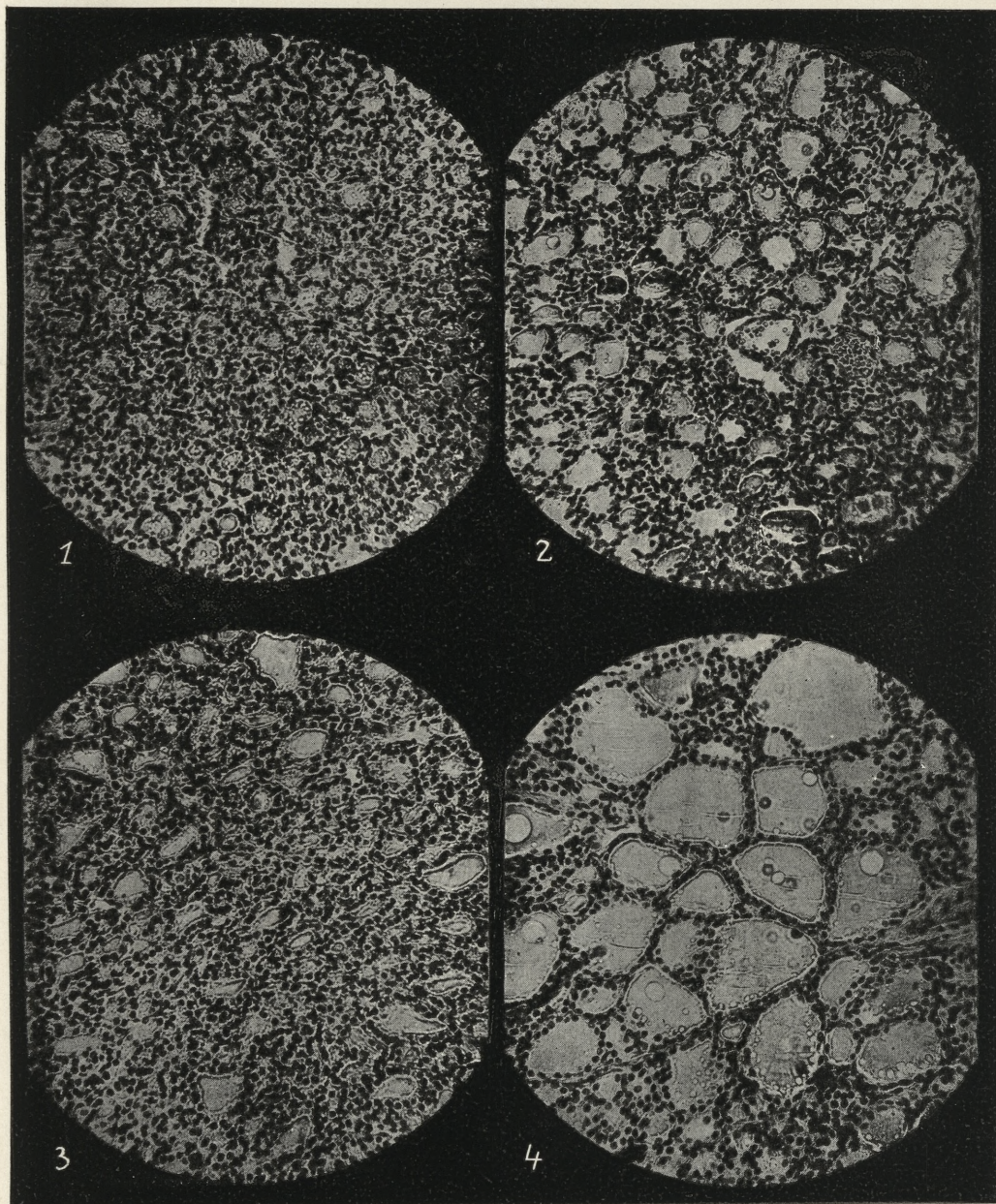
Mikrophot. 4. Vergr. 200×. Schilddrüse eines schwangeren Weibchens aus derselben Periode wie Weibchen Nr. 10. Große Drüsenfollikel mit Kol-loid. Epithelzellen flacher. Das Bild ist für die Mehrzahl der schwangeren Weibchen kennzeichnend.

Alle Mikrophotographien sind um 1/10 verkleinert.



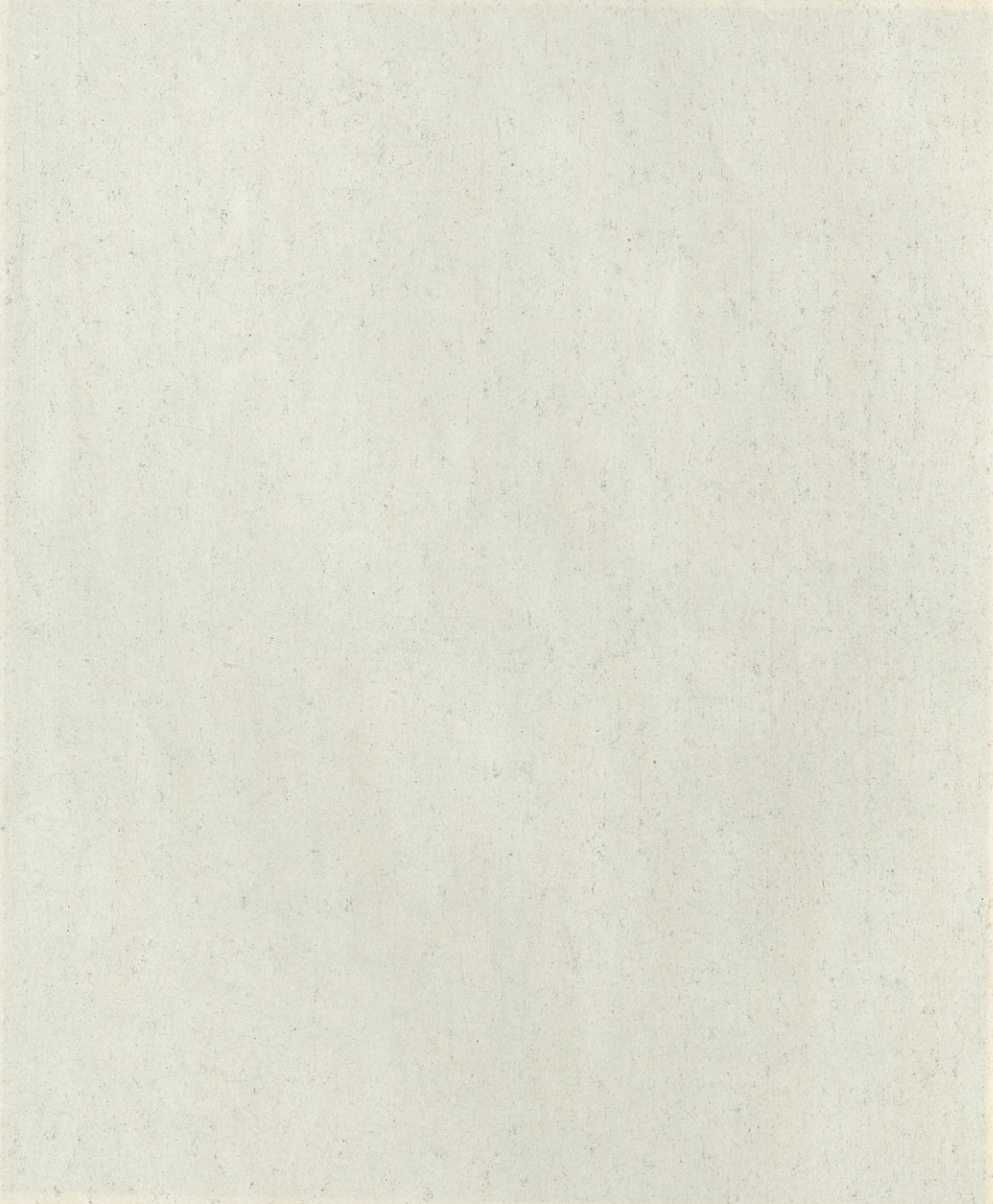
1. Die ...  
 2. Die ...  
 3. Die ...  
 4. Die ...  
 5. Die ...  
 6. Die ...  
 7. Die ...  
 8. Die ...  
 9. Die ...  
 10. Die ...  
 11. Die ...  
 12. Die ...  
 13. Die ...  
 14. Die ...  
 15. Die ...  
 16. Die ...  
 17. Die ...  
 18. Die ...  
 19. Die ...  
 20. Die ...  
 21. Die ...  
 22. Die ...  
 23. Die ...  
 24. Die ...  
 25. Die ...  
 26. Die ...  
 27. Die ...  
 28. Die ...  
 29. Die ...  
 30. Die ...  
 31. Die ...  
 32. Die ...  
 33. Die ...  
 34. Die ...  
 35. Die ...  
 36. Die ...  
 37. Die ...  
 38. Die ...  
 39. Die ...  
 40. Die ...  
 41. Die ...  
 42. Die ...  
 43. Die ...  
 44. Die ...  
 45. Die ...  
 46. Die ...  
 47. Die ...  
 48. Die ...  
 49. Die ...  
 50. Die ...  
 51. Die ...  
 52. Die ...  
 53. Die ...  
 54. Die ...  
 55. Die ...  
 56. Die ...  
 57. Die ...  
 58. Die ...  
 59. Die ...  
 60. Die ...  
 61. Die ...  
 62. Die ...  
 63. Die ...  
 64. Die ...  
 65. Die ...  
 66. Die ...  
 67. Die ...  
 68. Die ...  
 69. Die ...  
 70. Die ...  
 71. Die ...  
 72. Die ...  
 73. Die ...  
 74. Die ...  
 75. Die ...  
 76. Die ...  
 77. Die ...  
 78. Die ...  
 79. Die ...  
 80. Die ...  
 81. Die ...  
 82. Die ...  
 83. Die ...  
 84. Die ...  
 85. Die ...  
 86. Die ...  
 87. Die ...  
 88. Die ...  
 89. Die ...  
 90. Die ...  
 91. Die ...  
 92. Die ...  
 93. Die ...  
 94. Die ...  
 95. Die ...  
 96. Die ...  
 97. Die ...  
 98. Die ...  
 99. Die ...  
 100. Die ...





S. Skowron, Z. Wiciński und S. Zajaczek.







*O faunie skatek jurajskich w dorzeczu Czarneho Czeremosza. — Die Faunen der Czarny Czeremosz-Szybeny-klippen.*

Mémoire

de M. B. ŚWIDERSKI,

présenté le 10 mai 1937, par M. J. Nowak m. t.

(Planche 11).

**I. Doggerfauna der Szczawnikklippe.**

Seit dem Erscheinen der grundlegenden Arbeit von H. Zapalowicz<sup>1)</sup>, wurde man auf die Jura- und »Melaphyr«-Klippen aufmerksam, die im oberen Czarny Czeremosztale in dessen Zufluß dem Szybeny, in den polnischen Ostkarpathen, und in den oberen Zuflüssen der Schwarzen und Weißen Theiß in einer flyschartigen Sandstein- und Schieferzone gelegen sind. Die Sandsteine wurden von H. Zapalowicz zur Oberen Kreide zugezählt, die Schieferzone als Untere Kreide bezeichnet.

Während meiner geologischen Aufnahmen in den polnischen Ostkarpathen habe ich an sämtlichen Klippen Versteinerungen gesammelt. Dieselben werden der Reihe nach paläontologisch bearbeitet.

Unmittelbar an der auf der geologischen Karte von H. Zapalowicz eingetragenen Juraklippe im oberen Szybenyental, oberhalb des rechten Zuflusses Szczawnik, habe ich am rechten Ufer

<sup>1)</sup> H. Zapalowicz: Eine geologische Skizze des östlichen Theiles der Pokutisch-Marmaroscher Grenzkarpathen. Jahrbuch der k. k. geol. Reichsanstalt, 1886, 36 Bd., 2 u. 3 H.



des Szybenybaches eine neue Klippe entdeckt, die hauptsächlich aus einem gelblichen und bräunlichen Tuffgestein zusammengesetzt ist, nebst kleinen Blöcken von hellgrauen, organogenen Kalkstein- und Albitbasaltblöcken<sup>1)</sup>. Die etwa 12 m lange und bis 6 m hohe Klippenwand grenzt mittels eines anormalen Kontakts mit grauen Schiefen und hellen Flyschsandsteinen. Die vulkanischen Tuffe sind geschichtet und bestehen aus bis 2 m dicken Bänken des psammitischen und dünneren Lagen des pelitischen Tuffmaterials.

An der angewitterten Fläche konnte ich, hauptsächlich in den psammitischen Tuffen, zirca 30 kleine Ammonitenexemplare sammeln, die verhältnismäßig gut erhalten waren. Die Ammonitenkerne sind aus hellgrauem oder dunkelrötlichem Kalkstein gebildet und befinden sich offenbar auf sekundärer Lagerstätte.

Die gesammelte Ammonitenfauna enthält folgende Arten:

<i>Phylloceras (Sowerbyceras) subtortisulcatum</i>	Pomp.	14	Exemplare
„	„	<i>transiens</i>	Pomp. . . . . 5
„		<i>Zignoi</i>	d'Orb. . . . . 4
„		<i>Demidoffi</i>	Rousseau . . . . . 2
„		<i>Kudernatschi</i>	Hauer . . . . . 1
<i>Lissoceras voutense</i>	Oppel	. . . . .	1

### Gattung *Phylloceras*.

*Phylloceras (Sowerbyceras) subtortisulcatum* Pomp.

Textfig. 1—3, Taf. 11, Fig. 1—3.

- 1887 *Ammonites tortisulcatum ornati* Quenstedt: Ammoniten, S. 762, Taf. LXXXVI, Fig. 34, 36.  
 z. t. *Phylloceras tortisulcatum* Neumayr, Zittel, v. Hauer, u. a.  
 1893 *Phylloceras subtortisulcatum* Pompeckj: Revision der Ammoniten, S. 200, Taf. II, Fig. 9, 9a.  
 1895 *Sowerbyceras subtortisulcatum* Parona u. Bonarelli: Callovien inf. de Savoie, S. 86.

<sup>1)</sup> Die petrographische Bearbeitung der Basalt- und Tuffgesteine hat Prof. Dr J. Tokarski übernommen.



Durchmesser in mm	Höhe des letzten Umganges über der Naht	Höhe des letzten Umganges in der Win- dungsebene	Breite des letzten Umganges	Nabelweite
29·5—1	13·4—0·45	8·8—0·30	12·4—0·42	7·3—0·25
26	12·6—0·48	8·2—0·31	10·8—0·42	6 —0·23
25	11·5—0·46	7·6—0·30	10·2—0·41	5·4—0·22
23·4	10·8—0·46	7·8—0·33	10·4—0·44	5·1—0·21
23·3	10 —0·43	8·2—0·35	11 —0·47	4·1—0·18
22	10·5—0·48	6·5—0·33	9·1—0·41	—
17·8	8·4—0·47	7 —0·37	8 —0·45	2·9—0·16
16·9	8·6—0·51	5·8—0·34	7·8—0·46	4 —0·23
16·5	8 —0·48	5 —0·33	7·3—0·44	3·3—0·20
16·3	7·8—0·48	6 —0·37	6·7—0·41	4·2—0·26
15·8	7·3—0·46	5·7—0·36	6·5—0·41	3·9—0·25
14·9	6·5—0·44	5 —0·33	6·5—0·44	2·8—0·19
14·6	6·6—0·45	5·5—0·37	6·4—0·44	3·4—0·23
13·6	6 —0·44	4·8—0·35	6·4—0·47	3·2—0·24

Diese Art ist durch die größte Anzahl von Exemplaren in meiner Sammlung vertreten. Die Windungen sind durch einen fast rechteckigen Querschnitt und abgeplattete, beinahe parallele Flanken charakteristisch. Die letzten endigen gegen den Nabel zu mit einer relativ scharfen Kante. Gegen die Außenseite zu gehen die Flanken in eine enge Rundung über. Die größte Dicke der Umgänge befindet sich in der mittleren Zone der abgeplatteten Flanken. Die Außenseite ist schwach gewölbt. Der Nabel scheint recht tief zu liegen; seine Dimensionsverhältnisse (0·16—0·26 des Durchmessers) sind an meinen Exemplaren, der verschiedenen Erhaltung wegen, wenig konstant. Die Windungshöhe ist im allgemeinen etwas größer als die Dicke und wird nur selten von der letzten übertroffen.

Die Einschnürungen erscheinen erst an größeren Exemplaren deutlich. An den mir zur Verfügung stehenden kleineren, vollständigen Steinkernen kommen die Einschnürungen in Übereinstimmung mit Pompeckjs Ausführungen selten vor. Ich konnte die Einschnürungen an fragmentarisch erhaltenen Windungen zweier größerer Steinkerne untersuchen, als die Höhe des letzten Um-



ganges ca 13·5 mm betrug. Sie sind nach vorn geschwungen und zeigen eine Doppelbiegung an der Außenseite der Flanken. Dieselbe wird von einem nach vorne schwach konvexen Bogen überschritten. Die Einschnürungen sind auf der Außenseite schwach sichtbar und erst bei größeren Exemplaren erscheint hier ein Wulst, der schwach bogenförmig nach vorn gerichtet ist.

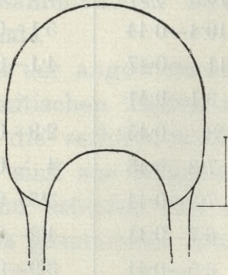


Fig. 1. Schematischer Querschnitt des *Phylloc. subtortisulcatum* bei einem Exemplar von 26 mm Durchmesser.

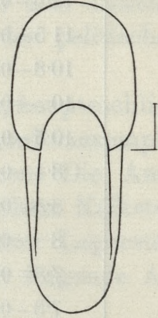


Fig. 2. Querschnitt des *Phylloc. subtortisulcatum* bei 13·6 mm Durchmesser.

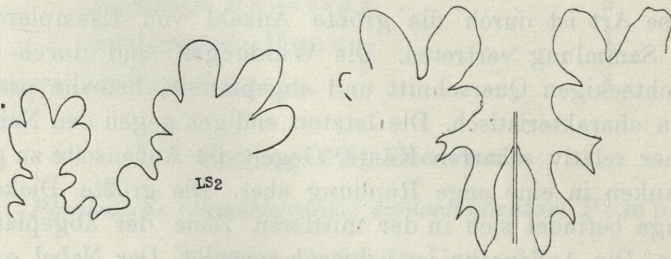


Fig. 3. *Phylloc. subtortisulcatum* Siphonalsattel und zweiter und dritter Lateralsattel bei 13 mm Windungshöhe.

Die Suturen sind an den mir zur Verfügung stehenden Exemplaren nur teilweise sichtbar. Die Lobenlinie enthält breite Lobenstämme. Der Siphonallobus erreicht die gleiche Tiefe wie der erste Laterallobus. In dieser Beziehung unterscheiden sich meine Exemplare von den von L. Loczy<sup>1)</sup> beschriebenen *Phylloceras Tietzei* Till, die sonst den von mir untersuchten Steinkernen

<sup>1)</sup> L. Loczy: Monographie der Villanyer Callovien-Ammoniten. Geologica Hungaria Bd. I, 1915: S. 303, Taf. III, Fig. 2—3.



recht ähnlich sind. Die Sättel sind breit und plump. Der Siphonalsattel ist diphyllitisch. Im ganzen genommen sind die Lobenlinien an den von mir untersuchten Steinkernen verhältnismäßig einfach und wenig geschlitzt. Auch sind sie einfacher als die von Pompeckj<sup>1)</sup> aufgezeichneten Suturen, was sich durch den Erhaltungszustand und ein relativ jungdliches Alter meiner Exemplare leicht erklären läßt.

*Phylloceras Kobyi* Loriol: Oxf. Jura Bernois. Taf. I, Fig. 4 hat weniger abgeplattete Flanken und einen kleineren Nabel.

*Phylloceras protortisulcatum* Pompeckj: Revision der Ammoniten, S. 53, Taf. II, Fig. 12 hat einen anderen, an der Außenseite engeren Querschnitt. Seine Suture ähnelt der Lobenlinie der von mir untersuchten Exemplare.

*Phylloceras transiens* Pompeckj unterscheidet sich durch stärker gewölbte Flanken und schwächer gebogene Einschnürungen

*Phylloceras (Sowerbyceras) transiens* Pomp.

Textfig. 4—6, Taf. 11, Fig. 4—6

- 1849 *Ammonites heterophyllus ornati* Quenstedt: Cephalopoden, S. 101, Taf. VI, Fig. 2.  
 1858 *Ammonites tortisulcatum* Quenstedt: Jura, S. 543, Taf. LXXI Fig. 19.  
 1893 *Phylloceras transiens* Pompeckj: Revision der Ammoniten, S. 200, Taf. II, Fig. 6—8.  
 1895 *Sowerbyceras transiens* Parona u. Bonarelli: Callovien inf. de Savoie p. 86—89.

Durchmesser in mm	Höhe des letzten Umganges über Jer Nath	Höhe des letzten Umganges in der Win- dungsebene	Breite des letzten Umganges	Nabelweite
19 —1	9 —0·47	7 —0·37	9·1—0·48	3·2—0·17
17·8	8·6—0·48	6·6—0·37	8·2—0·46	3·8—0·21
17	8·3—0·49	6 —0·35	7·7—0·45	4 —0·23
14	6·5—0·46	5 —0·36	6·3—0·45	3·4—0·24
13·5	6·5—0·48	3·9—0·29	5·8—0·43	3·2—0·24

<sup>1)</sup> J. F. Pompeckj: Beiträge zu einer Revision der Ammoniten des schwäbischen Jura. Jahreshefte d. Vereins f. vaterl. Naturkunde in Württemberg. 1893. 49 Jahrgang, S. 193, Fig. 8.



Diese Art, die nach den von mir gesammelten Exemplaren die zweithäufigste neben dem *Phylloceras subtortisulcatum* P o m p. ist, besitzt ungefähr ähnliche Dimensionen wie die letztgenannte. Sie unterscheidet sich durch etwas dickere Windungen, deren Flanken und Außenseite weniger abgeflacht sind. Die Flanken gehen gegen den Nabel und nach der Außenseite zu mit starker Krümmung, ohne Kante über. Die Nabelweite scheint an den größeren Exemplaren abzunehmen.

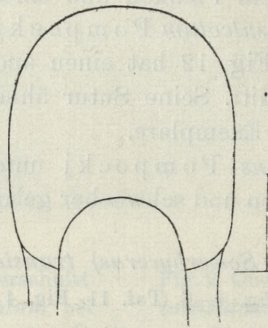


Fig. 4. Schematischer Querschnitt des *Phylloc. transiens* bei einem Exemplar von 19 mm Durchmesser.

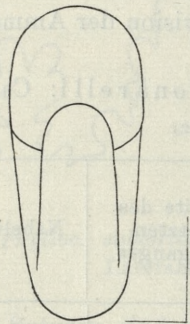


Fig. 5. Querschnitt des *Phylloc. transiens* bei 14 mm Durchmesser.

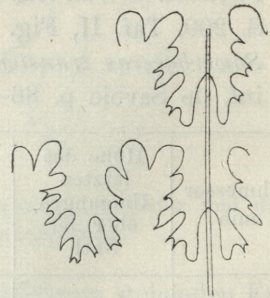


Fig. 6. Lobenlinie des *Phylloc. transiens* bei 4-6 mm Windungshöhe.

Die Einschnürungen sind bei den mir zur Verfügung stehenden Steinkernen schlecht sichtbar. Sie erscheinen schwach bogenförmig, nach vorn geschwungen und sind an den Flanken mit der konvexen Seite nach rückwärts gerichtet. Eine Doppelbiegung



ist nicht sichtbar. An der Externseite verlaufen die Einschnürungen schwach konvex, nach vorn gerichtet.

Die Lobenlinie ist, entsprechend der Größe meiner Exemplare, einfacher und weniger zerschlitzt als die von Pompeckj angegebene Suturaabildung. Der Siphonalsattel und der erste Lateralsattel sind diphyllitisch. Der Siphonallobus ist ungefähr gleich tief wie der erste Laterallobus. Die etwas mehr differenzierte Lobenlinie unterscheidet sich, trotz einem kleineren Durchmesser meines *Phylloc. transiens* von der Sutura des *Phylloc. subtortisulcatum*, ähnelt dafür derjenigen des *Phylloc. Kobyi* Loriol<sup>1)</sup>.

*Phylloceras Zignoi* d'Orb.

Textfig. 7—9, Taf. 11, Fig. 7.

- 1847 *Ammonites Zignodianus* d'Orbigny: Céphalop. français S. 493, Taf. 182.  
 1868 *Phylloceras Zignodianum* d'Orb. Zittel: Paläont. Notizen S. 603.  
 1871 *Phylloceras Zignoanum* d'Orb. Neymayr: Jurastudien, S. 339, Taf. XVII, Fig. 1.  
 1871 *Phylloceras mediterraneum* Neymayr: Jurastudien, S. 340, Taf. XVII, Fig. 2—5.  
 1915 *Phylloceras Zignodianum* d'Orb. Loczy: Villanyer Callovien-Ammon. S. 297, Taf. II, Fig. 6—7 u. 22—27.

Durchmesser in mm	Höhe des letzten Umganges über der Naht	Höhe des letzten Umganges in der Win- dungsebene	Breite des letzten Umganges	Nabelweite
26·8—1	14·2—0·53	8 —0·30	8·3—0·31	3·8—0·14
21·7	10·7—0·49	6·5—0·30	7 —0·32	3·5—0·16
21·5	11 —0·51	6 —0·28	6·7—0·32	3·4—0·16
14·7	6 —0·41	3·6—0·24	5 —0·34	2·8—0·19

<sup>1)</sup> P. de Loriol: Étude sur les Mollusques et Brachiopodes de l'Oxfordien inférieur du Jura Bernois. Mémoires de la Soc. Paléont. Suisse, Bd. XXV, 1898.



Die mir zur Verfügung stehenden vier kleinen Exemplare besitzen einen typischen ellipsenartigen Querschnitt, dessen größte Dicke vom Nabel gerechnet in einem Drittel der Flankenhöhe liegt. Die Windungen sind schwach gewölbt. Das Verhältnis zwischen der Höhe des letzten Umganges in der Windungsebene und der Höhe über der Naht beträgt 0·54—0·60. Der Nabel scheint mit dem Alter immer kleiner zu werden; kleine Exemplare sind mehr evolut ausgebaut.

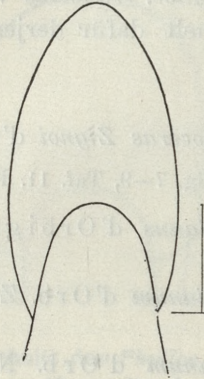


Fig. 7. Querschnitt des *Phylloc. Zignoi* bei einem Exemplar von 26·8 mm Durchmesser.

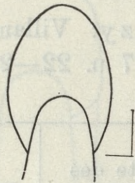


Fig. 8. Querschnitt des *Phylloc. Zignoi* bei einem Exemplar von 14·7 mm Durchmesser.



Fig. 9. Die Lobenlinie des Siphonalsattels des *Phylloc. Zignoi*, bei 8 mm Windungshöhe.

Die Flanken sind mit Radialeinschnürungen versehen, deren ich 4—5 an den letzten Umgängen gezählt habe. Die Einschnürungen verlaufen bogenförmig, in dem mittleren Teil der Flanken nach vorn geschwungen und richten sich dann im letzten ventralen Drittel der Windungen bogenartig nach rückwärts. Am Externteil sind sie relativ stark entwickelt und verlaufen mit der konvexen Seite nach rückwärts. Streifen sind an meinen Exemplaren nicht sichtbar.



Die Suturlinien waren nur teilweise sichtbar. Der Siphonalsattel ist diphyllitisch; der Laterallobus ist dreistämmig. Im übrigen ähneln die Suturen der von Neumayr angeführten Lobenzeichnung von *Phylloc. mediterraneum* nov. sp., Taf. XVII, Fig. 4 und der von Popovici-Hatzeg<sup>1)</sup> gezeichneten Lobenlinie eines jungen *Phylloc. mediterraneum* Neum.

*Phylloceras Demidoffi* Rousseau.

Textfig. 10—11, Taf. 11, Fig. 8.

- 1868 *Ammonites tatricus* Kudernatsch, Ammoniten von Swinitza: S. 4, Taf. I, Fig. 1—4.  
 1868 *Phylloceras disputabile* Zittel, Paläontologische Notizen S. 606.  
 1905 *Phylloceras disputabile* Zittel, Popovici-Hatzeg: Mont Strunga, S. 13, Taf. II, Fig. 1—9.  
 1915 *Phylloceras Demidoffi* Rousseau, Loczy: Villanyer Callovien-Ammon. S. 293, Taf. I, Fig. 2, Taf. II, Fig. 3—5, Taf. III, Fig. 1.  
 1935 *Phylloceras disputabile* Zittel, Passendorfer: Hochtatratische Jura, S. 92, Taf. II, Fig. 4a, 4b, Taf. III, Fig. 1.

Durchmesser in mm . . . . .	19·7—1	14·6—1
Höhe des letzten Umganges über der Nath . . .	10 —0·51	6·8—0·47
„ „ „ „ in der Windungsebene	6 —0·31	3·7—0·25
Breite „ „ „ . . . . .	8 —0·41	5·5—0·38
Nabelweite . . . . .	3·8—0·19	3·5—0·24

In der von mir untersuchten Klippe habe ich nur zwei kleine Exemplare dieser Art gefunden. Sie besitzen einen ovalen, gewölbten Querschnitt, dessen größte Breite, von Nabel gerechnet, in einem Drittel der Flankenhöhe liegt. Gegen den Externteil sind die Umgänge verengt, was sich mit dem Alter der Individuen zu steigern scheint. Die Nabelweite hängt von der Größe der Exemplare ab und wird entsprechend dem zunehmenden Alter kleiner, was mit den bisherigen Ausführungen anderer Autoren überein-

<sup>1)</sup> V. Popovici-Hatzeg: Les Céphalopodes du Jurassique moyen du Mont Strunga. Mémoires de la Soc. Géol. de France. Paléontologie. Bd. XIII, 1905, S. 15, Fig. 6.



stimmt. Der Nabel ist verhältnismäßig tief, steil gerundet, ohne eine scharfe Kante mit den Flanken zu bilden.

Die zwei Steinkerne, die mir zur Verfügung stehen, besitzen je 5—6 Einschnürungen, die radial etwas nach vorne geschwungen sind und schwach bogenförmig verlaufen. Die Krümmung ist nach rückwärts konvex gerichtet. Diese Einschnürungen sind gegen den Nabel zu tiefer eingeschnitten, als an der Externseite.

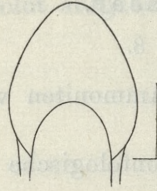


Fig. 10. Schematischer Querschnitt des *Phylloc. Demidoffi* bei einem Exemplar von 19.7 mm Durchmesser.

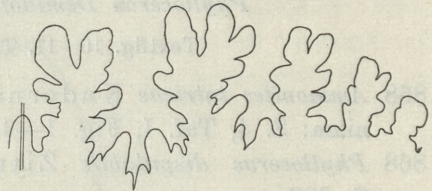


Fig. 11. Die Lobenlinie vom siphonalen Sattel begonnen bei *Phylloc. Demidoffi* (Windungshöhe — 10 mm).

Die Sutura ist bei der Windungshöhe von ca 10 mm aus schlanken Sätteln und ungleich tiefen Loben zusammengesetzt. Der Siphonalsattel endet diphyllitisch, der erste Lateralsattel triphyllitisch. Der erste Laterallobus ist tiefer als der Siphonallobus.

#### *Phylloceras Kudernatschi* Hauer.

Textfig. 12—13, Taf. 11, Fig. 9.

1852 *Ammonites heterophyllum* Sow. var. Kudernatsch: Die Ammoniten von Swinitza, S. 6, Taf. I, Fig. 6—9.

1854 *Ammonites Kudernatschi* v. Hauer: Beiträge zu Kenntniss d. österr. Alpen, S. 902.

1871 *Phylloceras Kudernatschi* v. Hauer, Neumayr: Jurastudien, S. 310, Taf. XII, Fig. 4—5.

Durchmesser in mm . . . . .	15 —1
Höhe des letzten Umganges über der Nath . . . . .	8.4—0.56
„ „ „ „ in der Windungsebene . . . . .	5.4—0.36
Breite „ „ „ . . . . .	6.5—0.43
Nabelweite . . . . .	1.5—0.10

Ich besitze davon in meiner Sammlung ein einziges Exemplar von der Szczawnikklippe, dessen Werte ziemlich gut dieser Art entsprechen. Das Gehäuse ist schlank. Die Flanken sind etwas



stärker an der Nabelseite gewölbt. Die größte Dicke befindet sich unweit der Mitte des letzten Umganges, etwas gegen den Nabel verschoben. Der Nabel ist trichterförmig und scheint tief zu sein.

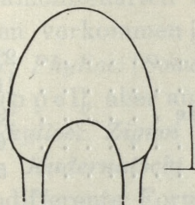


Fig. 12. Schematischer Querschnitt des *Phylloc. Kudernatschi* bei einem Exemplar von 15 mm Durchmesser.

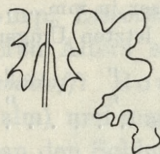


Fig. 13. Die Lobenlinie des Siphonalsattels des *Phylloc. Kudernatschi*, bei 6 mm Windungshöhe.

Die Schale ist radial gestreift, sonst fehlen Einschnürungen und Wülste. Die Streifung ist verhältnismäßig fein am Nabel und nimmt an Stärke gegen den Externteil zu, wo ich am letzten Umgange 5—7 Streifen per 2 mm gezählt habe. Im mittleren Teil der Flanken sind die radialen Streifen schwach bogenförmig nach hinten geschwungen, und verlaufen dann geradlinig durch den Externteil. In dieser Beziehung unterscheidet sich mein Exemplar von den von Kudernatsch, Neumayr u. a. beschriebenen Formen. Eine mit meinem Exemplar identische Form des *Phylloc. Kudernatschi* hat Popovici-Hatzeg<sup>1)</sup> abgebildet.

Die Lobenlinie konnte ich nur teilweise an der externen Seite präparieren. Sie ist entsprechend dem jugendlichen Alter meines Exemplars recht einfach. Der Siphonalsattel ist diphyllytisch; der erste Laterallobus scheint fast doppelt so tief zu sein wie der Siphonallobus.

### Gattung *Lissoceras*.

*Lissoceras vouttense* Oppel.

Textfig. 14—15, Taf. 11, Fig. 10.

1865 *Ammonites vouttensis* Oppel: Paläont. Mitteil. (Callovien de l'Ardèche), S. 319.

1913 *Lissoceras vouttense* Oppel, Rollier: Sur quelques Ammonoides Jurassiques. S. 285, Fig. 12.

1915 *Haploceras (Lissoceras) vouttense* Opp., Loczy: Villanyer Callovien-Ammon. S. 311, Textfig. 35—37.

<sup>1)</sup> Loc. cit., Taf. 11, Fig. 2.



1924 *Lissoceras vouttense* Opp., Roman: Callovien du Rhône, S. 47, Taf. III, Fig. 3.

1935 *Lissoceras vouttense* Opp., Passendorfer: Hochtatrische Jura, S. 94, Taf. II, Fig. 5 a, 5 b.

Durchmesser in mm . . . . .	23 —1
Höhe des letzten Umganges über der Naht. . . . .	11·5—0·50
„ „ „ „ in der Windungsebene . . . . .	9·7—0·42
Breite „ „ „ . . . . .	6·1—0·26
Nabelweite . . . . .	5 —0·22

Das einzige von mir gefundene Exemplar dieser Art besitzt ein scheibenförmiges Gehäuse und ist durch schwach evolutive Umgänge charakteristisch. Der Querschnitt ist doppelt so hoch wie breit. Die Flanken verlaufen bis zu ca  $\frac{3}{4}$  der Höhe des Umganges, vom Nabel gerechnet, beinahe parallel, verschmälern sich dann stärker und bilden einen engen, abgerundeten Externteil. Sie sind nur schwach gewölbt. Die Umgänge besitzen die größte Breite in der Nabelnähe. Das Verhältnis der Höhen in der Windungsebene und über der Naht beträgt 0·84.

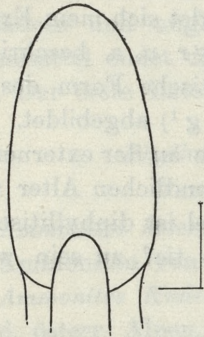


Fig. 14. Schematischer Querschnitt des *Lissoceras vouttense*, bei 23 mm Durchmesser.

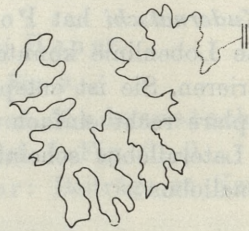


Fig. 15. Der Siphonalsattel und der erste Laterallobus des *Lissoceras vouttense*, bei 8 mm Windungshöhe.

Der Nabel ist verhältnismäßig tief und wird durch einen steilen Rand gegen die Flanken abgegrenzt.

Die Sutur konnte ich an meinem Exemplar nur teilweise untersuchen. Sie ähnelt der von F. Roman<sup>1)</sup> gezeichneten Lobenlinie

<sup>1)</sup> F. Roman: Étude sur le Callovien de la vallée du Rhône. I. Callovien de Naves. Trav. du Laboratoire de Géologie, Lyon, 1924, S. 48.



des *Lissoceras vouttense* Opp. und scheint etwas einfacher zu sein, als bei *Lissoceras Erato* d'Orb.<sup>1)</sup>

Nach der stratigraphischen Verteilung der sechs beschriebenen Ammonitenarten der Szczawnikklippe, die hauptsächlich im Callovien vorkommen [*Phylloceras (Sowerbyceras) subtortisulcatum* Pomp., *Phylloc. (Sowerbyceras) transiens* Pomp., *Lissoceras vouttense* O p p e l], aber auch höheren und jüngeren Alters sein können (*Phylloc. Zignoi* d'Orb., *Phylloc. Demidoffi* Rousseau, *Phylloc. Kudernatschi* Hauer — Bajocien-Malm) und mediterrane oder indifferente Formen darstellen, darf man den Schluß ziehen, daß das primäre Muttergestein dieser Ammoniten ein Callovien-Kalkstein gewesen ist.

Es wäre verfrüht, weitere regionalgeologische und stratigraphische Schlüsse ziehen zu wollen, bevor die anderen Kalksteinklippen, die in dieser Gegend aufgeschlossen wurden, stratigraphisch und paläontologisch bearbeitet worden sind, was in der nächsten Zukunft geschehen soll.

Aus dem geologischen Institut der Jagellonischen Universität, Kraków.

### Erklärung der Tafel 11.

Fig. 1—3. *Phylloceras (Sowerbyceras) subtortisulcatum* Pomp. Ein Exemplar von 26 mm Durchmesser.

Fig. 4—6. *Phylloceras (Sowerbyceras) transiens* Pomp. Ein Exemplar von 14 mm Durchmesser.

Fig. 7. *Phylloceras Zignoi* d'Orb. Ein Exemplar von 21·7 mm Durchmesser.

Fig. 8. *Phylloceras Demidoffi* Rousseau. Ein Exemplar von 19·7 mm Durchmesser.

Fig. 9. *Phylloceras Kudernatschi* Hauer. Ein Exemplar von 15 mm Durchmesser.

Fig. 10. *Lissoceras vouttense* Oppel. Ein Exemplar von 23 mm Durchmesser.

Die photographischen Aufnahmen verdanke ich Herrn Dr J. Zerndt, die Zeichnungen Herrn Mgr K. Guzik.

<sup>1)</sup> R. Douvillé: Études sur les Ammonites Oxfordiennes du Villers-sur-Mer. Compte-rend. d. Séances de la Soc. Géol. de France, 1912, N. 12, S. 91.









1.



2.



3.



4.



5.



6.



8.



7.



10.



9.

B. Świdorski.







*O zachowaniu się karotynoidów i chlorofilu w trawieniu zwierzęcia przeżuwającego. — Les caroténoïdes et la chlorophylle dans la digestion du ruminant.*

Mémoire

de M. **F. ROGOZIŃSKI** m. t.,

présenté le 14 juin 1937.

L'étude de la manière dont se comportent les pigments végétaux naturels dans l'économie animale était abordée jusqu'aux temps derniers principalement du point de vue de la constitution chimique de ces corps: on s'efforçait de saisir les produits de la décomposition partielle de ces substances dans l'organisme animal, afin d'en tirer des conclusions sur la structure chimique des pigments mêmes. Cette voie a conduit à des résultats de grande importance; il suffit de citer la découverte de la phylloéritrine par L. Marchlewski (1) et ses travaux sur ce pigment qui ont joué un rôle de premier ordre dans l'établissement de la constitution chimique de la chlorophylle. Depuis plusieurs années, notamment depuis le temps, où l'on a établi le rapport étroit entre le carotène et la vitamine A, on a commencé à s'occuper de principaux pigments végétaux du point de vue de leur rôle dans le métabolisme animal. A côté des caroténoïdes on a commencé aussi à étudier sous ce rapport les dérivés de la chlorophylle (Rothemund, McNary et Inman, 2).

Il nous a paru intéressant de faire l'étude de la manière dont se comportent ces pigments dans la première étape de leurs transformations dans l'organisme animal, à savoir d'étudier leur comportement dans le canal alimentaire. Des études de ce genre sont peu nombreuses pour les caroténoïdes; elles font complètement défaut pour la chlorophylle, autant que nous le savons.



Nous nous sommes servis dans nos recherches d'un matériel recueilli dans des expériences entreprises dans un autre but sur un ruminant, notamment un mouton. On connaissait dans ces expériences la quantité de la nourriture réellement absorbée par l'animal pendant une période d'une semaine, on connaissait aussi la quantité de fèces recueillies sans perte durant ce temps et deséchées. Chaque période de l'expérience proprement dite était précédée d'une période préliminaire d'une semaine également, pendant laquelle on nourrissait l'animal du même fourrage, sans recueillir pendant les fèces.

Le dosage du composant étudié d'une part dans la nourriture, et de l'autre dans les fèces, permettait l'établissement du bilan de ce composant, soit la constatation dans quelle mesure il est éliminé par l'animal dans ses fèces. Nous présentons ci-dessous les résultats de nos recherches séparément pour les caroténoïdes et pour la chlorophylle.

#### Les caroténoïdes dans la digestion.

Nous avons étudié le matériel recueilli dans quatre différentes périodes de l'expérience. Dans deux d'entre elles on donnait comme fourrage exclusif du foin de trèfle rouge, dans deux autres on ajoutait à ce foin du maïs jaune moulu. Les caroténoïdes étaient dosés toujours, tant dans les fourrages que dans les fèces séchées, dans des échantillons de 10 g. Le dosage était exécuté toujours exactement d'après la méthode donnée par Willstätter (3), à savoir: la substance étudiée était traitée d'abord par de l'acétone à 30 p. c. et on rejetait ce premier extrait; on dissolvait ensuite les pigments dans de l'acétone à 100 p. c. et pour terminer à 90 p. c., on les transférait de l'acétone dans l'éther, on saponifiait la chlorophylle dans la solution étherée séchée par l'hydrate de potassium en solution méthylalcoolique, on séparait les caroténoïdes et on isolait le carotène et la xanthophylle à l'aide de l'éther de pétrole et de l'alcool méthylique. On obtenait finalement le carotène en solution dans l'éther de pétrole et la xanthophylle dans l'éther éthylique et on dosait les pigments dans ces solutions par la méthode colorimétrique.

Nous nous sommes servis dans nos dosages d'un colorimètre de Leitz, système Bürker. Les solutions des pigments étaient comparées avec des plaques étalon en verre, de Lovibond (5 Yellow,



10 et 20 Yellow), et d'après cette comparaison on déterminait la teneur en pigment à l'aide de la courbe empirique, tracée par Schertz (4) pour ces plaques. On faisait plusieurs lectures pour chaque plaque en prenant la moyenne. Les déterminations pour les trois plaques étaient dans tous les cas presque identiques. De cette manière chaque dosage était contrôlé trois fois.

Ce procédé ne pouvait être appliqué à l'étude du maïs jaune, vu la faible quantité des pigments dans cette substance. Nous avons analysé dans ce cas les solutions obtenues à l'aide du tintomètre de Lovibond, en déterminant la quantité des pigments d'après ces lectures. Les données obtenues de cette manière étaient nécessairement beaucoup moins exactes. Cette cause d'erreur n'a exercé aucune influence sur le résultat général de l'expérience: la teneur en caroténoïdes du maïs était si faible en comparaison avec leur quantité dans le foin, qu'en calculant les bilans nous l'avons négligée totalement.

Voici les résultats obtenus:

Période I. On donnait à l'animal comme nourriture exclusive 900 g de foin de trèfle rouge par jour. La quantité du foin réellement ingéré pendant 7 jours, en tenant compte des restes non-absorbés et en calculant pour la même teneur en eau qu'avait l'échantillon analysé pour les caroténoïdes, était de 5456 g. Dans 10 g le taux des caroténoïdes était 0.515 mg de carotène et 2.73 mg de xanthophylle. Le poids des fèces, éliminées par l'animal durant la période, était, après dessiccation, de 2270 g. On a trouvé dans 10 g de fèces 0.8 mg de carotène et 5.0 mg de xanthophylle.

Le bilan se calcule donc de la manière suivante:

Carotène absorbé  $0.515 \times 545.6 = 281$  mg.

„ éliminé  $0.8 \times 227.0 = 181.6$  mg.

Éliminé en p. c. de la quantité absorbée **64.63** p. c.

Xanthophylle absorbée  $2.73 \times 545.6 = 1489.5$  mg.

„ éliminée  $5.0 \times 227.0 = 1135.0$  mg.

Éliminé en p. c. de la quantité absorbée **76.20** p. c.

Période II. La ration du jour était composée de 700 g du même foin et de 200 g de maïs moulu. La quantité du foin réellement ingéré pendant 7 jours était de 4250 g, la quantité du maïs ingéré de 1400 g. Nous estimons le taux des caroténoïdes



contenus dans 10 g de maïs d'après les dosages faits à l'aide du tintomètre de Lovibond, à 0.0045 mg de carotène et 0.05 mg de xanthophylle (dans ce cas de zéaxanthine). Cela répond à 0.6—0.7 mg de carotène et à 7 mg environ de xanthophylle pour 1400 g de maïs. Cette quantité de carotène ne compte guère, la quantité de xanthophylle d'autre part ne représente qu'une fraction de pourcent de la quantité ingérée sous forme de foin. Pour cette raison en calculant le bilan nous négligeons les caroténoïdes ingérés sous forme de maïs. Dans 10 g de fèces séchées nous avons trouvé 0.85 mg de carotène et 4.80 mg de xanthophylle. La quantité des fèces éliminées durant cette période était égale à 1830 g.

Nous avons de cette manière:

Carotène absorbé  $0.515 \times 425.0 = 218.9$  mg.

„ éliminé  $0.85 \times 183.0 = 155.6$  mg.

Éliminé en p. c. de la quantité absorbée **71.07** p. c.

Xanthophylle absorbée  $2.73 \times 425.0 = 1160.2$  mg.

„ éliminée  $4.8 \times 183.0 = 878.4$  mg.

Éliminé en p. c. de la quantité absorbée **75.71** p. c.

Période III. La ration du jour était composée exclusivement de 900 g du même foin. La quantité réellement absorbée pendant 7 jours était égale à 5417 g. Les fèces éliminées pendant la période pesaient 2150 g. Dans 10 g de fèces nous avons trouvé 0.9 mg de carotène et 5.54 mg de xanthophylle.

Carotène absorbé  $0.515 \times 541.7 = 279.0$  mg.

„ éliminé  $0.9 \times 215.0 = 193.5$  mg.

Éliminé en p. c. de la quantité absorbée **69.36** p. c.

Xanthophylle absorbée  $2.73 \times 541.7 = 1478.8$  mg.

„ éliminée  $5.4 \times 215.0 = 1161.0$  mg.

Éliminé en p. c. de la quantité absorbée **78.51** p. c.

Période IV. L'animal était nourri comme dans la période II. En calculant le bilan on n'a pas tenu compte du maïs ingéré. La quantité du foin réellement ingéré se montait à 4238 g, la quantité des fèces éliminées à 1780 g. Dans 10 g de fèces on a trouvé 0.89 mg de carotène, 5.54 mg de xanthophylle.



Carotène absorbé  $0.515 \times 423.8 = 218.3$  mg.

„ éliminé  $0.89 \times 178.0 = 158.4$  mg.

Éliminé en p. c. de la quantité absorbée **72.58** p. c.

Xanthophylle absorbée  $2.73 \times 423.8 = 1157.0$  mg.

„ éliminée  $5.54 \times 178.0 = 986.1$  mg.

Éliminé en p. c. de la quantité absorbée **85.23** p. c.

Nous avons, comme on voit, retrouvé dans les fèces dans les différentes périodes de l'expérience 64.63—72.58 p. c., en moyenne 69.41 p. c. de carotène ingéré dans la nourriture, ainsi que 75.71—85.23 p. c., en moyenne 78.91 p. c. de la xanthophylle ingérée.

Deux faits méritent d'être signalés en rapport avec les résultats ci-dessus. Il apparaît nettement que les graines ne jouent comme source de caroténoïdes qu'un rôle infime dans l'alimentation de l'herbivore. Pratiquement, toute la quantité des caroténoïdes, en particulier du carotène, est fournie ici sous forme de foin. Vu l'importance physiologique de ce pigment, ce fait démontre d'une manière nette la nécessité de fournir aux animaux herbivores, à ceux qui sont en voie de croissance en particulier, une quantité adéquate d'un fourrage naturel vert.

Nos dosages des caroténoïdes dans le foin de trèfle démontrent d'autre part que le rapport du carotène à la xanthophylle (1:5) est ici sensiblement plus large que ne l'a déterminé Willstätter pour les feuilles des différents végétaux. Il trouvait dans les feuilles pour une partie de carotène 2 à 3 parties de xanthophylle environ. Or, dans plusieurs échantillons de foin des prés et de foin de trèfle que nous avons étudié, nous avons trouvé toujours le rapport indiqué ci-dessus, à savoir 1:5. Notre observation n'est point isolée. Zechmeister et Tuzson (5) dans leur travail dont nous aurons à reparler, donnent le rapport de 1:4.4 pour un foin, dont la qualité exacte n'est pas déterminée.

Deux causes possibles de cette différence pourraient entrer en jeu: ou bien les tiges et les inflorescences contenues dans le foin sont relativement plus riches en xanthophylle que les feuilles, ou bien le carotène est détruit en plus grande proportion que la xanthophylle pendant le fanage des plantes vertes. Des recherches ultérieures pourront seules résoudre ce problème.

On peut comparer les résultats par nous obtenus avec ceux que signalent Zechmeister et Tuzson dans leur travail cité



ci-dessus. Ils ont étudié le comportement des caroténoïdes chez un cheval d'un poids de 450 kg, nourri d'une ration composée de son de blé (1.5 kg), de maïs jaune (8 kg) et de foin (6 kg) par jour. En appliquant deux différentes méthodes de dosage ces auteurs ont trouvé que le carotène ingéré pendant 24 heures était éliminé dans les fèces à raison de 70 resp. 88 p. c., la xanthophylle à raison de 64 resp. 55 p. c. On voit que ces résultats se rapprochent des nôtres, quant à l'ordre de grandeur. Une différence prononcée consiste en ce que le cheval de Zechmeister éliminait le carotène en proportion plus forte que la xanthophylle, tandis que notre mouton se comportait d'une manière diamétralement opposée. Il est possible qu'il s'agit dans ce cas d'une différence générique entre le cheval et le ruminant.

### La chlorophylle dans la digestion.

Le fait que la chlorophylle peut, en partie tout au moins, traverser le canal digestif d'un herbivore sans subir un changement et qu'elle peut être décélée dans les fèces par la coloration verte de leur extrait étheré, a depuis longtemps attiré l'attention des chercheurs.

Ainsi, en 1756 déjà, A. v. Haller (6) traitant le problème de la rumination, écrit dans son allemand suranné: »In diesem vierten Magen vermischt sich der Brei weil er sich darinnen wegen des engen Pförtners aufhält mit dem Drüsensaft, er gähret vollkommner, er wird weich wie ein Brei, und weicher als im ersten, ist aber dennoch grün«. Chautard (7) en 1873 constatait à l'aide du spectroscope la présence de la chlorophylle dans les résidus de la digestion de l'homme et des différents animaux; en même temps, il entreprenait les premières expériences pour établir le rapport entre l'apparition de la chlorophylle dans les fèces et le genre de la nourriture ingérée.

En 1911 O. Schumm (8) écrit à propos de l'homme: »Nach Genuss chlorophyllhaltiger Speisen erscheint regelmässig ein (prozentual nicht bestimmter) Teil des eingeführten Farbstoffs in den Faeces wieder«. Il recommande en même temps l'analyse spectroscopique comme le meilleur moyen de décélérer la chlorophylle.

Kellner (9) énumère dans son traité classique (p. 89) la chlorophylle comme un des composants indigestibles de la graisse



brute des fourrages verts. Krzywaneck (10) écrit dans le manuel de Mangold: »Bei der Ernährung unserer Haustiere mit grünen Pflanzenteilen wird eine Quantität Chlorophyll mit aufgenommen, das entweder unverändert oder als Abbauprodukt im Kot nachgewiesen werden kann«.

Le fait de l'apparition de la chlorophylle dans les résidus de la digestion semble donc établi d'une manière n'admettant aucun doute. On n'a pas cependant jusqu'ici, tant que nous le savons, entrepris aucun essai pour déterminer la proportion dans laquelle se retrouve dans les fèces la chlorophylle contenue dans la nourriture.

Nous avons entrepris l'étude de ce problème en nous servant du matériel qui a été recueilli dans des expériences exécutées sur un mouton de la manière rapportée ci-dessus. Les dosages de la chlorophylle, tant dans la nourriture que dans les résidus de la digestion, ont été exécutés dans tous les cas d'après la méthode décrite ailleurs (11) qui consiste à calculer la quantité de la chlorophylle d'après le taux du magnésium, contenu dans ce pigment.

Dans les périodes suivantes le foin de trèfle rouge formait l'unique nourriture de l'animal. Chaque période durait sept jours, elle était précédée d'une période préliminaire de sept jours aussi.

Période I. Ingréé 5455 g de foin I; éliminé 2270 g de fèces. Des échantillons de 10 g de foin I ont donné 41.6 mg, 41.4 mg du précipité molybdique; moyenne 41.5 mg = 0.466 mg Mg = 17.26 mg de chlorophylle. Des échantillons de 10 g de fèces ont donné 26.7 mg, 28.9 mg du précipité molybdique; moyenne 27.8 mg = 0.3123 mg Mg = 11.57 mg de chlorophylle. Chlorophylle absorbée  $17.26 \times 545.5 = 9415.5$  mg; éliminée dans les fèces  $11.57 \times 227.0 = 2625.5$  mg, soit éliminé dans les fèces **27.89** p. c. de la quantité ingérée.

Période III. Ingréé 5417 g de foin I; éliminé 2150 g de fèces. Des échantillons de 10 g de fèces ont donné 24.2 mg, 23.1 mg du précipité molybdique; moyenne 23.7 mg = 0.266 mg Mg = 9.84 mg de chlorophylle. Chlorophylle absorbée  $17.26 \times 541.7 = 9350.0$  mg; éliminée dans les fèces  $9.84 \times 215.0 = 2115.6$  mg, soit éliminé dans les fèces **22.63** p. c. de la quantité ingérée.

Période V. Ingréé 5309 g de foin II; éliminé 2520 g de fèces. Des échantillons de 10 g de foin II ont donné 36.4 mg, 37.2 mg du précipité molybdique; moyenne 36.8 mg = 0.414 mg Mg =



15·31 mg de chlorophylle. Des échantillons de 10 g de fèces ont donné 14·0 mg, 13·6 mg du précipité molybdique; moyenne 13·8 mg = 0·155 mg Mg = 5·741 mg de chlorophylle. Chlorophylle absorbée  $15·31 \times 530·9 = 8128·0$  mg; éliminée dans les fèces  $5·741 \times 252·0 = 1446·9$  mg, soit éliminé dans les fèces **17·80** p. c. de la quantité ingérée.

Période VII. Ingéré 5259 g de foin II; éliminé 2560 g de fèces. Des échantillons de 10 g de fèces ont donné 14·9 mg, 14·8 mg du précipité molybdique; moyenne 14·85 mg = 0·1668 mg Mg = 6·178 mg de chlorophylle. Chlorophylle absorbée  $15·31 \times 525·9 = 8052·0$  mg; éliminée dans les fèces  $6·178 \times 256·0 = 1581·6$  mg, soit éliminé dans les fèces **19·64** p. c. de la quantité ingérée.

Nous avons calculé en outre le bilan de la chlorophylle dans deux périodes, où l'animal ingérait à côté du foin du maïs jaune en quantité de 200 g par jour.

Période II. Ingéré 4250 g de foin I; éliminé 1830 g de fèces. Un échantillon de 10 g de fèces a donné 14·2 mg du précipité molybdique, soit 0·1595 mg Mg = 5·908 mg de chlorophylle. Chlorophylle absorbée  $17·26 \times 425·0 = 7335·5$  mg; éliminée dans les fèces  $5·908 \times 183·0 = 1081·1$  mg, soit éliminé dans les fèces **14·74** p. c. de la quantité ingérée.

Période IV. Ingéré 4238 g de foin I; éliminé 1780 g de fèces. Un échantillon de 10 g de fèces a donné 9·5 mg du précipité molybdique, soit 0·1067 mg Mg = 3·952 mg de chlorophylle. Chlorophylle absorbée  $17·26 \times 423·8 = 7315·0$  mg; éliminée dans les fèces  $3·952 \times 178·0 = 703·5$  mg, soit éliminé dans les fèces **9·62** p. c. de la quantité ingérée.

Les nombres donnés ci-dessus démontrent nettement que la chlorophylle se comporte dans la digestion du ruminant d'une manière essentiellement différente en comparaison avec les pigments jaunes. Tandis que nous avons retrouvé dans les fèces 70—80 p. c. en moyenne de la quantité ingérée de ces pigments, les nombres respectifs pour la chlorophylle sont de 17·80—27·89 p. c., en moyenne 21·99 p. c., dans les périodes, où l'animal était nourri exclusivement de foin, et de 9·62—14·74 p. c., en moyenne 12·18 p. c., dans les périodes, où la nourriture était composée de foin et de maïs.

La chlorophylle subit donc dans le tube digestif du ruminant une dégradation très prononcée et cette décomposition est, tant qu'on peut juger d'après nos résultats, d'autant plus forte que la



nourriture de l'animal contient plus de glucides facilement digestibles. Quant aux causes présumables de ce dédoublement, trois possibilités s'offrent a priori. Vu la grande sensibilité de la chlorophylle envers l'action des acides, on peut supposer avec une grande probabilité qu'au moins une partie notable du pigment sera détruite en voie purement chimique, par l'influence de la réaction acide dans les parties du canal digestif, où une telle réaction apparaît. Comme second agent de destruction on pourrait éventuellement admettre l'action des ferments solubles spécifiques dans le canal alimentaire, on pourrait enfin voir le troisième agent possible dans l'activité vitale des microorganismes qui jouent un rôle si important dans le tube digestif du ruminant.

Pour obtenir dans cette matière quelques indications de nature générale, tout au moins, nous avons entrepris l'essai suivant: on a pris deux portions de fèces fraîches d'un mouton, nourri de foin de trèfle et du maïs jaune. L'une de ces portions a été desséchée tout de suite au bain-marie, l'autre, après l'avoir humectée d'eau, a été placée dans une fiole pour 48 heures dans une étuve chauffée à 37°. Au bout de ce temps on a séché les fèces, exactement comme la portion première. On a pris ensuite des échantillons de 10 g chacun des deux portions desséchées et l'on y a dosé la chlorophylle de la manière usuelle. Voici les résultats obtenus.

L'extrait étheré des fèces soumises à la dessiccation immédiate a donné 0.2166 g de résidu, avec 0.4 mg de cendre. On a obtenu 12.2 mg du précipité molybdique, soit 0.137 mg Mg = 5.076 mg de chlorophylle.

L'extrait étheré des fèces ayant séjourné à l'étuve a donné 0.2122 g de résidu, avec 0.4 mg de cendre. On a obtenu 12.5 mg du précipité molybdique, soit 0.140 mg Mg = 5.201 mg de chlorophylle.

La teneur en substance sèche de l'échantillon I était de 92.55 p. c. celle de l'échantillon II était de 94.56 p. c. Nous trouverons ainsi, calculant pour la matière sèche, dans 10 g de fèces I 5.484 mg de chlorophylle, dans 10 g de fèces II 5.500 mg. La teneur des fèces en chlorophylle n'a subi aucun changement durant le séjour de 48 heures à l'étuve, il faut donc conclure qu'aucune décomposition de la chlorophylle dans les conditions de l'expérience n'avait eu lieu.



Le résultat de cet essai semble donc contraire à la supposition que la dégradation de la chlorophylle dans le canal alimentaire du ruminant soit provoquée par les ferments solubles ou par les microorganismes. Il faut admettre que la réaction acide du chyme est l'agent principal, sinon unique, de cette décomposition. Cette vue s'accorde bien avec l'observation citée ci-dessus, d'après laquelle ce dédoublement de la chlorophylle est plus intense quand la ration de l'animal contient un supplément de glucides facilement assimilables. Nous savons que ces substances favorisent le développement des microbes de la fermentation lactique et exercent par cela même une action positive sur l'acidification du chyme. Le fait que l'acide lactique peut jouer un rôle dans la décomposition de la chlorophylle semble résulter des observations de Rothmund et Inman (12), d'après lesquelles la formation des porphyrines a lieu principalement dans le troisième compartiment de l'estomac, soit avant que le chyme ait eu pris contact avec l'acide chlorhydrique dans l'abomasum (la caillette). Le problème ne saurait être considéré comme totalement résolu; des expériences ultérieures, qui sont déjà partiellement en train, pourront seules apporter une solution définitive.

### Conclusions.

Le comportement des pigments naturels des plantes dans le canal alimentaire durant la digestion a été étudié dans des expériences exécutées sur un mouton. Voici les résultats obtenus:

1. Le caroténoïdes ingérés sont éliminés en majeure partie dans les fèces. On retrouvait dans les résidus de la digestion 70 p. c. environ du carotène ingéré et 80 p. c. environ de la xanthophylle.

2. La chlorophylle se comporte d'une manière essentiellement différente. On retrouvait dans les fèces 22 p. c. environ de la chlorophylle ingérée dans les périodes où l'animal était nourri exclusivement de foin et 12 p. c. environ dans les périodes où le fourrage contenait du maïs à côté du foin.

3. La décomposition de la chlorophylle dans le tube digestif du ruminant semble dépendre non de l'action des ferments solubles ou des microorganismes, mais uniquement de la réaction acide du chyme.



**Bibliographie.**

1. Marchlewski L. Die Chemie der Chlorophylle. Braunschweig, 1909.—
2. Rothemund P., R. R. McNary and O. L. Inman. Occurrence of Decomposition products of Chlorophyll. II. Decomposition products of Chlorophyll in the Stomach Walls of Herbivorous Animals. Journ. of the Amer. Chem. Soc. **56**, 2400, 1934. — 3a. Willstätter R. und A. Stoll. Untersuchungen über Chlorophyll. Methoden und Ergebnisse. Berlin, 1913. — 3b. Willstätter R. Die Blattfarbstoffe. Dans E. Abderhalden. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. I, Chemische Methoden, Teil 11, Heft 1. Berlin—Wien, 1924. — 4. Schertz F. M. The quantitative determination of carotin by means of the spectrophotometer and the colorimeter. Journ. of Agric. Research, **26**, 383, 1923; The quantitative determination of xanthophyll by means of the spectrophotometer and the colorimeter. Journ. of Agric. Research, **30**, 253, 1925. — 5. Zechmeister L. und P. Tuzson. Beitrag zum Lipochrom-Stoffwechsel des Pferdes. Zeitschr. f. physiol. Chemie, **226**, 255, 1934. — 6. A. v. Haller. Anfangsgründe der Physiologie. Bd. VI. S. 425, 1756, cité d'après A. Scheunert. Das Wiederkäuen, dans Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, v. III., p. 379. Berlin. — 7. Chautard J. Examen spectroscopique de la chlorophylle dans les résidus de la digestion. C. R. **76**, 103, 1873. — 8. Schumm O., dans C. Neuberg. Der Harn, sowie die übrigen Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten, p. 1209. Berlin, 1911. — 9. Kellner O. Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere. 10. Aufl. Berlin, 1924.—
10. Krzywaneck Fr. W. dans E. Mangold. Handbuch der Ernährung und des Stoffwechsels der landwirtschaftlichen Nutztiere. II. 382, 1929. Berlin.—
11. Rogoziński F. Sur le dosage gravimétrique de la chlorophylle. Bull. de l'Ac. Polon. d. Sc. et d. L. Cl. d. Sc. Math. et Nat. Série A. 1937.—
12. Rothemund P. and O. L. Inman. Occurrence of decomposition products of Chlorophyll. I. Decomposition of chlorophyll in the digestive system of the cow. Journ. of the Amer. Chem. Soc., **54**, 4702, 1932.







*O rozwoju ektodermy poza-nerwowej u ptaków. — Sur le développement de l'ectoderme extra-neural chez les Oiseaux.*

Mémoire

de M. J. **GALLERA**,

présenté le 14 juin 1937, par M. J. Tur m. c.

(Planche 12).

L'étude du problème du «mécanisme du développement» de l'ectoderme destiné à devenir ensuite le revêtement épidermique du corps et les recherches sur ses rapports corrélatifs avec d'autres ébauches embryonnaires, étaient en général fort négligés jusqu'ici dans la littérature embryologique. Les investigations de His sur ce sujet occupent une place bien spéciale dans la littérature scientifique du XIX siècle. En comprimant des lames élastiques de papier, de caoutchouc, de gélatine etc. convenablement assorties, cet auteur a obtenu des modèles assez exacts des plissures réelles que présentent les feuillets embryonnaires (1894). De plus, il a démontré que l'accroissement embryonnaire n'est pas égal et uniforme dans toutes les régions du blastoderme et que, de ce chef, on peut distinguer dans celui-ci des zones de traction et de compression, déterminant d'une façon mécanique l'apparition de plis des feuillets embryonnaires. Tel est notamment le cas du soulèvement des bourrelets médullaires et de la fermeture du tube nerveux. C'est l'ectoderme périphérique qui, s'avancant vers la ligne médiane du blastoderme, comprime la plaque médullaire.

Depuis les recherches de Roux, Ruffini, Giersberg, Boerema et d'autres, cette opinion de His tendant à simplifier les choses, n'a plus qu'une valeur historique. Mais ces recherches modernes se sont précisément inspirées en grande partie des travaux de His. Il paraît déjà évident *a priori* que la pression exer-



cée par l'ectoderme mince et flexible ne saurait provoquer l'enroulement de la plaque nerveuse fort épaisse et relativement rigide. En ce qui concerne l'accroissement inégal du blastoderme, Roux (1885) a raison de remarquer que »hat His mit Recht aus seinen genauen Messungen über das ungleiche Wachstum der Theile auf die Nothwendigkeit eintretender Biegungen geschlossen, so konnte er natürlich nicht soweit gelangen, nachzuweisen, dass gerade in Einzelnen diejenigen Formen entstehen mussten, welche dem betreffenden Embryo eigen sind« et que »der Causalnexus der von ihm ermittelten Massenumlagerungen... auch gerade der umgekehrte von dem seinigen sein kann; indem nämlich die Tendenz zur Biegungsformation einer Stelle gerade das Primäre sein und ihrer Bethätigung vielleicht sogar passiv durch Dehnung das nöthige Wachstum der Umgebung veranlassen kann«.

Le rôle actif de l'ectoderme extra-neural dans la fermeture du tube nerveux a été défendu, après His, par Ruffini (1908) et Giersberg (1924, 1926). Quoique bien curieux, les résultats des expériences de ce dernier auteur, étaient fort hétérogènes et vagues. Ce sont les expériences de Roux (transformations de l'ébauche nerveuse extirpée du blastoderme, 1885) et surtout celles de Boerema (transplantations de l'ébauche nerveuse des Amphibiens, 1928) qui ont démontré que la tendance à la déformation tubulaire de la plaque nerveuse n'est subordonnée ni à la continuité avec l'ectoderme, ni à l'influence de la corde dorsale et du mésoderme. Il faut chercher évidemment les facteurs dynamiques de la morphogénèse de l'ébauche nerveuse dans cette ébauche même («Selbtschluss» de la gouttière médullaire dont Roux parlait dès 1885). D'après Boerema la dynamique du processus de la fermeture du tube nerveux consiste en déformations actives des cellules pré-nerveuses, qui prennent la forme de coins à base élargie. Il est à remarquer que l'idée de la fermeture active du tube nerveux s'accorde bien avec les résultats des recherches de Spemann et de ses élèves. (Transplantations, théorie des inducteurs).

Mais toutes ces belles expériences directes ne nous ont donné aucun renseignement positif sur les corrélations évolutives s'établissant entre l'ectoderme et l'ébauche nerveuse, et encore moins sur les corrélations entre l'ectoderme et l'intestin céphalique, le mésoderme etc. La voie des expériences directes ne paraît pas



beaucoup promettre à cet égard; justement, l'ectoderme épidermogène se continue primitivement dans l'ectoderme extra-embryonnaire, et d'autre part il ne peut se développer qu'en connexion avec les autres ébauches du corps de l'embryon. Or, c'est à mon avis surtout l'examen des anomalies embryonnaires, aussi bien spontanées qu'obtenues par voie d'expériences indirectes, qui peut fournir des données d'une valeur réelle pour l'étude du mécanisme évolutif normal de l'ectoderme épidermogène.

Nous devons à ce sujet quelques renseignements curieux aux recherches de Tur sur la forme nouvelle de monstruosité embryonnaire, qu'il a découverte, à savoir sur la Cardiocéphalie (1922). Comme on sait, le cœur et l'intestin céphalique se forment en avant de la tête chez les embryons cardiocéphaliques, et le bord antérieur de l'encéphale s'infléchit anormalement en même temps vers le haut et l'arrière. Dans quelques cas de Cardiocéphalie Tur a observé l'apparition de deux plis de l'ectoderme sous-céphalique se formant simultanément, dont l'un s'insinue sous le bord antérieur de l'ébauche nerveuse, et l'autre, situé plus vers l'avant, s'oriente par rapport aux ébauches de l'intestin céphalique et du cœur. Dans un cas, où le déplacement de l'ébauche intestino-cardiaque vers l'avant était accentué d'une façon extrême, ce dernier pli était si peu prononcé, qu'il ne saurait même être question de son rôle actif dans la formation du repli endodermique de l'intestin. Tout au contraire, le deuxième pli ectodermique pénétrait très loin vers l'arrière et sous l'ébauche nerveuse, en représentant, d'après Tur, le repli de l'ectoderme sous-céphalique proprement dit. Dans les autres cas de Cardiocéphalie, où la région supérieure de l'intestin céphalique adhérait très étroitement à l'ébauche cérébrale, il ne se formait qu'un seul repli de l'ectoderme sous-céphalique. La confrontation de ces faits ne paraît pas être trop favorable à la thèse que le repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique représente une formation secondaire, au caractère d'un replissement passif, provoqué mécaniquement par l'accroissement vers l'avant de la tête de l'embryon, s'élevant au-dessus de la surface du blastoderme. On arrive ainsi plutôt à l'idée »d'une pénétration active de cette région de l'ectoderme, en vue du *stomodaeum*, qui devra se former aux dépens de cette région« (Tur). D'après cet auteur, ces relations semblent témoigner que »les deux ébauches internes, c-à-d. la limite antérieure de l'encé-



phale, et le pli endodermique de l'intestin avec le coeur puissent, quoique peut-être à un degré inégal, jouer le rôle d'un »facteur morphogénique« par rapport à l'ectoderme, capable de former le pli sous-céphalique».

Au cours de mes recherches tératogéniques et expérimentales, j'ai recueilli un nombre très considérable d'embryons anormaux de Poule. En les étudiant, je fus frappé par la coexistence curieuse d'anomalies déterminées du développement de l'ectoderme extra-neural avec des anomalies de l'ébauche nerveuse et de l'intestin céphalique. L'examen de ces anomalies m'a fourni un certain nombre de faits qui paraissent de nature à jeter une lumière spéciale sur le problème du mécanisme évolutif de l'ectoderme épidermogène. Je me bornerai ici à l'étude du développement primitif de l'ectoderme extra-neural, en commençant par les stades initiaux de la neurulation jusqu'à ceux qui correspondent à la fin du deuxième jour d'incubation, surtout que dans les stades plus avancés du développement d'embryons monstrueux on peut constater très souvent des phénomènes de dégénérescence et des processus de nature régulatrice, qui peuvent masquer les relations morphologiques primaires jusqu'à les rendre indéchiffrables.

Avant d'aborder l'examen de mon matériel il me paraît indispensable d'établir quelques points essentiels du développement normal de l'ectoderme extra-neural. Comme on sait, dans les stades initiaux de la neurulation cet ectoderme forme tout près du bord antérieur de la plaque cérébrale un repli net et de plus en plus profond, savoir le pli limitant antérieur. Bientôt l'ectoderme embryonnaire se délimite aussi vers les côtés par des plis dirigés vers le bas et au-dessous de l'ébauche de la tête du germe. Ces plis limitants latéraux apparaissent avant tout au niveau des parties antérieures du cerveau, et ne se forment que beaucoup plus tard dans la région du tronc<sup>1</sup>). Les plis latéraux rejoignent vers l'avant le pli limitant antérieur pour constituer avec lui un repli falciforme dont les extrémités, dirigées vers l'arrière, s'effacent peu à peu. Quant au pli antérieur, il est à mentionner que son versant postérieur, formé d'ectoderme bien épais, entrera plus tard

<sup>1</sup>) Il est intéressant de noter que d'après Wetzel (1929) et Gräper (1930), même la fermeture de la gouttière nerveuse commence dans la région la plus antérieure du cerveau et non dans celle de la nuque future (à comparer Brachet, Corning, Fischel et d'autres).



dans la composition du *stomodaeum* et de la membrane pharyngienne, tandis que son versant antérieur, formé d'ectoderme extra-embryonnaire plus mince, constituera le *proamnios*. Ce pli s'accroît rapidement (il ne saurait être question ici d'un replissement secondaire passif), s'approfondit, se dirige vers le bas et vers l'arrière, en formant un cul-de-sac qui longe la paroi ventrale de l'intestin céphalique (à comparer la fig. 190 de la planche XII, ainsi que les fig. 203 et 230 de la planche XIII et XIV dans l'Atlas d'Embryologie de M. Duval). Ce n'est que bien plus tard, lorsque l'embryon sera pourvu de plusieurs paires des protosomites et que les plis limitants latéraux s'approfondiront sensiblement, même au niveau du mésencéphale, que cette formation en cul-de-sac s'effacera et que la paroi ventrale de la tête deviendra unie.

Notons encore quelques particularités du comportement de l'ectoderme épidermogène par rapport à l'ébauche neurale. La formation de la gouttière nerveuse et le rapprochement réciproque de ses lèvres amène en même temps, et d'une façon en apparence toute mécanique (nous verrons plus loin que ces relations ne sont point si simples), un infléchissement en dehors de l'ectoderme extra-neural, qui formera dès lors un angle plus ou moins aigu avec la paroi dorsale de l'ébauche nerveuse. Or, c'est dans la région antérieure du prosencéphale que l'ectoderme entoure toute l'ébauche nerveuse en s'appliquant assez étroitement contre celle-ci. Plus vers l'arrière, des relations pareilles sont évidemment bien difficiles à réaliser à cause de la présence de l'intestin céphalique et du mésoderme.

Comme nous l'avons déjà mentionné, l'ectoderme extra-neural céphalique et primitivement fort épais, mais bientôt il s'amincit sensiblement, évidemment à part quelques endroits déterminés, savoir les placodes sensorielles. Bien qu'aminci, il conserve partout son caractère compact. Au contraire, l'ectoderme extra-neural ne conserve nulle part dans le tronc la structure particulière à la région céphalique; il est fort mince, composé de cellules relâchées, séparées par des vacuoles claires. Surtout dans la région postérieure l'ectoderme du tronc s'épaissit à un endroit, très restreint d'ailleurs, soit au niveau du bord dorso-médian des protosomites, ou, plus vers l'arrière, au niveau des plaques latérales du mésoderme. Ces épaississements ectodermiques s'unissent aux lèvres de la gouttière nerveuse par des ponts cellulaires extrêmement



ténus. En examinant les coupes passées par la tête de l'embryon, on peut constater au niveau des placodes auditives et quelquefois aux endroits où se forme en même temps la crête nerveuse (crête ganglionnaire des auteurs, Neuralleiste de Holmdahl), la présence de ponts pareils de l'ectoderme aminci.

L'étude des monstres platyneuriques révèle surtout des relations, susceptibles de nous aider à comprendre le mécanisme du développement de l'ectoderme épidermogène. L'ébauche nerveuse de ces monstres est représentée, comme on sait, par une plaque nerveuse largement étalée en surface, qui ne manifeste aucune tendance à se fermer, du moins par voie ordinaire, en un tube nerveux clos. On ne peut prétendre toutefois que le développement du système nerveux des embryons platyneuriques ait subi un «arrêt» ou un retard quelconque. Au contraire, la monstruosité platyneurique consiste en une modification radicale de la direction que suivent la croissance et la différenciation de tout le corps de l'embryon (Rabaud, Tur), voire même son réseau vasculaire (Tur). C'est encore Tur qui a signalé la formation presque constante de plis anormaux de l'ectoderme extra-neural, pénétrant plus ou moins profondément au-dessous de la plaque platyneurique. Quoique la question de l'homologie de la plaque platyneurique largement étalée avec les régions correspondantes du système nerveux normal soit très difficile à trancher (Rabaud, Tur), il est clair qu'au moins primitivement, c-à-d. avant l'apparition de régulations spéciales, la surface dorsale de la plaque platyneurique correspond au pourtour interne, délimitant la cavité épendymaire, du tube nerveux normal, et que d'autre part ses bords latéraux équivalent vice-versa aux lèvres de la gouttière nerveuse ou à leurs dérivés.

Notre microphot. 1 (Pl. 12) représente, à un grossissement de 200 diamètres, la partie gauche d'une coupe transversale d'un monstre platyneurique, pourvu de 9-10 paires de protosomites<sup>1)</sup>. Cette coupe passait un peu en arrière de l'ébauche intestino-cardiaque, d'ailleurs anormalement déplacée vers l'avant, de sorte que la portion la plus antérieure de l'intestin céphalique s'est trou-

<sup>1)</sup> Tous les monstres platyneuriques décrits dans ce travail furent obtenus par voie expérimentale, c'est à dire en appliquant mon procédé tératogénique (incubation d'oeufs de Poule dans une atmosphère additionnée d'acide carbonique — Gallera 1936).



vée en avant de l'ébauche nerveuse. Comme nous le voyons, la plaque nerveuse est bordée sur ses côtés latéraux par le relief d'une crête nerveuse (crête ganglionnaire). A l'encontre de ce qu'on trouve dans les conditions normales, elle se dirige sous l'ébauche nerveuse, de dehors en dedans. Inutile de dire que les relations morphologiques du côté opposé de la plaque platyneurique sont les mêmes. (Le développement de la crête nerveuse des embryons platyneuriques sera traité dans les détails dans une autre publication). Quoique les crêtes soient orientées très anormalement par rapport au plan général de l'embryon leur disposition est tout à fait normale par rapport à l'ébauche nerveuse. Si l'on se figure que cette lame platyneurique est courbée vers le haut et si l'on rapproche mentalement ses deux bords latéraux, on reconstitue précisément les relations normales, aussi bien en ce qui concerne la configuration du tube nerveux, que la disposition de la crête nerveuse double. Mais il y a plus; en effet, il suffit d'un coup d'oeil sur notre microphotographie pour constater que l'ectoderme extra-neural est orienté normalement, lui aussi, par rapport à notre crête, et de ce chef, par rapport au bord latéral de l'ébauche nerveuse. Grâce au repli ectodermique anormal, dirigé en bas et au-dessous de la plaque platyneurique, c-à-d. grâce au repli correspondant à ceux signalés par Tur, la crête nerveuse s'est justement constituée dans l'angle aigu formé par l'ectoderme extra-neural et l'ébauche nerveuse; or, ce sont là des relations bien normales. Il paraît donc que la formation de ces plis ectodermiques, tellement caractéristiques pour les platyneuriens, n'a pour but que de reconstituer, dans la mesure du possible, les relations normales entre l'ébauche nerveuse et l'ectoderme.

On peut se placer cependant à un autre point de vue pour envisager ces relations; en effet nous avons affaire ici avec des plis limitants latéraux. Mais s'il en est ainsi, au fond de ces sillons limitants l'ectoderme devrait s'amincir et changer sensiblement sa texture, quoique ce ne soit pas réellement le cas. Bien au contraire, beaucoup plus loin vers les côtés cet ectoderme conserve encore sa structure et son épaisseur de  $15\ \mu$ , tandis que l'ectoderme extra-embryonnaire n'est épais que de  $5\ \mu$ . D'autre part, les plis limitants latéraux ne sont qu'à peine accentués à ce niveau chez un embryon normal du même âge. C'est plus vers l'avant qu'on peut constater chez les monstres platyneuriques la



coexistence de deux plis indépendants, l'un correspondant au limitant latéral et l'autre longeant la surface ventrale de la plaque cérébrale. Ces relations sont représentées sur notre microphot. 2 (Pl. 12). Il s'agit d'une coupe passant par la tête d'un autre monstre platyneurique et pratiquée au niveau du bout antérieur de l'intestin céphalique. (La région antérieure de l'ébauche cérébrale de l'embryon précédent se compliquait d'anomalies surajoutées). Nous voyons que l'ectoderme extra-neural entoure des côtés et d'en bas l'ébauche de la tête embryonnaire qui dans cette région se trouve au-dessus du blastoderme. Néanmoins, dans ce cas aussi, l'ectoderme céphalique s'insinue des deux côtés sous la plaque nerveuse, en formant des plis pénétrant profondément et adhérant presque intimement à l'ébauche nerveuse de son côté ventral. (Comme nous l'avons déjà dit, dans les cas de développement normal l'ectoderme extra-neural adhère assez étroitement à l'ébauche nerveuse seulement dans la région la plus antérieure). Il est à remarquer que les coudes de ces plis ne sont éloignés l'un de l'autre qu'à peine de  $55 \mu$ , tandis que la plaque platyneurique mesure  $670 \mu$  de largeur. Ainsi la plaque cérébrale est ici pour ainsi dire soulevée au-dessus de l'ébauche de la tête et délimitée d'en bas par l'ectoderme extra-neural. Il résulte donc indubitablement de la comparaison de ces faits que nos plis, formés par l'ectoderme invaginé au-dessous de la plaque nerveuse, n'ont rien de commun avec les sillons limitants latéraux et qu'ils s'ébauchent tout à fait indépendamment les uns des autres.

Mais ils représentent, peut-être, une formation secondaire, au caractère d'un replissement passif, provoqué par les mouvements convergents de l'ectoderme extra-neural, qui bute, dans notre cas, contre la plaque nerveuse anormalement rigide. L'étude d'une autre monstruosité embryonnaire, soit de la Sténencéphalie (Tur 1929, Gallera 1935) est la preuve qu'il n'en est pas ainsi. Cette monstruosité est caractérisée par l'étroitesse primitive et persistante de l'ébauche cérébrale. Le «cerveau sténencéphalique» conserve longtemps la structure d'une gouttière nerveuse dont les parois internes s'accolent très intimement l'une à l'autre, ou, dans d'autres cas, s'infléchissent en replis irréguliers. Dans mes «Études sur la Sténencéphalie» j'ai remarqué que parfois les bords extérieurs de la «gouttière sténencéphalique» s'évasent vers les côtés en s'étalant en surface, et que dans ces cas il se forme des



plis ectodermiques anormaux, adhérant à l'ébauche nerveuse de son côté ventral (à comparer notre microphot. 3). Ce sont donc des plis tout à fait pareils à ceux que nous rencontrons constamment chez les Platyneuriens. Je suis arrivé alors à la conclusion » que leur formation n'est point nécessairement liée au processus platyneurique... mais qu'ils se forment en général là, où les parties latérales de l'ébauche nerveuse s'étalent vers les côtés« (Zoologica Poloniae, vol. 1, Fasc. 1, p. 27). Maintenant, après un examen détaillé de ces plis ectodermiques anormaux, je puis établir que l'ectoderme extra-neural forme des plis semblables, même là où les lèvres de la gouttière nerveuse se rapprochent et s'accroissent intimement. C'est bien le cas d'un Sténencéphalien relativement très jeune dont la coupe transversale, pratiquée au niveau situé un peu en avant de la *fovea cardiaca*, est représentée sur notre microphot. 4 (Pl. 12). L'ébauche cérébrale a ici l'aspect d'une gouttière très étroite et profonde, aux parois internes s'appliquant immédiatement l'une contre l'autre, sans se souder toutefois. Il est à souligner qu'elles s'accroissent suivant toute leur longueur et que les lèvres de la gouttière sont dirigées parallèlement l'une à l'autre et presque verticalement par rapport au plan du blastoderme. Malgré cela, l'ectoderme extra-neural adhère aux parois externes de l'ébauche cérébrale, même plus intimement que dans les cas de développement normal. Ces relations curieuses sont devenues réalisables, parce que l'ectoderme extra-neural a formé des deux côtés de l'ébauche cérébrale des plis s'insinuant de haut en bas. Le pli gauche est profond de 100  $\mu$ , le droit de 90  $\mu$ ; la hauteur de l'ébauche encéphalique est ici de 250  $\mu$ , sa largeur de 120  $\mu$  environ. Il est évident qu'il ne saurait être question dans ce cas de replissements passifs, provoqués mécaniquement. Il n'y a pas à supposer l'action de facteurs quelconques empêchant l'accroissement en largeur du feuillet externe, les bords extérieurs de la gouttière cérébrale étant ici plus rapprochés l'un de l'autre que chez un embryon normal du même âge. Ces plis ectodermiques n'ont pu se former que par voie d'accroissement et de pénétration active des bandes étroites de l'ectoderme avoisinant l'ébauche nerveuse.

Cette fois encore c'est l'étude du comportement de l'ectoderme ordinaire par rapport à la plaque nerveuse des platyneuriens, qui fournit quelques renseignements curieux au sujet du mode de for-



mation de plis pareils. Maintenant c'est la région somitique qu'attire notre attention. La fragmentation »schistopoïétique« (Rabaud) des protosomites, qui se disposent en rangées transversales, est un phénomène bien caractéristique pour la Platyneurie. Justement, ce phénomène se lie avec le processus essentiel de la monstruosité platyneurique, c-à-d. avec la différenciation transversale (Tur) de tout le complexe embryonnaire. Se basant sur l'étude des monstres platyneuriques spontanés et sur les résultats de ses expériences, Grünwald a démontré tout récemment (1935, 1936), que les protosomites sont rigoureusement subordonnés à l'ébauche nerveuse. En général ils sont disposés de façon que les bords latéraux des rangées transversales des protosomites correspondent strictement aux bords latéraux de la plaque platyneurique. Néanmoins, dans une région restreinte, ils peuvent dépasser sensiblement les bords de cette plaque et alors nos plis ectodermiques, s'insinuant au-dessous de l'ébauche nerveuse, ne sont pas accentués. Dans les autres cas, c'est la plaque nerveuse qui dépasse sensiblement les bords extérieurs des protosomites. Lorsque les protosomites sont disposés asymétriquement par rapport à l'ébauche nerveuse, les plis ectodermiques anormaux se forment, eux aussi, d'une façon inégale (à comparer notre microphotographie 5 (Pl. 12)). Il paraîtrait donc que les protosomites peuvent peut-être empêcher mécaniquement la formation de nos plis ectodermiques. Néanmoins, dans quelques cas, même là où les rangées de protosomites dépassent sensiblement les bords latéraux de la lame platyneurique, j'ai observé la formation d'une crête ectodermique dirigée de haut en bas et sous l'ébauche nerveuse. Ces relations sont représentées à un grossissement de 200 diamètres sur notre microphot. 6 (Pl. 12), se rapportant à la coupe transversale d'un monstre platyneurique incubé pendant 48 heures dans une atmosphère additionnée d'acide carbonique. Les protosomites fragmentés schistopoïétiquement sont ici disposés en rangée transversale dont le somite le plus extérieur dépasse presque de toute sa largeur la ligne verticale, tangente au bord latéral de la plaque platyneurique. L'ectoderme ordinaire forme tout près du bord de la lame nerveuse, épaisse de  $37 \mu$  à peine, une crête effilée, dirigée de haut en bas et sous l'ébauche nerveuse. La longueur de cette crête mesure  $137 \mu$ , ses éléments cellulaires sont serrés les uns contre les autres. L'ectoderme avoisinant n'a



nulle part une structure pareille; il est vacuolisé et composé de cellules relâchées. En examinant les coupes voisines on peut constater que dans cette crête les figures mitotiques ne sont pas rares. Assurément notre crête ne correspond point au pli typique de l'ectoderme ordinaire dont les parois internes se sont soudées. Il est à remarquer que ni vers l'arrière, ni vers l'avant de notre crête, des plis pareils ne sont accentués. D'autre part, elle ne saurait aucunement passer pour la crête nerveuse, cette dernière correspondant à la traînée cellulaire bien visible sur notre microphotographie et adhérent au bord latéral de la plaque nerveuse de son côté ventral. La forme et la structure histologique de notre crête prouve d'une façon décisive qu'elle n'a pu se former que par voie d'accroissement et de pénétration active. Il est hors de doute, du moins à mon avis, que nous avons affaire ici avec un processus de la même nature que la formation des plis ectodermiques s'insinuant au-dessous de la plaque platyneurique. Quoique cette crête représente une formation abortive, elle révèle d'une façon frappante le mode essentiel de la formation des plis ectodermiques en question.

Enfin il est à mentionner que dans les stades beaucoup plus avancés (surtout depuis la fin du troisième jour d'incubation), l'ectoderme extra-neural peut former des plis qui se dirigent au-dessus de la plaque platyneurique et vers la ligne dorso-médiane, où ils se soudent. Il résulte du processus qui vient d'être décrit, que chacun des ces plis ectodermiques latéraux se double du fait de sa soudure avec son voisin, son versant interne formant la soi-disant voûte du système nerveux platyneurique, son versant externe entrant dans le revêtement ectodermique du corps. Il ne saurait évidemment être question d'une homologie quelconque entre une telle »voûte épibolique« et celle des embryons normaux (Rabaud 1901—1902, 1914, Tur 1915). Une pareille fermeture épibolique présente un phénomène relativement rare, chose bien facile à concevoir: comme nous savons, l'ectoderme extra-neural s'infléchit en général chez ces monstres au-dessous de l'ébauche nerveuse. Il est hors de doute que cette fermeture épibolique devrait être considérée comme l'expression d'un effort régulateur attardé, effaçant les relations primaires. Ajoutons qu'au cours des ses expériences sur les Amphibiens (1924), Giersberg a obtenu des anomalies de la fermeture du tube nerveux, ressemblant de



près, du moins en apparence, à celles que nous venons de signaler ici, et aux autres régulations embryonnaires décrites par Tur (1915). Ces anomalies obtenues par Giersberg ne sont-elles pas aussi d'une nature régulatrice?

Quant à la formation du repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique, qui délimite en avant la *fovea cardiaca*, le monstre platyneurique dont la partie antérieure est représentée *in toto* sur la microphot. 7 (Pl. 12), accuse quelques particularités dignes d'un intérêt spécial. Le corps de cet embryon, long de 2 mm 6, était frappé de Platyneurie prononcée le long de toute l'ébauche nerveuse. La plus grande largeur de la plaque nerveuse atteignait 0 mm 65 au niveau de la partie antérieure du cerveau. Quoique le processus platyneurique n'apparaît pas sous sa forme extrême, il s'est pourtant répercuté sur la structure des protosomites; ils étaient ici au nombre de 7—8 paires dont les plus antérieurs accusaient les signes non équivoques d'un dédoublement schistopoiétique en sens transversal. Le long des deux bords latéraux de la plaque platyneurique, on voit des épaissements longitudinaux symétriques qui correspondent, sans aucun doute, aux replis ectodermiques pénétrant au-dessous de la masse nerveuse centrale. Enfin, tout près du bord antérieur de la plaque cérébrale, on voit deux bourrelets nerveux bien opaques, orientés transversalement et séparés l'un de l'autre par une traînée plus claire. L'ébauche intestino-cardiaque était déplacée vers l'avant, de sorte que son bord postérieur était éloigné de 0 mm 4 à peine du bout antérieur du cerveau. Le repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique était aussi très sensiblement repoussé vers l'avant. Il se dessine distinctement sur le tableau *in toto* à une distance de 62  $\mu$  en avant de la limite antérieure du cerveau. Quant au coeur de l'embryon, ses deux ébauches primaires ne se joignirent pas dans la ligne médiane du corps embryonnaire, de sorte qu'elles formaient deux coeurs bien distincts et éloignés de 25  $\mu$  l'un de l'autre.

Cet embryon fut débité en coupes longitudinales dont l'une, située près de son plan axial, est représentée sur notre microphot. 8 (Pl. 12). La plaque nerveuse étalée en surface, épaisse de 42  $\mu$  environ, s'invagine dans sa région céphalique vers le bas, en formant une gouttière disposée en sens transversal par rapport à l'axe du corps de l'embryon. Cette gouttière s'enfonce à 160  $\mu$ ,



de sorte que sa base s'applique étroitement au plancher de l'intestin céphalique. Le bord supérieur du versant antérieur de notre gouttière s'évase vers l'avant en formant une plaque étalée, large de 55  $\mu$ . Celle-ci passe dans l'ectoderme extra-neural qui forme à ce niveau le repli longeant la surface ventrale de la plaque nerveuse mentionnée, et s'applique par son fond à la paroi extérieure du versant antérieur de notre gouttière. L'intestin céphalique dépasse vers l'avant la limite antérieure du cerveau en s'infléchissant un peu vers le haut. Il est à remarquer que notre gouttière présente, du moins en apparence, une formation bien semblable à la soit-disant »invagination optique antérieure«, décrite par Rabaud (1901—1902) chez les Cyclocéphaliens. Mais Rabaud a décrit cette formation chez des embryons beaucoup plus avancés que le mien; d'autre part, mes matériaux comprennent encore quelques autres monstres platyneuriques dont la partie antérieure de la plaque cérébrale était constituée de la même façon, et dans tous ces cas l'intestin céphalique était repoussé vers l'avant. Il paraît donc que c'était l'ébauche nerveuse qui, à la suite de la formation de cette gouttière transversale énigmatique, s'est raccourcie, et que le déplacement de l'intestin céphalique était ainsi plutôt de nature secondaire. Si c'était réellement le cas, notre gouttière transversale n'aurait évidemment rien de commun avec »l'invagination optique antérieure«.

Quant à l'ectoderme céphalique, il entoure le coude du repli endodermique de l'intestin céphalique, mais ne s'applique pas à celui-ci, et se dirige vers l'arrière en formant le deuxième pli distinct de l'ectoderme sous-céphalique. L'ectoderme céphalique, épais de 12  $\mu$ , passe brusquement au fond de ce pli dans l'ectoderme extra-embryonnaire très aplati. Le repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique et le pli endodermique de l'intestin, participent normalement à la formation de la *fovea cardiaca*. Celle-ci est ébauchée d'une façon bien typique, quoique, à cause du »dédoublément transversal« du coeur, elle soit dépourvue d'éléments vasculaires quelconques.

Il est à souligner que nous avons affaire ici avec les deux replis de l'ectoderme sous-céphalique à la fois, l'un mentionné ci-dessus, orienté par rapport à l'intestin céphalique en vue de la formation de la *fovea cardiaca*, l'autre, situé plus vers l'arrière et beaucoup moins développé, s'insinuant sous le bord antérieur de



la plaque cérébrale. D'après mes observations, basées, elles aussi, sur l'étude d'autres embryons monstrueux, les deux replis distincts de l'ectoderme sous-céphalique se forment en général là, où l'intestin céphalique est déplacé vers l'avant par rapport à l'ébauche nerveuse, et c'est le pli antérieur, orienté par rapport à l'intestin, qui est le mieux développé. Or, comme je l'ai déjà mentionné, Tur a décrit (Bull. Biol. de la France et de la Belgique, T. LV, p. 306—315, planche X, microphot. 10—13) un cas de Cardiocéphalie où, tout autrement que chez mes embryons, c'était le pli ectodermique postérieur, c-à-d. orienté par rapport à l'ébauche nerveuse et non à celle de l'intestin, qui était plus développé. Mais, justement chez les monstres cardiocéphaliques l'intestin s'ébauche toujours d'une façon abortive, et d'autre part la configuration du cerveau de cet embryon était fort compliquée. D'une manière générale on peut dire qu'à cause de l'infléchissement du bord antérieur du cerveau vers le haut et vers l'arrière, les relations morphologiques entre l'ectoderme sous-céphalique et l'ébauche nerveuse doivent toujours être plus ou moins atypiques chez les monstres cardiocéphaliques.

Sur notre microphot. 9 (Pl. 12) nous voyons une coupe transversale passée par la partie la plus antérieure du « corps » d'un autre embryon platyneurique. Cet embryon, pourvu de 7—8 paires des protosomites, provenait d'un oeuf incubé pendant 43 heures dans une atmosphère additionnée d'acide carbonique. Dans ce cas l'ébauche intestino-cardiaque, aussi bien que le repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique, étaient déplacés vers l'avant, probablement en corrélation avec l'infléchissement du bord antéro-latéral de la plaque cérébrale vers le haut et vers l'arrière. Nous trouvons ici des relations insolites. L'ectoderme embryonnaire, épais de 20  $\mu$ , se continue sans limite appréciable dans l'ectoderme périphérique. A ce niveau nous ne trouvons encore ni feuillet splanchnique, ni feuillet somatique, aussi sont-ce des relations bien typiques pour la région didermique. Malgré cela, au-dessous de l'épaississement de l'ectoderme, se dessine une ébauche typique de l'intestin céphalique, entourée de nombreux éléments du mésoderme relâché dont la présence est ici au moins bien précoce. Au-dessous de cette ébauche intestinale on voit une poche ectodermique extrêmement aplatie dans le sens dorso-ventral (les deux bords latéraux de cette formation sont indiqués par des croix sur



la microphotographie). Les parois internes de notre poche ectodermique s'accroissent étroitement l'une à l'autre. Sa paroi ventrale est formée d'ectoderme extra-embryonnaire très mince, sa paroi dorsale, épaisse de  $10 \mu$ , a une structure typique pour l'ectoderme céphalique. Toute cette formation s'applique étroitement à la couche endodermique. Il est hors de doute que nous avons affaire ici avec le repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique. Il est à remarquer qu'en examinant des coupes situées plus vers l'arrière, on peut constater que ce repli prend part à la formation d'une *fovea cardiaca*, tout à fait normalement ébauchée. Malgré cela, les plis limitants latéraux ne sont ici accentués nulle part. Le tableau décrit prouve donc indubitablement que le repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique peut s'ébaucher et se développer tout à fait indépendamment des plis limitants latéraux. D'autre part, la configuration de ce repli antérieur, qui forme une poche ectodermique pénétrant très loin vers l'arrière et sous l'intestin céphalique, prouve encore une fois que le repli n'a pu pas se former que par voie d'un accroissement actif vers l'arrière.

Quant à l'intestin céphalique, il est bien évident qu'il ne représente point un replissement passif de l'endoderme, un replissement mécanique, provoqué par l'apparition de l'autre repli, celui de l'ectoderme. Autrement, il ne saurait être question de la formation purement mécanique de ces deux plis, grâce à l'accroissement vers l'avant de la tête de l'embryon, s'élevant au-dessus de la surface du blastoderme. Dans notre cas la tête de l'embryon ne s'élève nullement au-dessus de cette surface, et malgré cela le repli de l'ectoderme sous-céphalique et celui de l'intestin se sont constitués. D'autre part, dans tous les cas où la limite céphalique de l'intestin dépasse vers l'avant le bout antérieur du cerveau, nous avons constaté la formation de deux replis indépendants de l'ectoderme sous-céphalique, l'un correspondant à l'ébauche nerveuse, et l'autre orienté par rapport à l'intestin céphalique et participant à la formation de la *fovea cardiaca*.

De la comparaison de ces faits il s'ensuit donc indubitablement que la formation du repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique est subordonnée à la partie antérieure du cerveau et à l'ébauche intestinale et peut-être aussi à celle du coeur. Évidemment, ces corrélations sont de nature double. En effet, comme nous l'avons vu, la partie antérieure de l'encéphale est bien ca-



pable d'exercer dans les cas d'hétérotopie anormale de l'intestin céphalique, une influence corrélative sur l'ectoderme céphalique, en y provoquant la formation d'un repli indépendant, et dans ces cas s'ébauche un autre repli, en général plus accentué, orienté par rapport à l'intestin céphalique. Mais où faut-il chercher le facteur morphogénique, qui provoque la formation de ce dernier pli? Est-ce dans l'intestin céphalique ou bien dans l'ébauche du coeur ou, enfin, dans ces deux ébauches simultanément? Or le coeur peut se former, comme on sait, tout à fait indépendamment du repli ectodermique: il suffirait de citer les monstres omphalocéphaliques (à comparer les publications de Rabaud 1899, 1907, 1914).

Au cours de mes expériences sur l'action de la pression sous-blastodermique, j'ai obtenu quelques embryons dont le coeur était dédoublé, c.-à-d. ses deux ébauches veineuses ne se sont pas rejointes dans la ligne médiane du corps embryonnaire. L'un de ces embryons est représenté *in toto* (sa région antérieure seulement) sur la microphot. 10 (Pl. 12). Il provenait d'un oeuf incubé pendant 49 heures. Le corps de l'embryon, long de 3 mm, était pourvu de 12—13 paires de protosomites. L'ébauche nerveuse, surtout dans sa région antérieure, était frappée d'anomalies multiples dont l'étude n'est pour nous que d'un intérêt tout à fait secondaire. L'intestin céphalique était anormalement raccourci, de sorte que sa limite postérieure était éloignée de 0 mm 58 à peine du bout antérieur du cerveau. Les deux ébauches cardiaques étaient situées des deux côtés du corps de l'embryon, au niveau de la limite postérieure de l'intestin céphalique. Elles étaient éloignées l'une de l'autre de 0 mm 32.

Cet embryon a été débité en coupes longitudinales dont deux sont représentées sur les microphot. 11 et 12. La première se rapporte à une coupe située près du plan axial de l'embryon, la seconde à celle passée par le «coeur droit». Sur la microphot. 11 nous voyons l'intestin céphalique constitué bien typiquement. L'ectoderme sous-céphalique longe suivant une certaine étendue la paroi ventrale de l'ébauche nerveuse, s'en écarte ensuite en se dirigeant vers le bas et sous l'intestin céphalique pour y contribuer à la formation de la *fovea cardiaca*. Celle-ci est prononcée d'une façon à peu près typique, quoique elle soit presque complètement dépourvue d'éléments vasculaires quelconques. L'ectoderme



extra-neural s'infléchit brusquement vers l'avant au niveau antérieur de la *fovea cardiaca* et passe dans l'ectoderme très mince qui se continue dans l'ectoderme périphérique (le coude ectodermique est marqué par une croix sur la microphotographie). Or, ce sont là des relations morphologiques tout à fait normales.

Sur notre microphot. 12 nous voyons que le «coeur latéral», constitué par l'ébauche endothéliale et myoépicardiale, se trouve en dehors de la *fovea cardiaca* et du repli endodermique de l'intestin céphalique. Quant à l'ectoderme extra-neural, il forme en avant de l'ébauche cardiaque un repli peu profond qui se dirige vers l'arrière. En comparaison avec le vrai pli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique, ce repli n'est que rudimentaire.

Rien ne suggère dans l'analyse de notre dernier cas, la moindre idée d'une influence corrélative, au moins prépondérante, produite par l'ébauche cardiaque sur l'ectoderme extra-neural. Nous devons conclure par conséquent, que c'est l'intestin céphalique et la limite antérieure du cerveau qui jouent le rôle d'un facteur morphogénique par rapport à l'ectoderme, capable de former le pli sous-céphalique antérieur.

En résumant tous ces faits, nous sommes amené aux constatations suivantes:

1. L'ectoderme extra-neural est loin de jouer un rôle actif dans la fermeture du tube nerveux; tout au contraire, il est subordonné aux bords supérieurs de la gouttière nerveuse. Cette subordination n'est point d'un ordre purement mécanique, car nous avons affaire ici avec l'influence corrélative de l'ébauche nerveuse sur l'ectoderme avoisinant.

2. Le pli limitant antérieur, c-à-d. le repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique, se forme tout à fait indépendamment des plis limitants latéraux.

3. Ce pli se forme par voie d'accroissement et de pénétration active de l'ectoderme.

4. Le pli en question se forme en corrélation avec l'intestin céphalique et le bout antérieur de l'ébauche nerveuse, c-à-d. ces deux ébauches jouent le rôle d'un facteur stimulant l'ectoderme, capable de former le pli sous-céphalique. C'est à l'intestin céphalique qu'échoit ici le rôle prépondérant. Ces influences corrélatives exercées par la partie antérieure de l'encéphale et par l'intestin s'accroissent et agissent de concert dans les cas de déve-



loppement normal, de sorte qu'il ne se forme qu'un seul repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique. Mais dans les cas anormaux où l'intestin dépasse vers l'avant l'encéphale, il se forme toujours deux replis ectodermiques distincts, l'un orienté par rapport à l'intestin céphalique et l'autre se dirigeant sous le bord antérieur du cerveau.

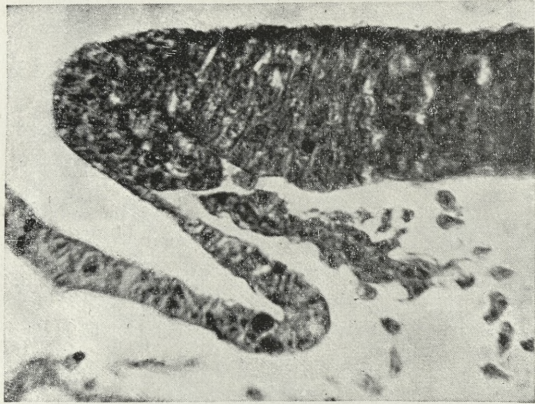
En ce qui concerne le problème du mécanisme de la formation des plis limitants latéraux, je ne puis encore me prononcer définitivement.

Varsovie, Université. Institut d'Anatomie Comparée.

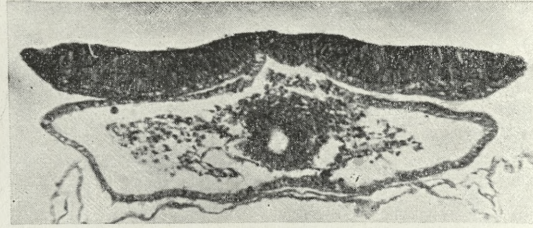
### Explication de la planche 12.

1. Partie gauche d'une coupe transversale d'un monstre platyneurique. L'ectoderme extra-neural s'insinue au-dessous du bord latéral de la plaque platyneurique en formant un repli anormal. Dans l'angle constitué par l'ectoderme et la plaque nerveuse, on voit une crête nerveuse. Grossi 200 fois.
2. Coupe transversale passée par la partie antérieure de la tête d'un autre monstre platyneurique. Les replis de l'ectoderme extra-neural pénètrent très profondément au-dessous de la plaque platyneurique. Grossi 100 fois.
3. Coupe transversale de la tête d'un monstre sténencéphalique. L'encéphale a ici le caractère d'une gouttière très étroite aux bords supérieurs évasés vers les côtés et formant deux plaques latérales étalées. Ces plaques passent dans l'ectoderme extra-neural qui forme des plis, pénétrant loin vers le bas de tout le complexe cérébral. Grossi 100 fois.
4. Coupe transversale de la tête d'un autre sténencéphalique. Les parois internes de la gouttière cérébrale s'accolent très intimement. L'ectoderme extra-neural forme de deux côtés de l'ébauche nerveuse des plis adhérant aux parois externes de la gouttière cérébrale. Grossi 100 fois.
5. Coupe transversale du tronc d'un monstre platyneurique. La corde et les protosomites sont disposés asymétriquement par rapport à la plaque nerveuse. Le pli ectodermique anormal est développé en corrélation frappante avec la disposition des protosomites. Grossi 100 fois.
6. Partie droite d'une coupe passée par la région somitique d'un monstre platyneurique. On voit une crête ectodermique qui se dirige de haut en bas et sous la plaque platyneurique. Grossi 200 fois.
7. Microphotographie *in toto* de la région céphalique d'un monstre platyneurique. Le pli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique et l'ébauche intestino-cardiaque sont repoussés vers l'avant. Grossi 50 fois.
8. Coupe longitudinale médiane de l'embryon de la microphotographie précédente. L'ectoderme extra-neural forme deux plis dont l'un s'insinue entre l'ébauche nerveuse et l'endoderme du pharynx, et l'autre se forme

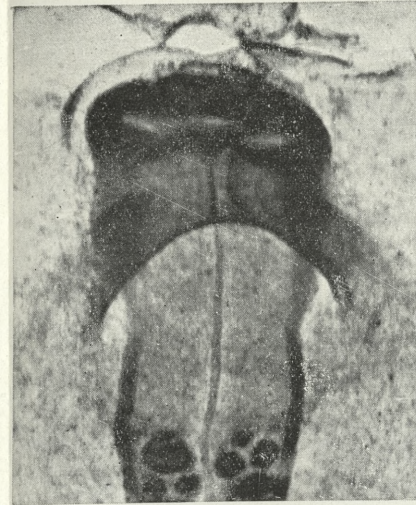




1.



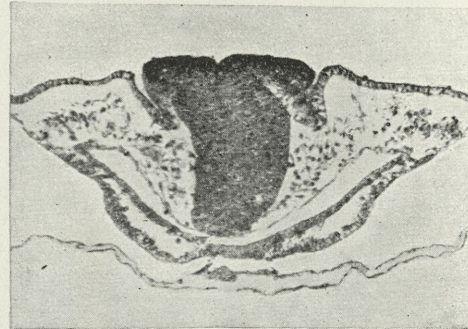
2.



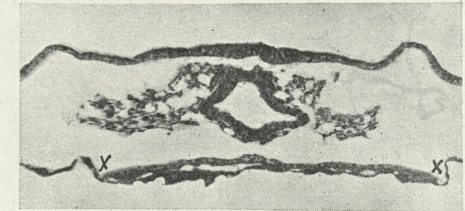
7.



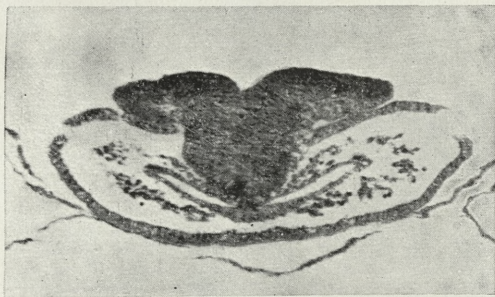
8.



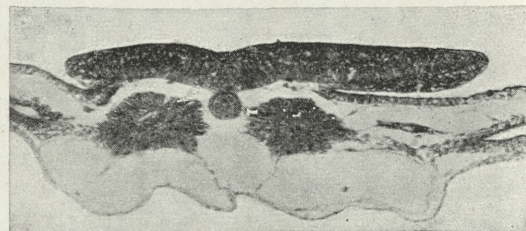
4.



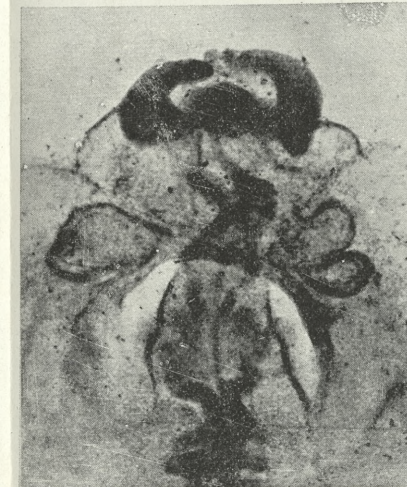
9.



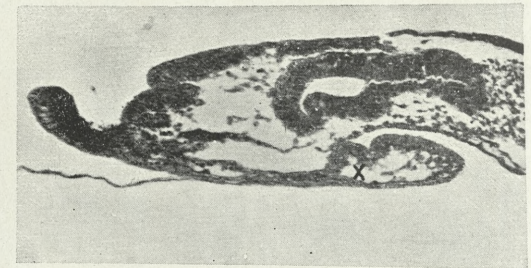
3.



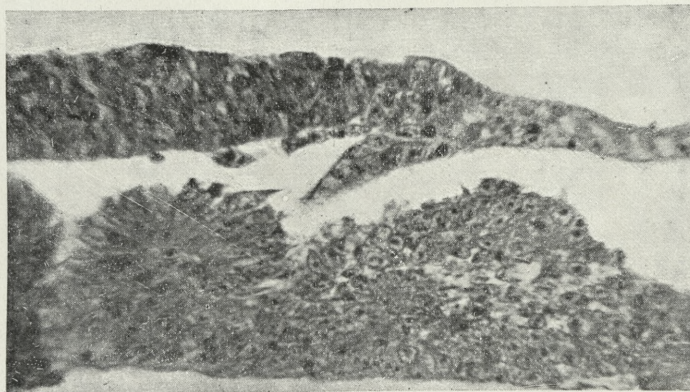
5.



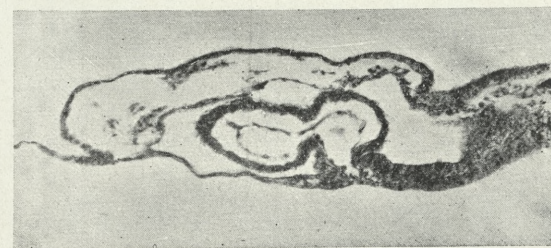
10.



11.



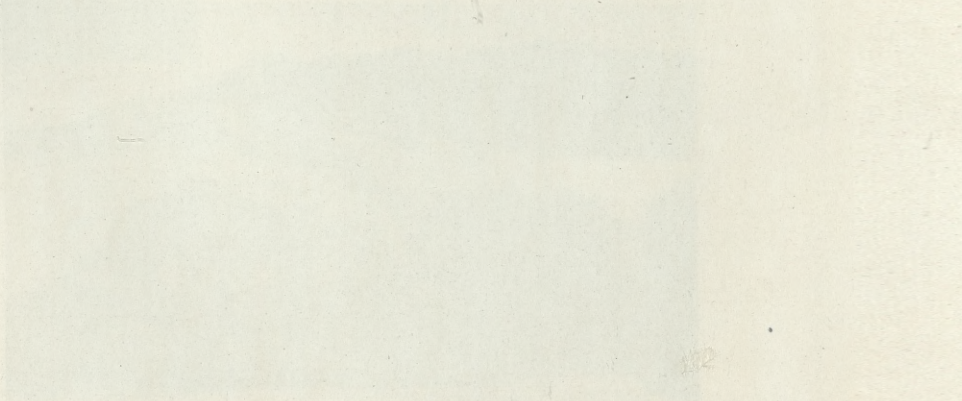
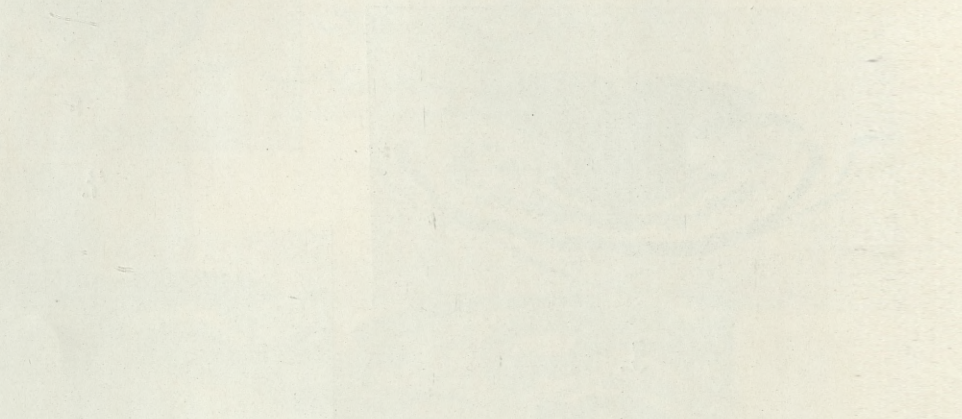
6.



12.

J. Gallera phot.







plus loin vers l'avant, en se dirigeant au-dessous de l'intestin céphalique. Grossi 100 fois.

9. Coupe transversale de la partie la plus antérieure du corps d'un monstre platyneurique. L'intestin céphalique et le repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique (XX) sont logés en avant du cerveau. Les plis limitants latéraux ne sont accentués nulle part. Grossi 100 fois.

10. Microphotographie *in toto* de la partie antérieure d'un embryon au coeur dédoublé. Grossi 50 fois.

11. Coupe longitudinale médiane de l'embryon de la microphotographie précédente. L'intestin céphalique et le repli antérieur de l'ectoderme sous-céphalique sont développés d'une façon à peu près normale. La *fovea cardiaca* est dépourvue d'éléments vasculaires. Grossi 100 fois.

12. Coupe longitudinale du même embryon, pratiquée au niveau du coeur droit. Celui-ci s'est ébauché en dehors de la *fovea cardiaca*. Grossi 100 fois.

### Bibliographie.

1. Boerema I.: »Die Dynamik des Medullarrohrschlusses«. Roux' Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 115, H. 4/5, 1929. — 2. Brachet A.: »Traité d'Embryologie des Vertébrés«. 2-éd. rev. et compl. par A. Dalq et P. Gérard, Paris, 1935. — 3. Corning H.: »Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen«. München und Wiesbaden, 1921. — 4. Duvál M.: »Atlas d'Embryologie«. Paris, 1889. — 5. Fischel A.: »Lehrbuch der Entwicklung des Menschen«. Wien u. Berlin, 1929. — 6. Gallera J.: »Expériences sur l'action de la pression sous-blastodermique sur les embryons d'Oiseaux«. Bull. de l'Acad. Polonaise d. Sc. et d. Lettres, 1934. — 7. Gallera J.: »Etudes sur la Sténencéphalie«. Zoologica Poloniae, vol. 1, Fasc 1, 1935. — 8. Gallera J.: »Production artificielle des monstres platyneuriques«. Folia Morphologica, Vol. VI, 1935. — 9. Giersberg H.: »Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien. II. Neurulation bei Rana und Triton«. Roux' Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 103, H. 3/4, 1924. — 10. Giersberg H.: »Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien. III. Neue Untersuchungen zur Neurulation bei Rana und Triton«. Roux' Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 107, H. 1, 1926. — 11. Gräper L.: »Untersuchungen über Herzbildung der Vögel«. Roux' Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 24, H. 3, 1907. — 12. Gräper L.: »Wachstumsvorgänge, beobachtet mittels Stereokomparation von Reihenaufnahmen lebender Hühnerembryonen«. Zeitschrift f. Anat., Bd. 92, H. 6, 1930. — 13. Grünwald P.: »Teratologische Untersuchungen über die mutmasslichen Beziehungen der abnormen und normalen Medullaranlage zur Entwicklung der Urwirbel beim Huhne«. Roux' Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 133, H. 5, 1935. — 14. Grünwald P.: »Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen der Medullaranlage zur Entwicklung der Urwirbel bei Huhn«. Roux' Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 135, H. 3, 1936. — 15. His W.: »Über mechanische Grundvorgänge tierischer Formenbildung«. Archiv f. Ana-



- tomie u. Physiologie. Anat. Abtheil., 1894. — 16. Holmdahl D.: »Die Entstehung und weitere Entwicklung der Neuralleiste (Ganglienleiste) bei Vögeln und Säugetieren«. Zeit. f. mikroskop.-anatom. Forschung, Bd. 14, H. 1/2, 1928. — 17. Lehmann F.: »Die Bedeutung der Unterlagerung für die Entwicklung der Medullarplatte bei Triton«. Roux' Archiv. f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 113, H. 1, 1928. — 18. Rabaud Ét.: »Essai de tératologie. — Embryologie des poulets omphalocéphales«. Journal de l'Anat. et de la Physiol., 1898. — 19. Rabaud Ét.: »Recherches embryologiques sur les cyclocéphaliens«. Journal de l'Anat. et de la Physiol., 1901—1902. — 20. Rabaud Ét.: »Discussion sur le mode de la formation de l'Omphalocéphalie«. Anat. Anzeiger, Bd. 31, 1907. — 21. Rabaud Ét.: »La Tératogénèse. Étude des variations de l'organisme. Encyclopédie Scientifique, Paris 1914. — 22. Roux W.: »Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryo«. Zeit. f. Biologie, Bd. 21, N. F. III, 1885. — 23. Roux W.: »Für unser Programm und seine Verwirklichung«. Roux' Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 5, H. 1, 1897. — 24. Ruffini A.: »L'ameboidismo e la secrezione in rapporto con la formazione degli organi e con lo sviluppo delle forme esterne del corpo«. Anat. Anzeiger, Bd. 33, 1908. — 25. Spemann H.: »Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung«. Berlin, 1936. — 26. Stockenberg W.: »Die Orte besonderer Vitalfärbbarkeit des Hühnerembryos und ihre Bedeutung für die Formbildung«. Roux' Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 135, H. 3, 1936. — 27. Szaniawski W.: »W sprawie podwojenia serca u zarodków ptasich«. Kosmos, Seria A. T. 53, 1928. — 28. Tur J.: »Les débuts de la Cyclocéphalie (»Platyneurie embryonnaire«) et les formations dissociées«. Bull. de la Soc. Philomath., 1906. — 29. Tur J.: »Sur l'accroissement de l'aire vasculaire des embryons d'Oiseaux normaux et platyneuriques«. C. R. de la Soc. des Sciences de Varsovie, 1910. — 30. Tur J.: »Nouvelles recherches sur le développement du système nerveux des monstres platyneuriques«. Travaux de la Soc. des Sciences de Varsovie, III, N. 11, 1915. — 31. Tur J.: »La Cardiocéphalie (nouvelle forme de monstruosité embryonnaire) et la morphogénèse de la *fovea cardiaca*. Bull. Biol. de la France et de la Belgique, T. LV, 1922. — 32. Tur J.: »La Sténencéphalie«. C. R. Soc. Biol. T. C., 1929. — 33. Wetzel R.: »Untersuchungen am Hühnchen. Die Entwicklung des Keims während der ersten beiden Bruttage«. Roux' Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen, Bd. 119, 1929.



*Rozmieszczenie chromatoforów w skórze normalnego i flavistycznego Pelobates fuscus Laur. — Die Verteilung der Chromatophoren in der Haut eines normalen und flavistischen Pelobates fuscus Laur.*

Mémoire

de M. **W. JUSZCZYK**,

présenté le 14 juin 1937, par M. H. Hoyer m. t.

(Planche 13).

Das Pigment der Lurche ist bereits vielfach untersucht worden. So sind die Chromatophoren von *Hyla arborea* (Bergrün 1913, Schmidt 1920), *Rana temporaria* (Schmidt 1920), *Rana esculenta* (Schmidt 1921), *Pelobates fuscus* und *Bufo bufo* (Ballowitz 1930), *Bufo viridis* (Goubeaud 1931), *Bombinator pachypus* (Elias 1936) beschrieben worden, wobei auch die Entwicklung der Chromatophoren und die Entstehung der Färbung in der Haut von *Bombinator* (Hoyer 1911), *Alytes obstetricans* (Borrel 1913), *Rana esculenta* 1932, *Bufo viridis* 1935 und *Bombinator pachypus* 1936 (Elias) berücksichtigt wurden.

Unter einer größeren Anzahl von schwanzlosen Lurchen findet man von Zeit zu Zeit Individuen, deren Haut gar keine Pigmentzellen oder nur gewisse Arten derselben aufweist. Millot schlägt daher vor, die Exemplare ohne Pigmentzellen als pigmentlose, dagegen die, welchen nur die Melanophoren fehlen, als Albinos zu bezeichnen. Werner dagegen gebraucht für ersteren Fall die Bezeichnung *Albinismus*, für den zweiten entweder *Flavismus* oder auch *Xanthismus*. Bei der Beschreibung der von mir untersuchten melaninlosen Individuen von *Pelobates fuscus* werde ich die Bezeichnung Werners benutzen.

In der Literatur findet man Angaben über albinotische schwanzlose Lurche. So wurden einige albinotische Exemplare von *Alytes*



*obstetricans* (Heron-Royer), *Bombinator pachypus* (Ippisch), *Rana temporaria* (Eales Nellie) genauer beschrieben. Werner erwähnt noch albinotische Exemplare von *Rana esculenta*, *Bufo viridis* und *Bufo bufo*, ohne jedoch etwas näheres über deren Albinismus anzugeben. Albinotische Kaulquappen von *Pelobates fuscus* hatte F. Werner nach einer brieflichen Mitteilung in der Nähe Wiens beobachtet.

Für meine Untersuchungen stand mir eine größere Menge normaler Kaulquappen, erwachsener Individuen und vier flavistische Exemplare von *Pelobates fuscus*, welche aus Prokocim bei Kraków stammen, zur Verfügung. Die Verteilung der Chromatophoren in der Haut untersuchte ich auf mikroskopischen Schnitten. Die Präparate färbte ich ebenso wie Elias mit Thionin, um dadurch die Lipophoren hervorzuheben. Die Guanophoren untersuchte ich in polarisiertem Lichte; bei gekreuzten Nikolen erscheint der Inhalt der Guanophoren stark glänzend. Sowohl die Melanophoren als auch die Allophoren waren ohne ein besonderes histologisches Verfahren anzuwenden sehr leicht ersichtlich.

#### Die Färbung des normalen *Pelobates fuscus*.

Der Rücken von erwachsenen Exemplaren von *Pelobates fuscus* ist gelblich, hellgrau oder auch graugrün gefärbt und läßt außerdem noch kleine dunklere graue, grünliche und zinnoberrote Fleckchen von verschiedener Gestalt erkennen. Auf diesem Untergrund befinden sich große dunkelbraune oder braune, hell umrandete Flecke, in welchen hellere, oder völlig schwarze und auch kastanienbraune Stellen auftreten. Die Flecke können ein zweifaches Aussehen haben. Bei gewissen Exemplaren sind meistens vier große unregelmäßige, längliche Flecke vorhanden, die sich sehr oft miteinander in verschiedener Weise verbinden. Bei anderen dagegen sind es kleine rundliche Flecke. Die Verteilung dieser ist auf dem Rücken sehr unregelmäßig und ihre Färbung ist dieselbe wie die der vorher erwähnten. Bei all diesen Exemplaren, jedoch unabhängig von der Form der sich auf dem Rücken befindenden Flecken, treten auf beiden Augenlidern dunkle Flecke auf. Die Bauchseite aller Exemplare von *Pelobates fuscus* ist einheitlich weiß oder auch gelblich gefärbt. In einigen Fällen ist die Bauchseite auch grau gescheckt.



Die Färbung der Kaulquappen dieser Exemplare ist folgende. Die einen Kaulquappen sind einheitlich dunkelgrün oder dunkelbraun, mit nur sehr wenigen gelblichen Fleckchen, auf der Bauchseite heller als auf dem Rücken. Die Schwanzflosse dieser Larven hat keine Flecke, sondern ist einheitlich grau oder schwärzlich gefärbt (Fig. 3, Taf. 13). Andere Kaulquappen haben eine hellere Färbung nämlich eine grünlichgelbe, welche durch zahlreiche metallischglänzende, gelblichgrüne Fleckchen hervorgerufen wird. Die Schwanzflosse dieser Larven ist mit zahlreichen, metallischgelblichen Flecken belegt (Fig. 2). Die Frösche der ersteren weisen nach ihrer Metamorphose große dunkle Flecke auf (Fig. 6), die der zweiten dagegen haben gewöhnlich nach ihrer Metamorphose kleine dunkle Flecke auf dem Rücken (Fig. 5, Taf. 13).

Die Chromatophorenverteilung in der Haut normal gefärbter ausgewachsener Exemplare von *Pelobates fuscus*.

Die Farbe der Haut hängt von der Anzahl und Art der Pigmentzellen ab. Bei *Pelobates fuscus* unterscheiden wir vier Arten derselben, nämlich: Melanophoren, Guanophoren, Lipophoren und Allophoren.

In der *Epidermis* befinden sich nur Melanophoren mit langen, fadenähnlichen, oft verzweigten Ausläufern (Fig. 7), welche sich in verschiedenen Richtungen ausbreiten und dabei miteinander ein Geflecht bilden. Sowohl die Zellkörper als auch die Kerne sind in diesen Melanophoren sehr deutlich sichtbar. In den gewöhnlichen Epithelzellen kann man oft freies Pigment von Melanin beobachten, das von Schmidt bei *Rana temporaria* und von Elias bei *Bombinator pachypus* beschrieben wurde.

In *Stratum laxum* (Rabl) (*Str. vasculare*) der eigentlichen Haut (*Corium*) befinden sich dicht unter der *Epidermis* zuerst die Allophoren, tiefer die Lipophoren (an einigen Stellen verschmelzen beide zu einer Schicht), ihnen folgen die Guanophoren und am tiefsten liegen die Melanophoren. Diese subepidermalen Melanophoren unterscheiden sich von den epidermalen durch kurze, lappenartige, spitz endende Ausläufer und durch einen um das vielfache größeren Zellkörper. Die einzelnen Guanophoren und die subepidermalen Melanophoren können auch zwischen den über ihnen liegenden Chromatophoren zerstreut sein. Dagegen konnte



ich aber nicht beobachten, daß von Epidermismelanophoren Ausläufer ins *Corium* und umgekehrt von subepidermalen Melanophoren Ausläufer aus dem *Corium* in die *Epidermis* verlaufen.

Im *Stratum spongiosum* der eigentlichen Haut befinden sich wenige Melanophoren und Guanophoren. Im *Stratum compactum* sind nur wenige Guanophoren vorhanden. In der *Subcutis* treten nur Melanophoren und Guanophoren auf, dagegen gibt es keine Lipophoren.

An den hellgrauen Stellen der Rückenhaut treten zahlreiche Guanophoren auf, die in einer dicken Schicht gelagert sind. Die subepidermalen Melanophoren und Lipophoren sind dort spärlich vorhanden. An den grünlichgrauen Stellen sind Lipophoren zahlreicher als in den hellgrauen. Epidermismelanophoren treten an diesen Stellen in sehr geringer Anzahl vereinzelt auf. In den hellsten Stellen rings um die dunklen Flecke fehlen diese sogar gänzlich.

In den dunkelbraunen Flecken am Rücken befinden sich sehr zahlreiche sowohl epidermale als auch subepidermale Melanophoren, außerdem Lipophoren und eine geringe Anzahl von Guanophoren. Die besonders starke Verdichtung der Epidermismelanophoren und die Anhäufung von freiem Melaninpigment in den Epithelzellen, oder auch letztere nur allein, bedingen die Entstehung völlig schwarzer Stellen in diesen dunkelbraunen Flecken. Die Ausläufer sowohl der epidermalen als auch subepidermalen Melanophoren in diesen Flecken sind zahlreicher verästelt und länger als im hellgrauen Untergrund.

Die roten, durch Allophoren hervorgerufenen Flecke am Rücken wurden von Ballowitz genauer beschrieben. Wenn sich nämlich Allophoren in den dunkelbraunen Flecken befinden, so mischt sich die Farbe dieses Fleckes mit der zinnoberroten Farbe der Allophoren und das Ergebnis ist eine kastanienbraune Farbe.

Die einheitliche weiße Färbung auf der Bauchseite wird durch zahlreiche Guanophoren bedingt die in zwei Schichten gelagert sind. Die eine befindet sich im *Stratum laxum* der *Cutis*, die andere in der *Subcutis*. Außerdem befinden sich im *Stratum compactum* der eigentlichen Haut kleinere Anhäufungen von Guanophoren. Die Guanophorenschicht der *Subcutis* ist an manchen Stellen dicker als die oberhalb liegende. Die gelbliche Färbung der Bauchseite mancher Exemplare wird durch wenige auf dem Grunde



von Guanophoren auftretende Lipophoren hervorgerufen. Die grauen Flecke auf der Bauchseite werden durch eine Anhäufung weniger subepidermaler Melanophoren bedingt. Dagegen fehlen auf der Bauchseite Epidermismelanophoren, ähnlich wie es auch Schmidt bei *Rana temporaria* beschrieben hat.

Die Chromatophorenverteilung in der Haut der anderen beschriebenen Arten schwanzloser Lurche wie von *Hyla arborea* (Bergrün, Schmidt), *Rana temporaria* (Schmidt), *Rana esculenta* (Schmidt), *Bufo viridis* (Goubeaud) und *Bombinator pachypus* (Elias) weist bei einem Vergleich dieser mit den vorhererwähnten Verhältnissen gewisse Ähnlichkeiten und Unterschiede auf.

Die epidermalen Melanophoren verhalten sich ähnlich wie bei *Pelobates fuscus* auch bei *Rana temporaria* (Schmidt), *Bufo viridis* (Goubeaud) und nach Schmidt auch bei *Hyla arborea*, wo sie aber sehr selten auftreten. Nach Ficalbi treten sie bei letzterer Art nicht auf. Im übrigen haben die Epidermismelanophoren eine ähnliche Form wie bei *Pelobates fuscus* und treten gewöhnlich in einer größeren Anhäufung besonders in den dunklen Flecken auf. Subepidermale Melanophoren treten bei allen obigen Arten auf, aber die Ausläufer dieser Melanophoren, die aus dem *Corium* in die *Epidermis* reichen, treten nur bei *Bombinator pachypus* in Erscheinung (Elias). Die subcutanen Melanophoren treten nur bei *Rana temporaria* (Schmidt), *Bombinator pachypus* (Elias) und nach meinen Beobachtungen bei *Pelobates fuscus* auf.

Die Guanophoren befinden sich sowohl im *Corium* der Haut als auch in der *Subcutis* bei allen untersuchten Arten schwanzloser Lurche.

Die Lipophoren der *Cutis* treten bei allen oben erwähnten schwanzlosen Lurchen auf und nach Elias bei *Bombinator pachypus* in zwei Formen, von denen die eine auf der dorsalen und die andere auf der ventralen Körperseite zu finden ist. Die Lipophoren der *Subcutis* fehlen nur bei *Pelobates fuscus*.

Allophoren finden sich bei *Rana temporaria* (Schmidt), *Bufo bufo*, *Bufo viridis* und *Pelobates fuscus* (Ballowitz). Die Allophoren unterscheiden sich bei diesen Arten nur durch ihre Verteilung, besonders bei *Rana temporaria*, wo sie sich am tiefsten im *Stratum laxum* unter anderen Chromatophoren befinden (Schmidt). Dagegen liegen bei den übrigen Arten die Allophoren dicht unter der *Epidermis* auf anderen Chromatophoren (Ballowitz). Sowohl



bei *Rana esculenta* als auch bei *Hyla arborea* wie auch bei *Bombinator pachypus* treten keine Allophoren (Schmidt, Elias) auf.

Die Verteilung der Chromatophoren in der Haut bei *Pelobates fuscus* und die dadurch hervorgerufene Färbung nähert sich am meisten den bei *Rana temporaria* (Schmidt) beschriebenen Verhältnissen.

#### Flavistische Exemplare von *Pelobates fuscus*.

Das Jahr 1934 zeichnete sich durch katastrophale Niederschläge aus, die im Monate Juli in der Gegend von Kraków eine Höhe von 183 mm erreichten. Im Zusammenhange damit trat überall eine große Menge von Kaulquappen von *Pelobates fuscus* auf (Juszczyk). Unter diesen ungeheueren Mengen fand ich Anfang August in Prokocim vier flavistische Larven von *Pelobates fuscus*. Außer diesen Exemplaren fand sich zwei Monate später desselben Jahres noch eine flavistische Larve dieser Art in einer anderen Gegend von Kraków, nämlich in Dębni.

Die kleinste Larve (3 cm), welche gefangen wurde, hatte ein Oedem, das auch bei den von Ippisch beschriebenen albinotischen Kaulquappen von *Bombinator pachypus* sich bemerkbar machte. Hertwig fand mehrmals unter normalen sich in starkem Sonnenlichte entwickelnden Larven auch einige, die eine Wassersucht aufwiesen. Mc Clure hat experimentell bewiesen, daß die Wassersucht, *Oedema*, mit einer anormalen Funktion der Niere im Zusammenhange steht. Die von mir gefangene Larve nahm nur geringe Mengen von Nahrung auf, so daß sie sich langsamer entwickelte als die übrigen und daher im Aquarium überwintern mußte, was jedoch auch öfters bei normalen Kaulquappen von *Pelobates fuscus* der Fall ist (Leydig, Boulenger, Werner, Remane). Nach Verlauf eines Jahres war das Oedem verschwunden. Die übrigen flavistischen Larven hatten bei ihrem Einfangen eine Länge von 7 cm und erreichten noch im demselben Jahre die bei *Pelobates fuscus* durchschnittliche Körperlänge von 8—10 cm. Im späten Herbst erfolgte die normale Metamorphose. Sowohl diese Larven als auch die aus ihnen hervorgehenden Frösche unterscheiden sich nicht von normal gefärbten Exemplaren durch ihre Lebensweise. Im Terrarium fühlten sie sich sehr wohl und lebten dann ungefähr 1 Jahr; zwei davon entschlüpfen, die anderen zwei habe ich aufbewahrt.



Tornier, der den Einfluß der Nahrung auf die Färbung der Haut bei Larven von *Pelobates fuscus* untersuchte, kam zu der Erkenntnis, daß pflanzliche Nahrungsstoffe eine Aufhellung der Haut hervorrufen und sogar Albinismus herbeiführen und daß ausschließliche Fleischnahrung den Melanismus bedingt. Die von mir beschriebenen flavistischen Kaulquappen nahmen nur Fleischnahrung zu sich und wurden auch als Frösche künstlich mit Fleisch von Fröschen und Säugern gefüttert. Trotzdem trat weder bei den Larven noch bei Fröschen eine Veränderung ihrer Hautfärbung ein. Aus der Beschreibung von Tornier folgt, daß seine auf künstlichem Wege erhaltenen albinotischen Larven keine echten Albinos waren, zumal die hellsten Exemplare außer einigen anderen Pigmentzellen ein gewisse Menge von Melanophoren besaßen.

Meine fünf Larven hatten eine einheitliche zitronengelbe Farbe auf dem Rücken etwas matt, auf der Bauchseite dagegen stark glänzend. Die Schwanzflosse war durchsichtig und mit einigen weißen Fleckchen belegt. Die *Iris* hatte einen silbernen Glanz und die runde Pupille war rötlich (Fig. 1). Nur der verhornte Schnabel rings um die Mundöffnung war schwarz gefärbt. Der Körper der Kaulquappen war verhältnismäßig durchsichtig. Die aus diesen Larven hervorgegangenen Frösche wiesen an verschiedenen Stellen des gelben Rückens kleine rundliche orangefarbene Flecke auf, die bei den Larven nicht vorhanden waren. Die Spitzen mancher Drüsenwarzen sowohl auf dem Rücken als auch auf der dorsalen Seite der Gliedmaßen waren zinnoberrrot gefärbt. Die Bauchseite war einheitlich weiß. Die *Iris* war hellgelbglänzend und die senkrechte, elipsenförmige Pupille rot (Fig. 4, Taf. 13).

Die Chromatophorenverteilung in der Haut der flavistischen Exemplare von *Pelobates fuscus*.

Bei den beschriebenen flavistischen Fröschen traten drei Arten von Chromatophoren auf, nämlich: Guanophoren, Lipophoren und Allophoren. Melanophoren dagegen fehlen bei diesen Exemplaren sowohl in der Haut als auch in den Augen gänzlich. Die Lipophoren verleihen zu Lebzeiten gemeinsam mit den Guanophoren dem Rücken der Tiere eine gelbe Färbung, besät mit orangefarbenen Flecken. Auf den Präparaten gelang es mir leider nicht die Lipophoren zu färben, da sich ihr Inhalt infolge der Aufbewahrung im Formol zerlegt hatte.



Die Guanophoren, die sich in den gelben Flecken des Rückens befinden, sind in zwei Schichten gelagert. Die eine Schicht befindet sich im *Stratum laxum* der *Cutis*, die zweite in der *Subcutis*. Die letztere ist manchenorts etwas dicker als die erstere (Fig. 8).

Die Guanophoren in den orangefarbigen Flecken treten nur in einer Schicht auf, nämlich im *Stratum laxum* und dazu noch in einer kleineren Anzahl als im gelben Untergrund. Dagegen sind in der *Subcutis* nur wenige dieser Flecke und vereinzelte Guanophoren vorhanden. Der Unterschied in der Anzahl zwischen den in beiden beschriebenen Stellen der Haut auftretenden Guanophoren ist bei polarisiertem Lichte in der Flächenansicht sehr gut ersichtlich. Es erscheinen nämlich die gelben Flecke mit zahlreichen glänzenden Guanophoren besät, während in den orangefarbigen die Guanophoren viel spärlicher auftreten (Fig. 10 und Fig. 11, Taf. 13).

Die zinnoberrote Färbung der kleinen und verschieden geformten auf den Spitzen einiger Drüsenwarzen liegenden Fleckchen ist durch die Allophoren bedingt.

Auf der Bauchseite treten die Guanophoren in zwei Schichten, ähnlich wie bei normal gefärbten Exemplaren auf. Die eine Schicht liegt im *Stratum laxum* der eigentlichen Haut, die zweite befindet sich in der *Subcutis* und ist in vielen Stellen etwas dicker als die vorhergehende (Fig. 9). Die Haut der Bauchseite erscheint im polarisierten Lichte in der Flächenansicht als eine einheitliche weißlich glänzende Fläche, die nur von den Drüsenöffnungen durchlöchert ist. Die Haut der Bauchseite ist bei normal gefärbten *Pelobates fuscus* weniger regelmäßig glänzend.

Die Guanophoren als auch Allophoren haben sowohl bei flavistischen *Pelobates fuscus* als auch bei normal gefärbten dieselbe Lage.

### Zusammenfassung.

Die Färbung der in der Gegend von Kraków auftretenden Exemplare von *Pelobates fuscus* ist zweifach. Die einen haben auf dem Rücken vier große, längliche dunkelbraune Flecke, bei den anderen dagegen sind diese Flecke klein, rundlich, aber zahlreich. Früher hatte man angenommen (Udziela), daß die mit kleinen rundlichen Flecken versehene Form nur in den östlichen Gegenden Polens, und zwar in der Gegend von Zaleszczyki, auftritt.



In der Haut normal gefärbter erwachsener Exemplare von *Pelobates fuscus* treten zwei Arten von Melanophoren auf. Die eine mit langen, fadenförmigen, stark verästelten Ausläufern, die sich in der *Epidermis* befinden, die andere im *Corium*, deren Zellkörper größer ist als bei der vorhergehenden und die mit kurzen, lappenartigen, scharf endenden Ausläufern endigen.

Die Guanophoren in der Rückenhaut treten nur in einer einzigen Schicht, und zwar im *Stratum laxum* (Rabl) (*Str. vasculare*) des *Coriums* auf, wogegen sie in der Haut der Bauchseite in zwei Schichten gelagert sind, nämlich eine im *Stratum laxum* und die zweite in der *Subcutis*.

Die Lipophoren befinden sich im *Stratum laxum* der *Cutis* des Rückens und bei manchen Exemplaren auch in derselben Schicht der Haut auf der Bauchseite.

Die Allophoren treten dicht unter der *Epidermis* der Rückenhaut auf.

Im Jahre 1934, welches sich durch katastrophale Niederschläge auszeichnete, wurden in der Gegend von Kraków, während des Auftretens einer ungeheueren Menge von Kaulquappen von *Pelobates fuscus*, flavistische Exemplare dieser Art aufgefunden.

Sowohl bei flavistischen Larven als auch bei umgewandelten Individuen ist in der Haut und in den Augen ein völliges Fehlen von Melanophoren festzustellen. Die Färbung der gelben mit orangefarbenen Flecken besäten Rückenhaut flavistischer Frösche wird durch Lipophoren und Guanophoren hervorgerufen. Die Guanophoren traten bei diesen Exemplaren in einer größeren Anzahl als bei normal gefärbten auf. Bei flavistischen Fröschen treten auch Allophoren auf. Sowohl die Guanophoren als auch die Allophoren hatten bei flavistischen Fröschen dieselbe Lage wie beim normal gefärbten *Pelobates fuscus*.

Herrn Prof. dr. H. Hoyer danke ich herzlichst für die Anregung zur näheren Untersuchungen dieser seltenen Funde. Ebenfalls spreche ich Herrn Prof. dr. Z. Grodziński, Direktor des Instituts der vergleichenden Anatomie, für seine Hilfsbereitschaft meinen innigsten Dank aus.

Institut für vergleichende Anatomie der Jagellonischen Universität in Kraków.



### Erklärung der Tafel 13.

Alle Aufnahmen stellen die Präparate von *Pelobates fuscus* dar. Die Figuren von 1—6 stellen die Exemplare in natürlicher Größe dar. Den anderen ist ein Maßstab beigegefügt.

Fig. 1. Flavistische Kaulquappe.

Fig. 2. Hellgefärbte Kaulquappe.

Fig. 3. Dunkelgefärbte Kaulquappe.

Fig. 4. Flavistisches, in Umwandlung begriffenes Exemplar.

Fig. 5. Hellgefärbtes, in Umwandlung begriffenes Exemplar.

Fig. 6. Dunkelgefärbtes, in Umwandlung begriffenes Exemplar.

Fig. 7. Querschnitt durch die Rückenhaut eines normal gefärbten erwachsenen Tieres. Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit. Färbung mit Thionin.

Fig. 8. Querschnitt durch die Rückenhaut eines flavistischen Frosches. Ausgetrocknet, nachher in Paraffin eingebettet. Färbung mit Thionin und Eosin.

Fig. 9. Querschnitt durch die Haut der Bauchseite desselben Tieres.

Fig. 10. Die Flächenansicht der Rückenhaut eines flavistischen Frosches in durchgelassenem Lichte. In Terpinolöl eingeschlossen.

Fig. 11. Dieselbe Stelle bei polarisiertem Lichte.

E. M. — Epidermismelanophoren.

L. — Lipophoren.

G. — Guanophoren.

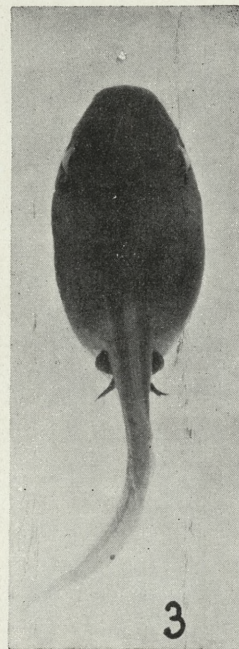
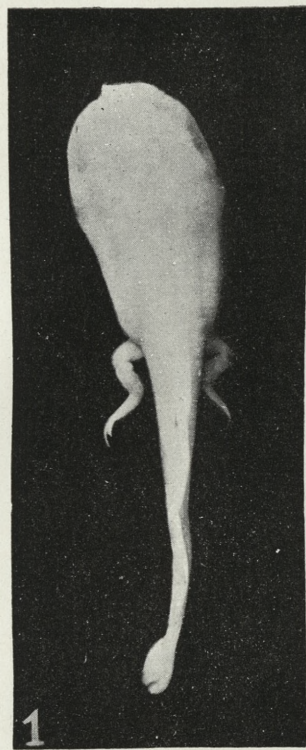
S. M. — Subepidermale Melanophoren.

S. G. — Subcutane Guanophoren.

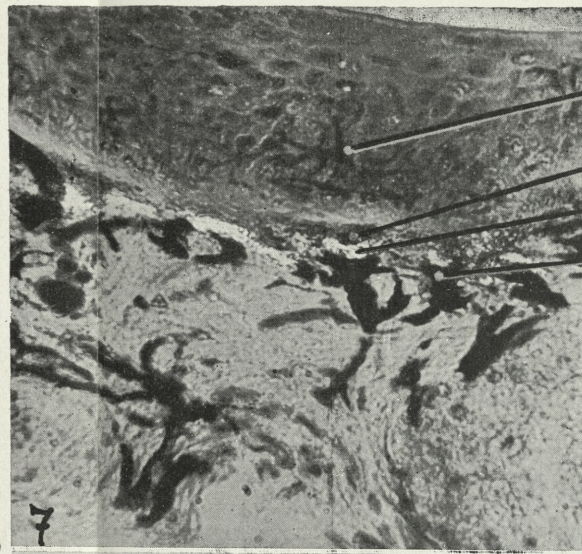
### Literaturverzeichnis.

1. Ballowitz W. Über das Vorkommen alkoholbeständiger Rotzellen (Allophoren, W. J. Schmidt) in der Haut einheimischer Amphibien. Z. mikr. anat. Forsch. 19. 1930. — 2. Bergrün J. Über den Bau der Haut von *Hyla arborea* L. während ihres Farbenwechsels. Bull. Acad. Sc. Cracovie. Sér. B. 1913. — 3. Borrel A. Réseau fondamental pigmentaire chez *Alytes obstetricans* et apparition des cellules pigmentaires. C. R. Soc. Biol. 75. 1913. — 4. Boulenger G. A. A Synopsis of the Tadpoles of the European Batrachians. P. Z. S. London, 1891. — 5. Eales Nellie B. Albinism in the common Frog. Nature, London, 132. 1933. — 6. Elias H. Die Entwicklung des Farbkleides des Wasserfrosches (*Rana esculenta*). Z. Zellforsch. 14. 1932. — 7. Elias H. Über die Entwicklung der Chromatophoren und anderer Zellen in der Haut von *Bufo viridis*. Z. Zellforsch. 21. 1934. — 8. Elias H. Die Hautchromatophoren von *Bombinator pachypus* und ihre Entwicklung. Z. Zellforsch. 24. 1936. — 9. Ficalbi E. Ricerche sulla struttura minuta della pelle degli anfibi. In: Atti della R. Acad. Peloritana. Anno XI. Messina, 1896. — 10. Goubeaud W. Die histologischen Grundlagen von Farbkleid und Farbwechsel bei *Bufo viridis*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere. 21. 1931. — 11. Héron-Royer. Sur la reproduction de l'albinisme par voie héréditaire chez l'Alyte accoucher et sur l'accouplement de





0.05 mm.

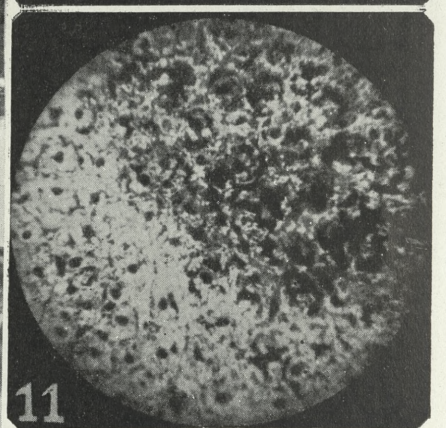
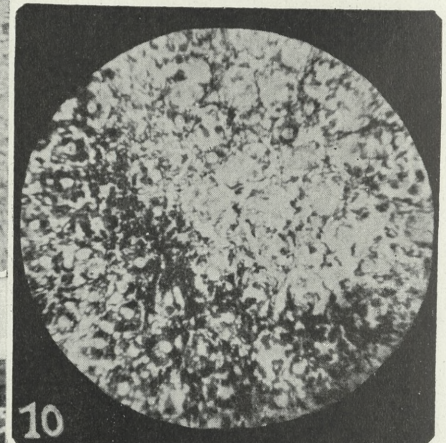
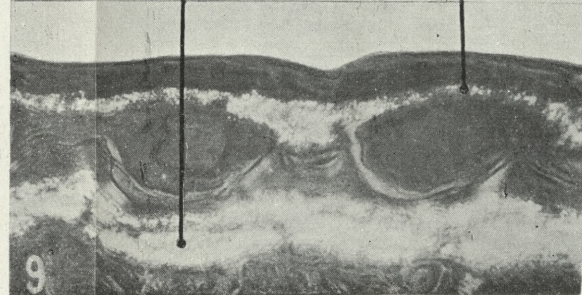
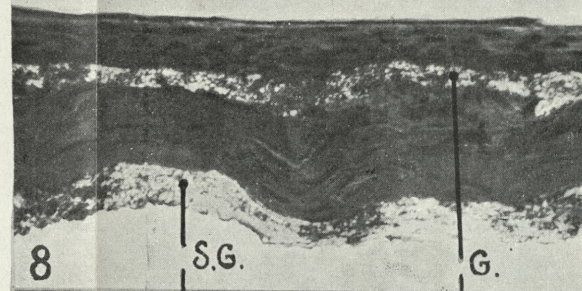
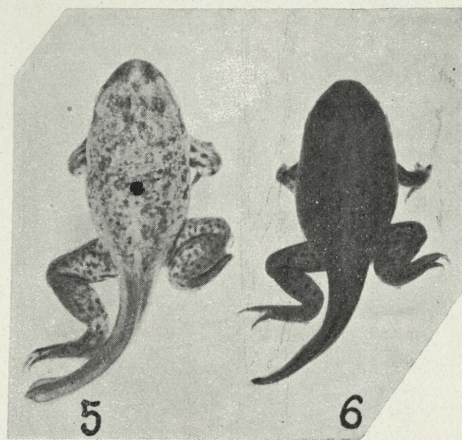
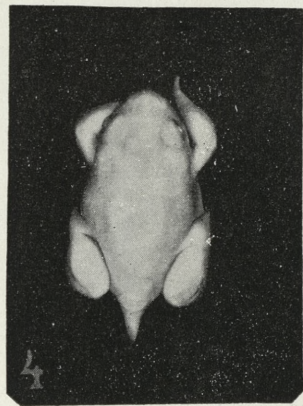


E.M.

L.

G.

S.M.

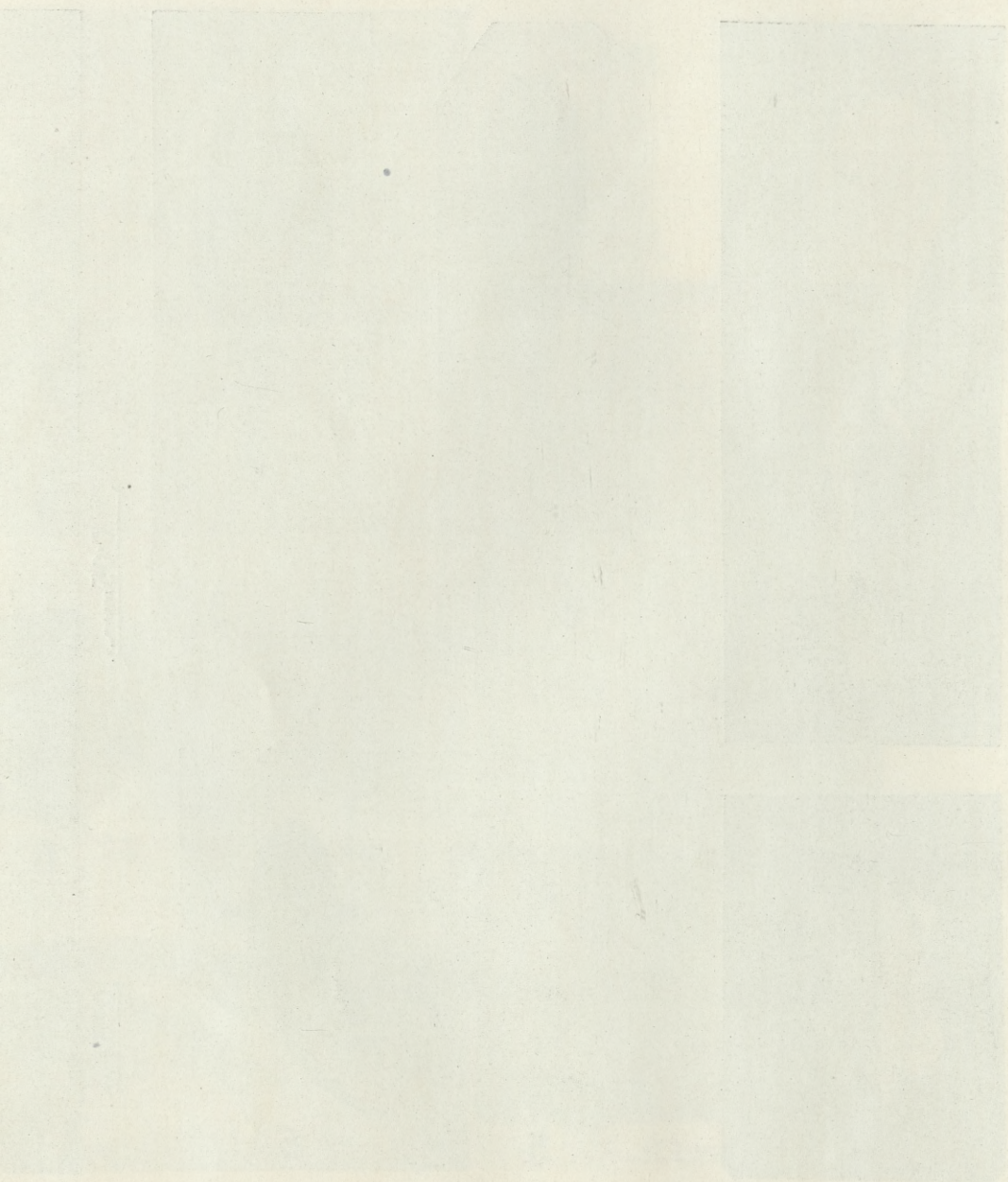


0.5 mm.

W. Juszczyk.



Wydawnictwo Naukowe PWN





ce Batracien. Bull. Soc. Zool. France. 1886. — 12. Hertwig O. Die Radium-Krankheit tierischer Keimzellen. Archiv mikr. Anat. und Entwick. Bd. 77. — 13. Hoyer H. Über die Unke (*Bombinator*). Kosmos XXXVI. Lwów 1911. — 14. Ippisch G. Beobachtungen über Albinismus usw. bei *Bombinator pachypus*. Bl. Aqu. Terr.-Kde. 39. 1928. — 15. Juszczuk W. Über die Paarungszeit einheimischer Anuren. Spraw. Kom. Fizj. Pol. Ak. Um. Kraków, 1937. — 16. Leydig F. Die Anuren Batrachier der deutschen Fauna. Bonn, 1877. — 17. Mc Clure Ch. F. W. On the structure of the pronephros in oedematous larvae of Anura. Anat. Rec., v. 39, no. 3, Aug. 25. 1928. — 18. Millot J. Le pigment purique chez les Vertébrés inférieurs. Th. Méd. Paris et Bull. Biol. Fr. et Belg. 1923 (zit. n. Verne). — 19. Rabl H. Integument der Anammier. Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. I B. Berlin—Wien, 1931. — 20. Remane A. in P. Schulze. Biologie der Tiere Deutschlands. *Amphibia*. Lurche. Berlin, 1923. — 21. Schmidt W. J. Über das Verhalten der verschiedenartigen Chromatophoren beim Farbwechsel des Laubfrosches. Arch. mikrosk. Anat. 93. 1920. — 22. Schmidt W. J. Beobachtungen an den roten Chromatophoren in der Haut von *Rana fusca*. Anat. H. Abt. I. 58. 1920. — 23. Schmidt W. J. Über die Xantholeukosomen von *Rana esculenta*. Z. Naturwiss. 50. Jena, 1921. — 24. Tornier G. Nachweis über das Entstehen von Albinismus, Melanismus und Neotenie bei Fröschen. Zool. Anz. 32. 1908. — 25. Udziela S. *Amphibia*. Skrzeki. in H. Hoyer. Klucz do oznaczania, zwierząt kręgowych ziem polskich. Kraków, 1910. (Polnisch). — 26. Werner F. Die Lurche, in Brehms Tierleben. 1912. — 27. Werner F. Über das Vorkommen von Unter- und Überpigmentierung bei niederen Wirbeltieren. Zool. Jahrb. 59. 1930.

---







*O rozwoju i biologii nicienia Contracaecum aduncum*  
(Rudolphi 1802). — Über die Entwicklungsgeschichte  
und Biologie des Nematoden *Contracaecum aduncum*  
(Rudolphi 1802).

Mémoire

de M. **ST. MARKOWSKI**,

présenté le 14 juin 1937, par M. M. Siedlecki m. t.

(Planches 14—15).

**Einleitung.**

In den polnischen Territorialgewässern der Ostsee ist *Contracaecum aduncum* einer der gemeineren Fischnematoden. Er parasitiert nicht nur als geschlechtsreife Form im Darmlicht des Wirtes, sondern erscheint auch als Larvalstadium, nackt oder enzystiert, in einer Reihe anderer Organe, so z. B. auf der Leber, auf dem Ovarium, in der Leibeshöhle, auf dem Mesenterium oder in den Muskeln.

Während meiner Untersuchungen an der Helminthenfauna der Fische bei der Halbinsel Hel (s. Markowski 1933, 1936), habe ich die Anwesenheit von *Contracaecum aduncum* in 17 Fischarten festgestellt, und zwar in *Clupea harengus*, *Clupea sprattus*, *Salmo salar*, *Osmerus eperlanus*, *Syngnathus typhle*, *Ammodytes lanceolatus*, *Gadus morrhua*, *Centronotus gunellus*, *Lumpenus lamprataeformis*, *Zoarces viviparus*, *Gobius minutus*, *Pleuronectes flesus*, *Pleuronectes limanda*, *Cottus scorpius*, *Cottus bubalis*, *Cottus quadricornis*, *Perca fluviatilis*. Der Hauptwirt für *Contracaecum aduncum* ist jedoch in der Ostsee *Zoarces viviparus*. Ich habe in diesem Fische nicht nur das häufigste Auftreten des in Rede stehenden Nematoden sondern auch oft eine massenhafte Infektion festgestellt, wobei die Individuen das ganze Darmlumen des Wirtstieres ausfüllten.



Es wurden 422 Exemplare von *Zoarces viviparus* untersucht, wovon 230, also 54·5% infiziert waren. Die Nematoden können im Fisch sowohl vereinzelt als auch massenweise auftreten.

Das Auftreten von *Contracaecum aduncum* in *Zoarces viviparus* beobachtete ich hauptsächlich in den Sommermonaten (Juni, Juli, August, September) und nur zum geringen Teil im Winter (Januar, Februar, März). Auf Grund der spärlichen Winterbeobachtungen bin ich zum Schluß gekommen, daß der Nematode in dieser Jahreszeit im Darm von *Zoarces viviparus* seltener und in geringerer Anzahl vorkommt. Das wichtigste aber ist, daß im Winter geschlechtsreife Individuen nicht vorkommen. Ich habe keine Weibchen mit reifen Eiern im Uterus feststellen können. Demnach ist die Eierablage eine saisonmäßige. Eine ähnliche Periodizität des Auftretens habe ich auf dem polnischen Gebiet der Ostsee bei *Cucullanus fusiformis* (Mol.) festgestellt, nämlich im Winter verschwinden die geschlechtsreifen Formen des Parasiten aus dem Darm der Flunder. Im Sommer dagegen tritt *Contracaecum aduncum* in diesem Fisch, wie gesagt, oft und in großen Mengen auf.

Die Funde von Larvalstadien in *Chaetognatha* (Lebour 1917), in marinen planktonischen Kopepoden und in einer Reihe von Meeresfischarten sind bis jetzt die einzigen bekannten Tatsachen aus der Entwicklungsgeschichte der *Contracaecum*-Gattung.

Auf Grund dieser Funde ist Wülker (1929, 1930) zu dem Schluß gekommen, den er durch seine eigenen und die Beobachtungen anderer von ihm zitierter Verfasser unterstützt, daß die Gattung *Contracaecum* zu ihrer Entwicklung zwei Zwischenwirte braucht. Der erste Wirt seien die *Chaetognatha* und die planktonischen Krepse, der zweite planktonfressende Fische, der dritte, der definitive Wirt, ein Raubfisch, welcher sich von planktonfressenden Fischarten ernährt. Zum Schluß seiner Ausführungen gibt Wülker zu, daß sie auf losen Beobachtungen aufgebaut seien und einer experimentellen Bestätigung bedürfen. Da ich über ein sehr reichhaltiges Material von reifen, Eier produzierenden Weibchen von *Contracaecum aduncum* aus dem Darm von *Zoarces viviparus* verfügte, versuchte ich die Entwicklungsgeschichte dieses Nematoden auf experimentellem Wege aufzuklären. Die Untersuchungen habe ich nebst anderen Forschungsarbeiten in den Sommermonaten 1933—36 in der Meeresversuchsstation in Hel durchgeführt. Der Leitung der Station spreche ich an dieser Stelle meinen besten Dank



aus für die freundliche Überlassung eines Arbeitsplatzes. Ich danke auch herzlichst Herrn Zdz. R a a b e, Assistent am Polnischen Zoologischen Staatsmuseum für die Ausführung der Zeichnungen zur vorliegenden Arbeit.

Die Experimente sollten über folgende Probleme Aufschluß geben:

- 1) Entwicklungszeit der Eier im natürlichen Milieu.
- 2) Einfluß des künstlichen Milieus auf die Entwicklung der Eier.
- 3) Einfluß von Temperatur und Licht auf die Entwicklung der Eier im natürlichen und künstlichen Milieu.
- 4) Feststellung und Bestimmung des ersten Zwischenwirtes, welcher in den polnischen Küstengewässern der Ostsee die Larven dieses Parasiten überträgt.

## I. Experimenteller Teil.

### Eierkulturen.

Anfänglich bediente ich mich folgender Methode um größere Anzahl von Eiern für Kulturen zu erhalten: unter der Lupe präparierte ich den Uterus von Weibchen aus, zerriß dessen Gewebe und schüttete die in ihm enthaltenen Eier ins Meereswasser. Diese übrigens recht mühsame Methode erwies sich als unzweckmäßig, da ich dabei nicht verhindern konnte, daß die Kultur durch Leibeshöhlenflüssigkeit, Gewebereste und Darminhalt verunreinigt wurde, vor allem aber durch riesige Mengen unausgebildeter oder unbefruchteter Eier, welche sich weder durch Spülung noch durch öfteren Wasserwechsel beseitigen ließen. Der unvermeidliche hohe Prozentsatz entwicklungsunfähiger, faulender Eier in der Kultur begünstigte eine reiche Bakterien-, Algen- und Pilzflora, welche die Eierzucht in negativer Weise beeinflusste. Diese Kulturen lieferten relativ wenig entwickelte Eier, viel zu wenig, um damit die von mir beabsichtigten Experimente durchzuführen.

Dagegen erwies sich die zweite von mir angewandte Methode als sehr praktisch. Sie bestand darin, daß die Weibchen von *Contraecum aduncum* in filtriertem Meerwasser genau ausgespült und danach in ein Gefäß mit Meerwasser übertragen wurden. Nach Verlauf von einigen Stunden erhielt ich mehr oder minder große Mengen von Eiern, je nach der Zahl der Weibchen, die ich im Gefäß hielt. Wenn der abgelegten Eier bereits so viele



waren, daß sie den Boden des Gefäßes mit einem weiblichen Anflug bedeckten, trug ich die Weibchen in ein anderes Gefäß über, wo sich derselbe Vorgang wiederholte.

Auf diese Weise lieferten mir zehn bis zwanzig Weibchen enorme Mengen von Eiern für die zu meinen Experimenten nötigen Kulturen. Ich verdankte dies der großen Widerstandsfähigkeit der Nematodenweibchen, welche ungefähr eine Woche im Meereswasser leben konnten, falls dieses oft gewechselt wurde.

Die Eikulturen züchtete ich in runden Gefäßen, welche ungefähr 25 cm<sup>3</sup> Flüssigkeit enthielten und mit Glasplättchen zugedeckt waren. Jeden Tag wechselte ich das Wasser in den Gefäßen, wobei ich mich einer Meßpipette bediente, um stets gleiche Wassermengen abzumessen. Nachdem ich frisches Wasser eingegossen hatte, mischte ich den ganzen Inhalt des Gefäßes genau durch, um ein Anhaften der Eier an den Boden zu vermeiden. Am Boden des Gefäßes setzen sich Bakterien an, die leicht die Eier ans Glas ankleben könnten. Ein solches »Ankleben« der Eier erschwert ein bequemes Verfahren z. B. beim Übergießen der Kultur von einem Gefäß ins andere.

### Morphologie und Entwicklung des Eies.

Die Weibchen von *Contraecaecum aduncum*, welche oft eine Länge von 7 cm erreichen, enthalten im Uterus riesige Mengen von befruchteten oder in der Entwicklung bis zum Stadium zweier Blastomeren vorgerückten Eiern. In diesem Entwicklungsstadium verlassen die Eier den Mutterorganismus durch die Vulve und gelangen eins nach dem anderen nach außen. Sie sind miteinander durch einen durchsichtigen, farblosen, klebrigen Stoff verbunden, welcher in Berührung mit Meereswasser sich von den Eiern ablöst und in Gestalt von winzigen Tröpfchen auf den Boden des Gefäßes sinkt. Die von ihm befreiten Eier zerstreuen sich im ganzen Gefäß. Bemerkenswert ist, daß die Eierablage serienweise verläuft. Ein gewisses Quantum von Eiern, ungefähr 10 bis 20, verlassen die Vulve nacheinander auf die oben geschilderte Weise. Dann tritt eine Ruhepause ein, wonach das Weibchen wieder dieselbe Anzahl von Eiern legt. Dieses Wechselspiel von Eierablage und Ruhepausen geht ständig vor sich. Allerdings wurden diese Beobachtungen im Laboratorium durchgeführt, sie beziehen sich auf Objekte, die in abnormalen Bedingungen, nämlich im Meerwasser und am



Licht Eier abgelegt haben. Ob sich die Eierablage in normalen Bedingungen, d. h. im Darmlumen des Wirtstieres ebenso gestaltet, darüber kann schwerlich etwas gesagt werden.

Das Ei (Taf. 14, Fig. 1—11) variiert in seiner Gestalt, von einer fast kugelförmigen bis zur ovalen Form. Im allgemeinen überwiegt bei der Mehrzahl eine unregelmäßig kugelförmige Gestalt. Die Größe des Eies beträgt:  $50-54 \mu \times 68-72 \mu$ . Die ziemlich dünne (ca  $2 \mu$ ) und durchsichtige Schale erinnert an eine Gelatinkapsel. Unter ihr befindet sich eine gleichfalls dünne und durchsichtige Membran. Die Oberfläche der Schale ist glatt im Gegensatz zu jener bei Eiern anderer Ascaroideen, auf welchen verschiedene charakteristische Skulpturen auftreten. Die Eizelle mißt ca  $31 \times 44 \mu$ . Das befruchtete Ei weist eine dunkelbraune Färbung auf. Eine gleiche Färbung besitzen die Blastomeren der im Entwicklungsgang vorgerückten Eier und auch der Embryo vor der vollständigen Ausbildung. Eine Aufhellung der dunkelbraunen Farbe der Blastomeren habe ich nur an den Stellen bemerkt, wo die Zellenkerne gelegen sind. Dies ist im Stadium von 2—4 Blastomeren besonders deutlich sichtbar (Taf. 14, Fig. 2 u. 3).

Auf der Oberfläche des Eies, unter der Schale, unterscheidet man eine knopfartige ovale  $3-5 \mu$  messende Verdickung (Taf. 14, Fig. 1 a). Ein ähnliches Gebilde wurde bereits von Ackert (1931) bei *Ascaridia lineata* (Schneider) festgestellt. Die von mir festgestellte Verdickung wird während der ganzen embryonalen Entwicklung des Eies beobachtet.

Die Entwicklung des Eies von *Contraecum aduncum* habe ich an 12 Kulturen untersucht. Als Resultat meiner Beobachtungen konnte ich feststellen, daß sich das Ei des in Rede stehenden Nematoden im Meereswasser mit  $7\text{‰}$  Salzgehalt und bei  $20^{\circ}\text{C}$  im Laufe von 2—4 Tagen, durchschnittlich aber in 3 Tagen entwickelt. Nachstehende Tabelle I enthält die Protokolle aller 12 Kulturen.

In der dreitägigen Periode, während welcher die vollständige Entwicklung des Eies zustande kommt, können 3 charakteristische Phasen festgestellt werden. Das am Anfang der Kultur höchstens bis zum Stadium zweier Blastomeren entwickelte Ei erreicht während des ersten Tages das Stadium der aus winzigen Blastomeren gebauten Morula (Taf. 14, Fig. 5, 6). Während der nächsten 24 Stunden beginnt sich die Gestalt der Morula zu ändern. In der Mitte des Embryos bildet sich auf einer Seite eine Einbuchtung, welche ihm



TABELLE I.

Entwicklungszeit der Eier von *Contracaecum aduncum* im Meereswasser mit 7‰ Salzgehalt.

Nummer der Kultur	Datum	Entwicklungszeit der Eier. Tage	Durchschnittliche Temperatur in ° C.	Bemerkungen
1	21—25 VII 1933	4	20	6 ausgeschlüpfte Embryonen in der Kultur
2	12—15 VII 1935	3	„	—
3	5— 8 VII 1936	3	„	—
4	3— 7 VII „	4	„	—
5	8—11 VII „	3	„	—
6	6—10 VII „	4	„	—
7	21—23 VII „	2	„	—
8	22—25 VII „	3	„	—
9	25—28 VII „	3	„	—
10	26—29 VII „	3	„	—
11	27—30 VII „	3	„	—
12	29 VII—1 VIII „	3	„	—

eine Ähnlichkeit mit der Bohne verleiht (Taf. 14, Fig. 7, 8). Das entsprechende Stadium in der Entwicklung von *Ascaridia lineata* wird von Acker t »tadpole stage« — Kaulquappenstadium genannt.

In den zwei oben beschriebenen Entwicklungsphasen zeigt der Embryo eine dunkelbraune Färbung. In der dritten, während der letzten 24 Stunden erfolgenden Phase verliert sich die dunkelbraune Färbung allmählich und der Embryo nimmt eine wurmförmige Gestalt an (Taf. 14, Fig. 9—11). Am Schluß der dreitägigen Periode erblicken wir im Ei den zusammengerollten, durchsichtigen, zur Entwicklung im Zwischenwirt völlig ausgerüsteten Embryo. Wie wir uns später überzeugen werden, können die drei oben beschriebenen Phasen der Eientwicklung infolge thermischer Veränderungen verzögert werden.

#### Verlauf der embryonalen Eientwicklung im künstlichen Milieu.

Die in Tabelle I verzeichneten Experimente dienen zur Bestimmung des Zeitraums, welchen die Embryonen im normalen Milieu zu ihrer endgültigen Entwicklung benötigen, sowie zur Feststellung der charakteristischen Etappen von deren Entwicklung.



Um nun die Wirkung anderer Milieus auf die Eientwicklung zu untersuchen, habe ich vier verschiedene Experimente durchgeführt. Ich habe Eier 1) im Süßwasser, 2) in destilliertem Wasser, 3) in 4% Formalin kultiviert, 4) schließlich wurden Eier aus zwei Kulturen getrocknet und dann ins Meereswasser übertragen. Außerdem züchtete ich zwecks Kontrolle Eier im 7‰ Meereswasser also im natürlichen Milieu. In allen Kulturen herrschte durchschnittlich eine Temperatur von ca 20° C.

Die Anregung zu solchen Experimenten bot die Tatsache, daß ich 1933 im Darm eines Barsches reife Stadien von *Contracaecum aduncum* gefunden hatte. Die Feststellung des in Rede stehenden Nematoden im Darm eines Süßwasserfisches erweitert erheblich sein Verbreitungsgebiet und die Vermutung liegt nahe, daß sich die Eier dieser Parasiten auch außerhalb des Meerwassers, in einem

TABELLE II.

Verlauf der Entwicklung der Eier von *Contracaecum aduncum* im künstlichen und natürlichen Milieu.

Zahl der Experimente	Datum	Entwicklungszeit der Eier. Tage	Milieu	Durchschnittliche Temperatur in °C.	Bemerkungen
2	23—26 VII 1933	3	7‰ Meereswasser	20	Nach 14 Tagen verließ ein Teil der Embryonen die Eier. 50% ausgebildeter Embryonen.
	18—22 VIII 1933	4		20	
2	23—26 VII 1933	3	Süßwasser	20	
	18—22 VIII 1933	4			
1	18—21 VIII 1933	3	Destilliertes Wasser	20	
1	18—22 VIII 1933	0	Formalin 4%	20	Die Eier gingen zugrunde.
2	18—22 VIII 1933	0	Getrocknete und nachher ins Meereswasser übertragene Eier	20	Die Eier gingen zugrunde.



anderen Milieu entwickeln können. Da aus der Literatur verschiedene Angaben über die Widerstandsfähigkeit der Eier vieler Nematodenarten oft sogar gegen giftige Stoffe bekannt sind, wollte ich mich überzeugen, in was für einem Grade diese Eigenschaft in den Eiern von *Contracaecum aduncum* zutage tritt.

Die Ergebnisse dieser Experimente sind auf Tabelle II ersichtlich. Aus Tabelle II ist ersichtlich, daß sich die Eier von *Contracaecum aduncum* im Süßwasser und in destilliertem Wasser bei 20° C genau so entwickeln wie im 7‰ Meereswasser. Die Wirkung von Formalin war dagegen tödlich. Im Gegensatz zu den Eiern einiger anderer *Ascaroidea*, die ähnlichen Experimenten unterworfen wurden (so z. B. *Toxocara canis*, *Ascaris suum*), verloren die Eier von *Contracaecum aduncum* völlig die Fähigkeit zur Weiterentwicklung, nachdem sie mit 4‰ Formalin in Berührung gekommen waren.

Dies weist zweifellos auf einen gänzlich abweichenden Bau der Schale und der die Eizelle umgebenden Hüllen hin, welche nicht imstande sind das Eiinnere gegen die Wirkung von Formalin zu isolieren, wie dies z. B. bei den erwähnten Arten der Fall ist.

Die Kulturen, deren Eier während 4—5 Tagen getrocknet und nachher ins Meereswasser übertragen wurden, gaben negative Resultate. Die Eier wiesen eine vollständige Unfähigkeit zur Weiterentwicklung<sup>1)</sup> auf.

### **Einfluß von Temperatur und Licht auf die Entwicklungszeit des Eies.**

Bei normalem Entwicklungslauf werden die Eier von *Contracaecum aduncum* aus dem Organismus des Bodenfisches *Zoarces viviparus* ausgeschieden. Sie befinden sich also in einem Milieu, dessen Bedingungen stark von jenen der künstlich gezüchteten Kulturen abweichen. Dies betrifft vorerst die Temperatur- und Lichtverhältnisse. Die niedrigere Temperatur der Bodenschichten, sowie der schwache Zufluß von Licht beeinflussen gewiß in beträchtlicher Weise die Entwicklung der Eier von *Contracaecum aduncum*. Um diesen Einfluß zu untersuchen, versuchte ich die natürlichen Bedingungen, soweit es mir möglich war, nachzubilden.

<sup>1)</sup> Beim Wechseln des Wassers in den Kulturen kam es vor, daß ein Teil der Eier einer partiellen Austrocknung unterlag. Solche Eier sanken nicht mehr auf den Boden, nachdem frisches Wasser ins Gefäß gegossen wurde, sondern schwebten an der Oberfläche. Ihre Entwicklung verlief jedoch in völlig normaler Weise, während einer dreitägigen Periode.



Zu diesem Zweck züchtete ich drei Kulturen, je eine in destilliertem, im Süß- und Meereswasser, in einem kühlen fast ganz dunklen Raum. Nur während meiner täglichen mikroskopischen Beobachtungen wurde notwendigerweise etwas Licht eingelassen.

Die Temperatur der Umgebung schwankte zwischen 4—9° C, durchschnittlich betrug sie 6·5° C. Einen Teil der Eier kultivierte ich in einem Kontrollgefäß mit Meereswasser, bei 20° C und unter Lichteinwirkung. Den Verlauf des Experimentes illustriert Tabelle III.

TABELLE III.

Einfluß von niedriger Temperatur und Dunkelheit auf die Entwicklung der Eier von *Contracaecum aduncum* im natürlichen und künstlichen Milieu.

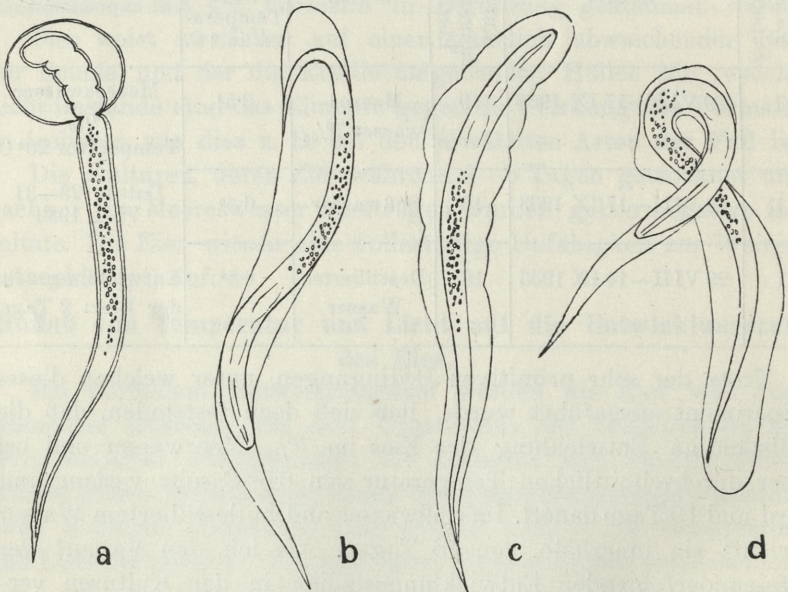
Zahl der Experimente	Datum	Entwicklungszeit der Eier, Tage	Milieu	Durchschnittliche Temperatur in ° C.	Kontroll-experiment
1	29 VIII—17 IX 1933	19	Meereswasser 7‰	6·5°	Meereswasser 7‰ Temperatur 20° C
1	29 VIII—17 IX 1933	16	Süßwasser	6·5°	Datum 29—31 VIII 1933
1	29 VIII—14 IX 1933	16	Destilliertes Wasser	6·5°	Entwicklungszeit der Eier: 2 Tage

Trotz der sehr primitiven Bedingungen, unter welchen dieses Experiment ausgeführt wurde, ließ sich doch feststellen, daß die vollständige Entwicklung des Eies im 7‰ Meerwasser und bei einer durchschnittlichen Temperatur von 6·5° C sehr verlangsamt wird und 19 Tage dauert. Im Süßwasser und in destilliertem Wasser verläuft sie innerhalb von 16 Tagen. Als ich den Verlauf der aufeinanderfolgenden Entwicklungsstadien in den Kulturen verglich, ließ sich folgendes feststellen. Die erste Entwicklungsphase vom befruchteten Ei bis zur Morula, welche bei 20° C binnen 24 Stunden verläuft, erfordert bei niedriger Temperatur (6·5° C) viel mehr Zeit. Bei dieser Temperatur entwickelt sich das befruchtete Ei durch die aufeinanderfolgenden Stadien bis zur Morula im Meereswasser während 17 Tagen, im destillierten und Süßwasser während 14 Tagen. Die weitere Entwicklung von der Morula bis zum Kaulquappenstadium »tadpole stage« dauert einen Tag, dieses



Stadium wird also vom Embryo im Meereswasser am 18. Tag und in den beiden übrigen Flüssigkeiten am 15. Tag erlangt. Schließlich fällt auf den 19. Tag im Meereswasser und den 16. im destillierten und im Süßwasser die endgültige Ausbildung des Embryos. In der Kontrollkultur (Meerwasser, 20° C, Tageslicht) dauerte die Embryonalentwicklung der Eier 2 Tage.

Die niedrige Temperatur und die Dunkelheit wirken hemmend einzig nur auf die erste Entwicklungsphase, sie verspäten den Übergang vom befruchteten Ei zur Morula. Von diesem Stadium an verlaufen die zwei nächsten Phasen in zwei aufeinander folgenden 24-stündigen Zeitabschnitten, so wie dies bei Eikulturen der Fall war, welche bei 20° C gezüchtet wurden und der Einwirkung von Licht ausgesetzt waren.



Textfig. Embryonen von *Contracaecum aduncum*:  
 a. Aus dem Ei künstlich befreiter Embryo.  
 c—d. Schematische Darstellung der Bewegungen des Embryos.

#### Der Embryo (Textfig. a, b, c, d, Taf. 15, Fig. 12—14).

Der völlig ausgebildete Embryo liegt zusammengerollt im Ei und führt unter dem Schutz der Schale rotatorische Bewegungen aus. Die Bewegungsfähigkeit erlangt der Embryo zugleich mit



der wurmartigen Gestalt, also in der dritten Entwicklungsphase. In dieser Periode sind jedoch seine Bewegungen, soweit ich bemerken konnte, sehr schwach und langsam.

Ob der Embryo aus dem Ei schlüpft, oder ob er vor dem Verlassen des Eies mitsamt der Eischale vom Zwischenwirt verschlungen wird, darüber läßt sich nichts Sicheres sagen. In meinen Kulturen habe ich nur zweimal ausgeschlüpfte Embryonen festgestellt (s. Tabelle I und II). In beiden Fällen verließen sie die Eischalen nach 14 Tagen. Trotz genauer täglicher Untersuchungen an anderen Kulturen, von denen ich einige 72 Tage lang am Leben erhielt, konnte ich kein Ausschlüpfen der Embryonen mehr feststellen. Die in den Eiern eingeschlossenen Embryonen sind gegen schädliche Einwirkungen der Umgebung zweifellos gut geschützt und können lange auf den Übergang in den Wirt warten. Die bereits erwähnten 72 Tage bilden das höchste Alter der von mir kultivierten Embryonen, sie sind aber keinesfalls die Grenze ihres Lebens. Obwohl die Eier nach Verlauf dieser Zeit mit Algen und Pilzen bewachsen waren, ergaben nähere Untersuchungen, daß die Embryonen innerhalb der Eier lebten und sich bewegten. Wie lange die Embryonen in den Eikulturen zu leben vermögen, habe ich nicht nachgeprüft.

Unter leichtem Druck des Deckglases platzen die Schalen der auf dem Objektträger liegenden Eier, und die Embryonen gelangen nach außen. Soweit ich beobachtete, kommen sie immer mit dem hinteren Körperende heraus, gleichwohl wenn sie aus dem Ei künstlich herausbefördert werden, oder es selbständig verlassen (Textabb. a). In beiden Fällen ist der aus der Eischale befreite Embryo von einer zarten, fein quergestreiften, durchsichtigen, chitinoidalen Hülle umgeben, welche zweifellos die erste Häutung des Nematoden ist. Anfänglich liegt die Häutung dem Körper des Embryos ziemlich straff an (Textfig. a, Taf. 15, Fig. 12), allmählich aber lockert sie sich, wahrscheinlich infolge der kräftigen Bewegungen des Embryos (Textfig. b, c, d, Taf. 15, Fig. 13). Es ist nicht ausgeschlossen, daß hier auch die mit dem Übergang ins Meereswasser verbundene Veränderung des osmotischen Druckes nicht ohne Bedeutung ist. Die Länge der Häutung beträgt ca 357  $\mu$ , die Breite ca 33  $\mu$ . Obwohl der Embryo imstande ist innerhalb der Häutung heftige Bewegungen auszuführen, so ist es ihm doch unmöglich sich vorwärts zu bewegen, im Gegensatz zu den jugend-



lichen Formen anderer Nematodenarten. Innerhalb der Häutung windet und dreht er sich um  $180^{\circ}$  (Textfig. b, c, d, Taf. 15, Fig. 12), was den Eindruck macht, daß er sich von ihr befreien will. Ich habe aber nie bemerkt, daß er sich von ihr befreit, nicht einmal nachdem er 3—4 Tage im Meereswasser gelebt hat. Nach Verlauf von dieser Zeit gehen die aus den Eiern befreiten Embryonen zu Grunde. Die Häutung schützt wahrscheinlich den Embryo gegen die schädliche Wirkung der Umgebung, da sie, wie ich feststellen konnte, schwach durchlässig ist.

Die Proben, die ich unternommen habe, um Vitalfärbungen mit Neutralrot und Metylenblau zu erzielen, blieben erfolglos. Es gelang mir nicht den Embryo zu färben. Dies dürfte wohl dafür zeugen, daß er von dem ihn umgebenden Milieu isoliert ist.

Der aus dem Ei befreite Embryo mißt in der Länge  $227-330\mu$ , in der Breite  $15\mu$ .

Die Oberfläche der Kutikula ist glatt. Das vordere Körperende ist mit einem larvalen Bohrzahn bewaffnet, welcher uns von einer Reihe anderer larvaler Nematoden bekannt ist (Taf. 15, Fig. 14).

Jegliche Differenzierungen des Mundapparates, wie z. B. Lippen oder Papillen fehlen. Das hintere Körperende ist verjüngt und am Ende zugespitzt.

Der Verdauungskanal ist relativ gut ausgebildet. Sein vorderer, dem Oesophagus entsprechender Teil ist durchsichtig und schwach sichtbar. Die für die Gattung *Contracecum* so charakteristischen Blindsäcke fehlen noch gänzlich. Der kaum angedeutete *Bulbus oesophagealis* bildet hier die einzige Differenzierung. Der weitere Teil des Verdauungskanals ist gut entwickelt und dank seiner dunklen Färbung deutlich sichtbar. Diese letztere stammt von den zahlreichen Granulationen, welche das Darmlumen ausfüllen. Der Darm mündet in den ziemlich schwach sichtbaren, subterminal gelegenen After.

Die Länge des Oesophagus beträgt ca  $90\mu$ , die Länge des Darmes ca  $220\mu$ , die Entfernung des Afters vom hinteren Körperende ca  $20\mu$ .

In der vorderen Körpergegend läßt sich der Nervenring aussondern, welcher in einer Entfernung von  $44\mu$  vom vorderen Körperende liegt.



**Experimentelle Infektion der Planktonkrebse.**

Die Kopepodenarten, in welchen bis jetzt das Auftreten der Larven *Contracecum* festgestellt wurde, fehlen in den polnischen Territorialgewässern der Ostsee. Selten und schwer wird die *Sagitta* gefangen, in der ebenfalls diese Larven gefunden wurden. Als ich mit meinen Experimenten begann, mußte ich mich auf das mir zugängliche Material beschränken. Ich benutzte zur Infektion Planktonproben, die hauptsächlich Kopepoden enthielten. Sie wurden während 2—4 Tagen in einem gelüfteten Aquarium aufbewahrt und ausgehungert. Die Krustazeen drängten sich gewöhnlich an einer Wand des Aquariums dicht zusammen, immer möglichst weit von der Mündung des luftzuführenden Apparates. Indem ich diesen Umstand ausnützte, konnte ich sie leicht in ein Glasröhrchen einfangen und in ein kleineres Gefäß übertragen. In einen solchen Behälter mit Krustazeen goß ich große Mengen von Eiern, die aus den Kulturen gewonnen wurden. Die Eier enthielten meistens schon ausgebildete, wurmartige Embryonen, oder sie waren zumindest in der Entwicklung stark vorgeschritten. Der Verlauf der Infektionsexperimente ist auf Tabelle IV dargestellt.

TABELLE IV.  
Experimentelle Infizierung der Planktonkrebse.

Nummer des Experimentes	Stundenzahl vom Eingießen der Eier bis zur Untersuchung der Kopepoden	Zahl der untersuchten Kopepoden	Zahl der infizierten Kopepoden	%	Wirtstier	Bemerkungen
1	8	10	1	10	<i>Acartia bifidosa</i> <sup>1)</sup>	1 Larve in der Leibeshöhle
2	24	20	?			Eier im Verdauungskanal von <i>Eurytemora affinis</i>
3	32	10	3	30	<i>Eurytemora affinis</i> <sup>1)</sup>	Bei 2 Kopepoden je 2 Larven, beim dritten 1 Larve in der Leibeshöhle
4	72	20	2	10		Vereinzelte Larven in der Leibeshöhle

<sup>1)</sup> Herrn Mgr. Wł. Mańkowski, dem wissenschaftlichen Mitarbeiter der Meeresversuchsstation in Hel danke ich an dieser Stelle für die Bestimmung der beiden Kopepodenarten.



Wie aus obiger Tabelle ersichtlich ist, habe ich 4 Infektionsexperimente ausgeführt. Aus jeder zum Experiment verwandten Kopepodenprobe untersuchte ich zwecks Kontrolle vorher einen Teil der Krustazeen, sie erwiesen sich jedoch alle als nematodenfrei.

Nachdem die Eier aus den Kulturen in das Gefäß mit den Kopepoden eingegossen wurden, untersuchte ich 8 Stunden später den ersten Teil der infizierten Krustazeen. Von 10 untersuchten Exemplaren war eines infiziert. Ich habe nämlich bei einer *Acartia biflosa* Giesbrecht in der Leibeshöhle eine bewegliche Larve festgestellt.

Im zweiten Experiment wurden die Krustazeen nach 24 Stunden untersucht. Diesmal fand ich im Darm von *Eurytemora affinis* Poppe Eier, welche Embryonen enthielten sowie bis zum Stadium der Morula vorgerückte Eier.

In den zwei nächsten Experimenten untersuchte ich die Krustazeen erst 32 und 72 Stunden, nachdem die Eier ins Aquarium gegossen wurden. Im ersten Experiment wurden 3, im zweiten 2 Infektionsfälle festgestellt, alle bei *Eurytemora affinis*. Die Zahl der Larven in der Leibeshöhle des Wirtstieres betrug 1—2 Individuen.

Wie aus obigem ersichtlich ist, gaben drei von den vier ausgeführten Infektionsexperimenten ein positives Resultat in Gestalt von Larven in der Leibeshöhle der infizierten Kopepoden. Ich muß hier betonen, daß ich Eier von *Contracecum aduncum* im Darmlicht der Kopepoden nicht nur in dem negativen Experiment, sondern auch in den drei positiven Experimenten festgestellt habe. Eine genaue Besichtigung des Darminhaltes ergab, daß die definitiv nicht ausgebildeten Embryonen der Verdauung unterliegen, dagegen werden die Eischalen und die völlig ausgebildeten Embryonen nicht verdaut. Demnach dürfte man annehmen, daß das vom Kopepoden verschlungene Ei unter der Einwirkung des Verdauungskanales platzt, der Embryo befreit wird, dieser die Darmwand durchbohrt und in die Leibeshöhle des Wirtstieres eindringt. Die Eischale wird im Kot ausgeschieden.

Die in Tabelle IV angegebenen Stunden, nach deren Verlauf ich die infizierten Krustazeen seziiert habe, dürfen keineswegs als das Alter der Larven aus der Leibeshöhle aufgefaßt werden. Sie bezeichnen lediglich die Zeit, welche vom Augenblick, wo ich die Eikulturen ins Gefäß mit den Krustazeen gegossen habe, bis zur



Sektion der letzteren verflossen ist. Es gelang mir nicht den Augenblick zu ergreifen, wo der Kopepode das Ei verschlang. Nachdem ich die Eier ins Gefäß gegossen hatte, beobachtete ich zwar die Bewegungen der Kopepoden, die den Eindruck machten, als ob sie auf der Jagd nach den zerstreuten Eiern wären, aber ebenso gut konnte ihr Verhalten durch andere Faktoren verursacht werden.

Infolge Mangels an entsprechenden Einrichtungen gelang es mir nicht die Kopepoden länger als über 72 Stunden am Leben zu erhalten. Nach Verlauf von dieser Zeit sanken sie auf den Boden und die meisten gingen schon während 48 Stunden zu Grunde. Bei einigen toten Kopepoden habe ich in der Leibeshöhle ebenfalls die Anwesenheit von Larven *Contracaecum aduncum* festgestellt.

Weder *Acartia bifilosa* noch *Eurytemora affinis* waren bis jetzt als Wirte von *Contracaecum aduncum* bekannt. Auf Grund der Angaben, welche Wülker und die von ihm zitierten Autoren veröffentlichten, darf man ohne Zweifel annehmen, daß auch manche andere Art wirbelloser Seetiere den ersten Wirt für *Contracaecum aduncum* bilden kann. Die Tatsache, daß die Larven *Contracaecum* in der Leibeshöhle von *Crustacea* (*Copepoda*) und *Chaetognatha* (*Sagitta*) gefunden wurden, scheint auf das Vorhandensein solcher Möglichkeiten zu weisen. Sie zeugt ebenfalls für die geringe Spezifikation in der Wahl des Zwischenwirtes seitens der zur Gattung *Contracaecum* gehörenden Nematoden, welche imstande sind, sich in dem stark abweichenden physiologischen Milieu verschiedener Tiere zu entwickeln.

#### Die Larve (Taf. 15, Fig. 15).

Die auf experimentellem Wege erhaltenen Larven aus der Leibeshöhle von *Acartia bifilosa* und *Eurytemora affinis* weichen sehr wenig von den aus Eiern befreiten Embryonen ab. Den wesentlichsten Unterschied bildet in diesem Stadium der Mangel der Häutung, welche für alle aus Eiern befreiten Embryonen so kennzeichnend ist. Sie wird zweifellos im Darm des Zwischenwirtes abgeworfen. Der nächste Unterschied liegt in den Körperausmaßen, welche die folgenden sind: Länge 340—548  $\mu$  (beim Embryo 227—330  $\mu$ ); Breite 20—28  $\mu$  (beim Embryo 15  $\mu$ ). Im vorderen Körperende tritt bei der Larve aus der Leibeshöhle der Kopepoden ebenfalls ein larvaler Bohrzahn auf, welcher dem Tiere beim Durch-



dringen der Gewebe des Wirtes behilflich ist. Die regsame Larve wandert im ganzen Körper des Wirtstieres herum. Wenn sie dabei auf Hindernisse in Gestalt von Organen oder Geweben stößt, schiebt sie sie mit Hilfe des Bohrzahnes auseinander und zwängt sich mit kräftigen schlängelnden Körperbewegungen durch.

Die Larven sind gegen Fäulnisvorgänge widerstandsfähig. Ich habe sie einige Male in der Leibeshöhle toter Krustazeen gefunden. Trotz der ziemlich vorgerückten Zersetzung des Wirtstieres waren sie sehr rege. Nach der Zersetzung des Wirtes sind die Nematoden instande noch eine Zeitlang im Wasser zu leben.

Der Verdauungskanal ist ähnlich demjenigen des Embryos, im vorderen, dem Oesophagus entsprechenden Teil durchsichtig und daher schwer kenntlich. Der hintere Teil dagegen, welchem, wie beim Embryo, die ihn ausfüllenden Granulationen eine dunkle Färbung verleihen, ist auch hier gut sichtbar. Auch hier fehlen jegliche Differenzierungen des Verdauungskanals in Gestalt von Blindsäcken. Weder Lippen noch ihre Anlagen sind vorhanden. Der subterminal gelegene After ist ca 65  $\mu$  vom verjüngten, zugespitzten hinteren Körperende entfernt. Der unter der glatten Kutikula deutlich sichtbare Nervenring befindet sich in einer Entfernung von 49  $\mu$  vom vorderen Körperende.

Diese verhältnismäßig so unbedeutenden Unterschiede zwischen dem Embryo und der Larve aus der Leibeshöhle weisen offensichtlich darauf hin, daß zwischen den beiden ein geringer Altersunterschied ist. Mit anderen Worten, vom Augenblick, wo der Embryo in die Leibeshöhle eindrang, bis zum Augenblick der Untersuchung ist wenig Zeit verflossen, zu wenig, auf daß sich im anatomischen Bau wesentliche Unterschiede ausprägen könnten. Sowohl der Embryo als auch die Larve aus der Leibeshöhle, welche beide ich auf experimentellem Wege erhalten habe, sind zweifellos die jüngsten bekannten Gestalten von *Contracaecum aduncum* und überhaupt der Gattung *Contracaecum*. Die von Wülker und anderen Forschern im marinen Plankton gefundenen Larven waren in der Entwicklung mehr vorgeschritten und viel größer. Sie erreichten eine Länge von 3—17 mm und in ihrem Verdauungskanal waren die für die Gattung *Contracaecum* so charakteristischen Blindsäcke schon ausgezeichnet ausgebildet. Überdies konnten in der vorderen Körpergegend bereits die Anlagen dreier Lippen unterschieden werden. Die oben angeführten Angaben sprechen



zweifellos dafür, daß diese Larven viel älter waren als die meinen. Leider ließ sich ihre Artsangehörigkeit angesichts der allgemeinen Ähnlichkeit zwischen den jugendlichen Nematoden nicht feststellen.

### Probleme der Weiterentwicklung.

Das positive Resultat meiner Experimente, welche ich zwecks Bestimmung des ersten Zwischenwirtes für *Contracaecum aduncum* angestellt habe, bestätigt den ersten Teil von Wülkers Hypothese. Der zweite Teil seiner Vermutungen würde dann eine experimentelle Bestätigung erhalten, wenn es gelingen könnte, einen planktonfressenden Fisch und danach einen Raubfisch mit dem in Rede stehenden Schmarotzer zu infizieren. Bei einem solchen Experiment müßten gänzlich parasitenfreie Objekte verwendet werden, und es ist äußerst schwierig solche zu erhalten.

Seit einigen Jahren untersuche ich die Helminthenfauna der Tiere, welche die polnischen Küstengewässer der Ostsee bewohnen und hatte vielfach Gelegenheit festzustellen, daß ein hoher Prozentsatz der Fische mit *Contracaecum* behaftet ist, nämlich entweder mit den geschlechtsreifen Darmformen oder mit den in verschiedenen Organen des Wirtsorganismus verteilten Larven.

Ich habe die von mir gefundenen Larven, sowie die geschlechtsreifen Formen als *Contracaecum aduncum* bezeichnet. Bis jetzt gelang es mir nicht in den Fischen des untersuchten Gebietes andere Arten der Gattung *Contracaecum* festzustellen.

Wie ich bereits in der Einleitung erwähnt habe, ist *Zoarces viviparus* der typische Endwirt für *Contracaecum aduncum*. Diese Fischart kann jedoch auch die Rolle des zweiten Zwischenwirtes spielen, da ich in ihr Larven *Contracaecum* angetroffen habe, welche in den Darm durch die Darmwand von der Leibeshöhle aus eindringen. Nach Wülker können den zweiten Zwischenwirt ausschließlich planktonfressende Fischarten bilden, in denen ich auch in Wanderung begriffene Larven festgestellt habe (z. B. in *Clupea sprattus* und *Osmerus eperlanus*).

Diese wandernden Larven habe ich in einer anderen Arbeit beschrieben (1933). Die in der Migrationsperiode sich befindenden Larven *Contracaecum* werden von außen durch eine straff anliegende Häutung geschützt und besitzen ebenfalls einen larvalen Bohrzahn, ähnlich wie die oben beschriebenen Embryonen und Larven aus der Leibeshöhle der Kopepoden.



Vor kurzem hat sich Stefański (1936) mit der Morphologie der *Contracaecum*-Larven befaßt und bei manchen Individuen ganz gut ausgebildete Geschlechtsorgane festgestellt. Die Wanderungen der *Contracaecum*-Larven im Bereiche des Fischorganismus sind leicht verständlich, da jene Larven zu den *Ascaroidea* gehören, bei welchen Entwicklungswanderungen oft festgestellt wurden. Die Larve von *Ascaris lumbricoides* wandert in einer bestimmten Wirtstierart und durch bestimmte Organe. Bei *Contracaecum aduncum* scheint sich dies anders zuzutragen. Die Larven sind in ihren Wanderungen anscheinend weder auf einen bestimmten Wirt noch auf bestimmte Organe angewiesen.

Gestützt auf die Tatsache, daß in Migration begriffene *Contracaecum*-Larven sowohl in planktonfressenden Fischen als auch in Raubfischen gefunden wurden, bin ich geneigt anzunehmen, daß sich das Problem des zweiten Zwischenwirtes anders gestaltet als dies Wülker vermutete.

Meiner Ansicht nach wäre es nicht zu erwarten, daß in der Entwicklung von *Contracaecum* den zweiten Zwischenwirt eine bestimmte planktonfressende Fischart bildet, in welcher die mit dem Planktontier verschlungene Larve einer Umwandlung unterliegen würde, um in diesem Zustand, ähnlich wie der Plerocercoid auf den Endwirt zu warten.

Wenn wir nach der geringen Ausschließlichkeit der *Contracaecum*-Embryonen bezüglich des ersten Zwischenwirtes urteilen, so können wir annehmen, daß sich diese Eigenschaft im Verhältnis zum zweiten Zwischenwirt noch steigern wird. Die Embryonen können sich sowohl in den *Crustacea* als auch in den *Chaetognatha* entwickeln. Es ist möglich, daß die Larve, welche aus der Leibeshöhle dieser Organismen stammt, noch größere Entwicklungsmöglichkeiten hat, und wahrscheinlich können den zweiten Zwischenwirt viele Arten planktonfressender Fische sowie Raubfische bilden, welche ein infiziertes Planktontier oder einen Fisch verschlingen, in dessen Darm sich ein infizierter Plankton befindet. Sowohl in planktonfressenden Fischen als auch in Raubfischen durchbohrt die Larve die Darmwand und gelangt in den Blutumlauf. Dort beginnt sie in dem Wirtsorganismus umher zu wandern, wächst und erreicht einen gewissen Grad der Geschlechtsreife. Erst in diesem Entwicklungsstadium ist der Nematode bereit sich im Darmlicht des Endwirtes, eines Raubfisches, anzusetzen. Auf diese Weise



kann ein und derselbe Raubfisch larvale, in Migration begriffene Stadien in der Leibeshöhle, Leber und den Muskeln enthalten und zugleich reife Formen im Darmlicht beherbergen. Obwohl ich, wie gesagt, in *Zoarces viviparus* Larven beobachtet habe, die von der Leibeshöhle in den Darm eindringen, vermute ich, daß *Contracaecum aduncum* nicht in ein und demselben Raubfisch sich aus der Larve in den endgültig reifen Nematoden umwandeln kann. Falls den zweiten Zwischenwirt ein Raubfisch bildet, so muß dieser, meiner Ansicht nach, von einem anderen Raubfisch verschlungen werden, welcher dann der Endwirt für *Contracaecum aduncum* ist. Dort wirft der Nematode die Häutung ab, verliert den larvalen Bohrzahn, erreicht seine endgültige Größe und produziert nach Befruchtung Eier. Von dieser Zeit an verläßt er schon nie mehr das Darmlicht seines Wirtes, ausgenommen, wenn dieser zugrundegeht oder in ungünstige Bedingungen gerät. Bei toten oder in Aquarien gehaltenen Fischen habe ich sehr oft eine solche Flucht der Parasiten durch den After oder Mundapparat beobachtet.

#### Zusammenfassung.

Aus den oben beschriebenen Angaben ergibt sich folgendes:

1) Auf dem Gebiet der polnischen Territorialgewässer der Ostsee tritt *Contracaecum aduncum* massenhaft in *Zoarces viviparus* und in kleinerer Anzahl bei einer Reihe anderer Fischarten auf.

2) Die vollständige Entwicklung des Eies von *Contracaecum aduncum* verläuft im Meerwasser mit 7‰ Salzgehalt, im Süßwasser und in destilliertem Wasser, bei einer mittleren Temperatur von 20° C binnen 3 Tagen.

3) Die mittlere Temperatur von 6.5° C und Dunkelheit verlangsamen das Tempo der Eientwicklung in den oben erwähnten Medien bis zu 16—19 Tagen.

4) Tödlich wirken auf die Entwicklung der Eier: 4‰ Formalin und das Austrocknen der Eier.

5) Im Ei entwickelt sich der Embryo, welcher mit einem larvalen Bohrzahn bewaffnet ist. Der aus dem Ei befreite Embryo ist von einer durchsichtigen Häutung umgeben. Das Problem des Ausschlüpfens der Embryonen ist von mir nicht endgültig gelöst worden. Meinen Beobachtungen zufolge kann der Embryo im Ei über 72 Tage lang leben.



6) Das den Embryo enthaltende Ei von *Contracaecum aduncum* wird von den Planktonkrebsechen *Eurytemora affinis* und *Acartia bifilosa* verschlungen, welche die ersten Zwischenwirte sind. Im Darm dieser Krustaceen befreit sich der Embryo aus dem Ei, durchbohrt die Darmwand und gelangt in die Leibeshöhle. Das Ei, welches einen nicht ausgebildeten Embryo enthält, wird verdaut, nur die Eischale und der völlig ausgebildete Embryo unterliegt keiner Verdauung.

7) Es ist zu vermuten, daß den zweiten Zwischenwirt wahrscheinlich nicht eine bestimmte Art, sondern mehrere Arten planktonfressender Fische bilden können. Auch Raubfische können den zweiten Zwischenwirt für diesen Nematoden bilden, wenn sie den infizierten Plankton oder Fische, welche einen solchen Plankton enthalten, verschlingen.

8) Die Larve wandert im Bereich des Fischorganismus umher, wächst und erreicht einen gewissen Grad von Geschlechtsreife. In dieser Periode wird sie von dem Endwirt, einem Raubfisch, verschlungen, unterliegt in dessen Darmlicht der letzten Häutung, verliert den larvalen Bohrzahn und produziert Geschlechtselemente.

Aus dem Zoologischen Institut der Józef Piłsudski-Universität in Warszawa und der Meeresversuchsstation Hel.

### Literaturverzeichnis.

- 1) Ackert J. E. 1931: The morphology and life history of the fowl nematode *Ascaridia lineata* (Schneider). Parasitology, vol. 23, N. 3. — 2) Lebour M. V. 1917: Some parasites of *Sagitta bipunctata*. Journ. Mar. Biol. Assoc. vol. 11, N. 2. — 3) Markowski St. 1933: Die Eingeweidewürmer der Fische des polnischen Balticums. Archiw. Hydrob. i Ryb. vol. 7. — 4) Markowski St. 1935: Über die parasitischen Würmer von *Gobius minutus* (Pall.). Bull. de l'Acad. Polon. d. Sc. et d. Lettres. Série B: Sc. Nat. (II). — 5) Stefański W. 1936: Sur les Nématodes parasites des Vives (*Trachinus draco*) et des Baudroies (*Lophius piscatorius*). Bull. d. Station Biol. d'Arcachon. vol. 33. — 6) Wülker G. 1929: Der Wirtwechsel der parasitischen Nematoden. Verh. d. zoolog. Gesellsch. Zoolog. Anz. Suppl. 4. — 7) Wülker G. 1930: Über Nematoden aus Nordseetieren. II. Zoolog. Anz. Bd. 88. Heft 1/4.



**Tafelerklärung <sup>1)</sup>.**

Tafel 14.

Fig. 1—11. Entwicklungsstadien der Eier von *Contraecum aduncum*.  
Vergr. ca 500 X.

Fig. 1 a. Differenzierung der Eischale. Vergr. 1000 X.

Fig. 1—5. Entwicklung des Eies während des ersten Tages.

Fig. 6—8. " " " " " zweiten Tages.

Fig. 9—11. " " " " " dritten Tages.

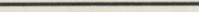
Taf. 15.

Fig. 12—13. Aus dem Ei befreiter Embryo. Vergr. ca 500 X.

Fig. 14. Vorderes Körperende des Embryos mit dem larvalen Bohrzahn  
bewaffnet. Vergr. ca 1000 X.

Fig. 15. Larve aus der Leibeshöhle von *Acartia bifilosa*. Vergr. ca 500 X.  
Zdz. Raabe del.

<sup>1)</sup> Die Zeichnungen und Messungen wurden teils an lebendem, teils an  
einem in 2% Formalin fixierten Material ausgeführt.





Tafel II  
 Fig. 1-11. Mikroskopische Abbildungen des menschlichen Blutes. Vergr. ca. 1000X.  
 Fig. 1. Erythrocyt.  
 Fig. 2-11. Leukozyten (Eosinophil, Basophil, Lymphozyt, Monocyty).

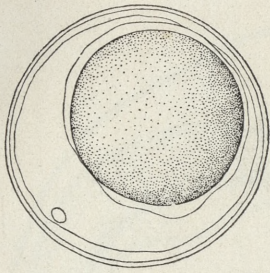
Fig. 12-14. Blutkörperchen des Menschen. Vergr. ca. 1000X.  
 Fig. 12. Erythrocyt.  
 Fig. 13. Leukozyt (Lymphozyt).  
 Fig. 14. Thrombozyt.

Die Abbildungen sind in der Reihenfolge angeordnet, wie sie in der Natur vorkommen. Die Abbildungen sind in der Reihenfolge angeordnet, wie sie in der Natur vorkommen. Die Abbildungen sind in der Reihenfolge angeordnet, wie sie in der Natur vorkommen.

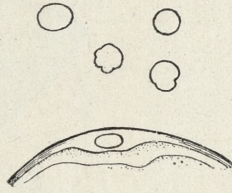
### Blutbestandteile

Das Blut besteht aus Wasser, Eiweiß, Salzen, Zuckern, Säuren, Alkalien, Vitaminen, Mineralstoffen, Hormonen, Enzymen, Antikörpern, Bakterien, Pilzen, Parasiten, Krebszellen, etc.

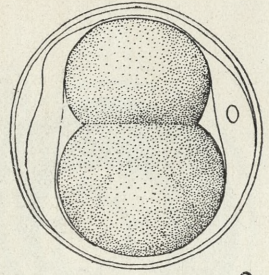




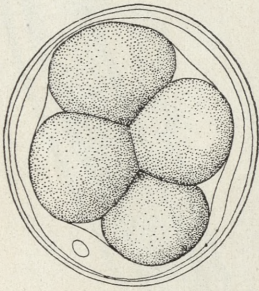
1



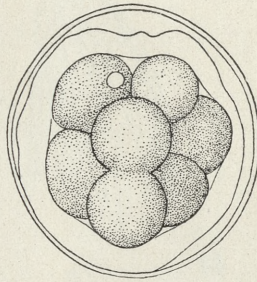
1a



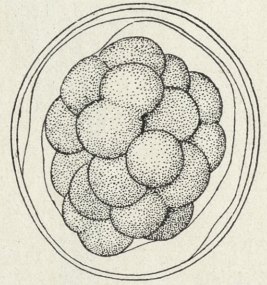
2



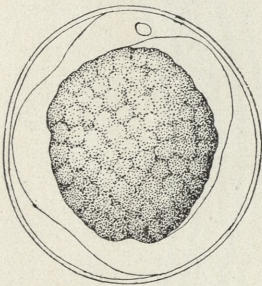
3



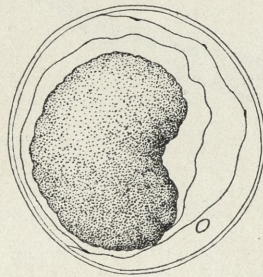
4



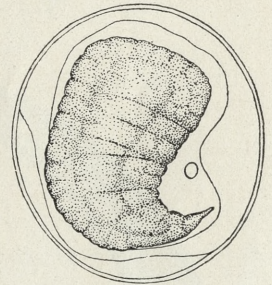
5



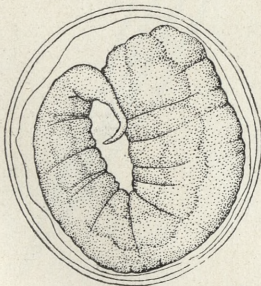
6



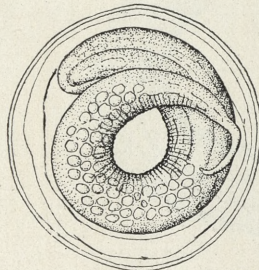
7



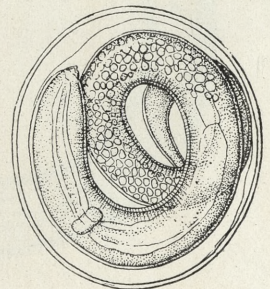
8



9



10

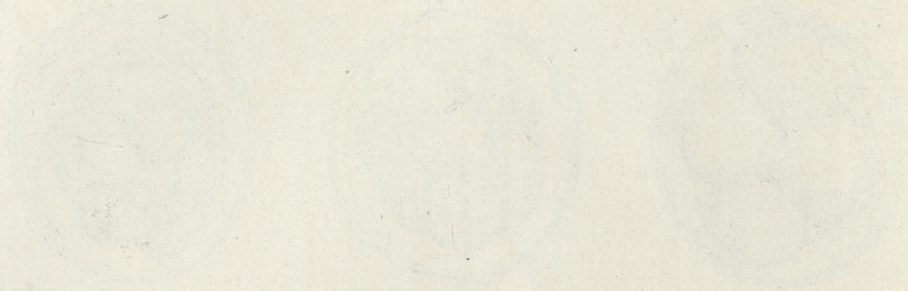
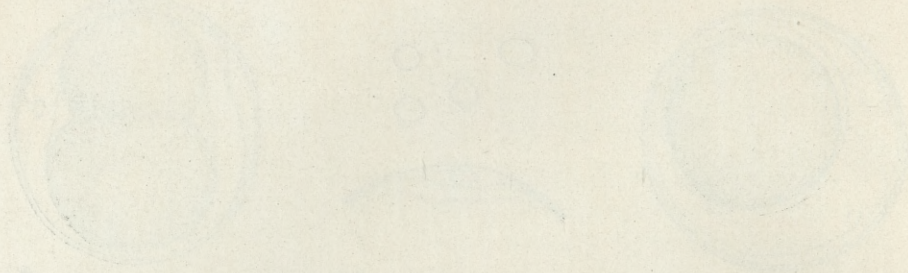


11

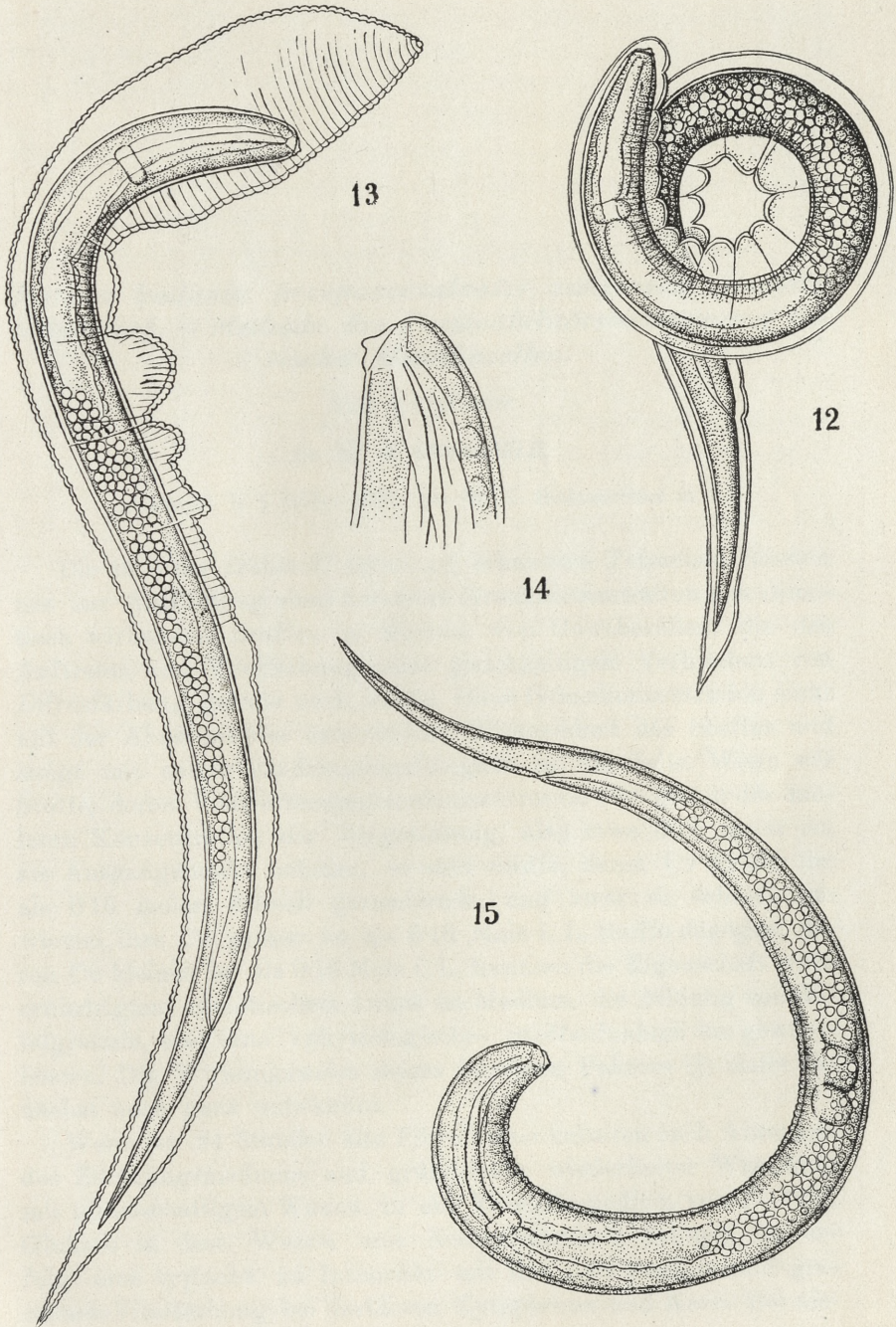
St. Markowski.

Zdz. Raabe del.









St. Markowski.

Zdz. Raabe del.







*Metoda badania przepuszczalności zwierzęcej komórki tkankowej. — Methode der Permeabilitätsbestimmung tierischer Gewebezellen.*

Note préliminaire

de M. H. GROSSFELD,

présentée le 1 juillet 1937, par M. K. Białaszewicz m. t.

Die in einer früheren Arbeit (3) erkannten Tatsachen führten uns zur Auffindung einer untersten Grenzkonzentration von osmotisch wirkenden Stoffen im Medium von Gewebezellen, die das Auftreten von Vitalfärbung unter gleichzeitigem Verhindern von Diffusfärbung gerade noch zuläßt. Diese Grenzkonzentration sinkt mit der Abnahme der osmotischen Wirksamkeit des Stoffes und steigt mit seiner Eindringungsfähigkeit in die Zelle. Wenn wir Stoffe, deren Vitalfärbungsgrenzkonzentration ( $C_v$ ) gleich der molaren Konzentration der Ringerlösung, also etwa 0.16 molar ist, als Ausgangspunkt nehmen, so sind Stoffe, deren  $C_v$  größer ist als 0.16 molar, schnell permeierende, und zwar so schnell, um wieviel ihre  $C_v$  größer ist als 0.16 Mole i. L. Stoffe dagegen, deren  $C_v$  kleiner ist als 0.16 Mole i. L., besitzen die Eigenschaft trotz erniedrigtem osmotischem Druck im Medium, die Bildung von Vitalgranula, also eine »physiologische« Stoffaufnahme zu gewährleisten. Die Wirkungsweise dieses letzteren Faktors ( $\xi$ ) bleibt zunächst noch ganz unbekannt.

Wenn wir 24 Stunden alte Fibroblastenkulturen nach Absaugen des Züchtungsmediums und gründlicher wiederholter Waschung mit glukosehaltigem Wasser, in ein Versuchsmedium von 7—10% Glukose in dest. Wasser mit Neutralrotzusatz bringen, so erfolgt eine typische an Intensität mit der Zeit zunehmende granuläre Vitalfärbung bei farblosen Zytoplasma und Kern. Bei nie-



drigerem Glukosegehalt im Versuchsmedium (zumal unter 5%) tritt nie granuläre Vitalfärbung, sondern Diffusfärbung von Kern und Zytoplasma auf, wobei der Kern starke Konturierung und Fällung der Kernmembran zeigt.

Genau dieselben Bilder erhalten wir bei Benutzung von Fruktose-Lösungen von gleicher Konzentration. Wenn wir in gleicher Weise die 24 Stunden alten, flüssigen Fibroblastenkulturen in ganz elektrolytfrei gemachte Rohrzuckerlösungen von verschiedener Konzentration bringen, so finden wir in gleicher Weise bei Konzentrationen oberhalb 7% Rohrzucker granuläre Vitalfärbung, dagegen bei Konzentrationen unterhalb 7% Diffusfärbung von Kern und Zytoplasma und keine Vitalgranula. Arabinose zeigt bei ungefähr 6% Vitalfärbung, bei 3–4% Diffusfärbung, Mannit zeigt erst bei über 10% leichte Vitalfärbung.

Wenn wir zu den Aminosäuren übergehen, so ergibt sich als Grenzkonzentration z. B. des Glykokolls 0·50 Mole im Liter. Von dieser Konzentration aufwärts ist mit Glykokoll im elektrolytfreien Farbbad granuläre Vitalfärbung in ganz normaler Weise zu erzielen, unterhalb derselben dagegen nur Diffusfärbung und keine Vitalfärbung. Wenn wir jetzt denselben Versuch mit Harnstoff vornehmen, so wird uns mit niederer Konzentration nicht gelingen in elektrolytfreien Medien Vitalfärbung hervorzurufen. Erst bei 30% Harnstoff, etwa 5 Molen im Liter, tritt normale granuläre Vitalfärbung auf. Der Grund dieses Verhaltens des Harnstoffes z. B. ist folgender: Das Zustandekommen der granulären Vitalfärbung ist an das Bestehen eines bestimmten osmotischen Druckes im Medium geknüpft (3). Ist das Medium elektrolytfrei (oder nur anisoionisch), so müssen andere Stoffe den osmotischen Druck auf der nötigen Höhe halten, wenn granuläre Vitalfärbung zustandekommen soll, in den bisher angeführten Fällen also Glukose, Fruktose, Sacharose, Arabinose, Mannit, Glykokoll oder Urea. Diese Stoffe müssen also dem intrazellulären osmotischen Druck die Wage halten. Dringt aber der Stoff, der das osmotische Gleichgewicht aufrecht zu erhalten hat, in die Zelle ein, dann wächst der osmotische Druck in der Zelle mit der Geschwindigkeit seines Eindringens und ist bei raschem Permeieren seine Konzentration in der Zelle gleich seiner Konzentration im Medium, dann hat dieser Stoff aufgehört, osmotisch zu wirken und von diesem Augenblick an gestalten sich nun die osmotischen



Verhältnisse so, als wenn im Medium nur destilliertes Wasser und im Zellinnern die gewöhnlichen osmotisch wirksamen Stoffe sich befinden: es treten sofort die bekannten enormen Quellungsvorgänge in Erscheinung. Ist die Permeationsgeschwindigkeit des Stoffes nicht zu groß, so kann er den in der Zelle osmotisch wirkenden Stoffen eine Zeit lang die Wage halten. Dauert diese Zeit länger, als die Permeation des Farbstoffes, als der Vitalfärbungsprozeß, so kommt die granuläre Vitalfärbung zustande und zwar für so lange, bis die Konzentration des osmotisch wirkenden Stoffes aus dem Medium im Zellinnern eine kritische Höhe erreicht hat.

Wenn wir uns den Sachverhalt am Beispiel des Harnstoffes vor Augen halten, so finden wir, wenn wir ihn dem elektrolyt-freien Medium in etwa mit Ringerlösung aequimolekularer Konzentration zusetzen, daß sofort enorme Quellungserscheinungen in der Zelle auftreten, aber keine Vitalfärbung und nicht einmal Diffusfärbung. Einfach deshalb, weil in kürzester Zeit in der Zelle eine der extrazellulären ähnliche Harnstoffkonzentration erreicht wird. Steigern wir die Harnstoffkonzentration im Medium, sogar bis nahezu 5 n, so ist die Permeationsgeschwindigkeit so groß, daß sie ein für das Zustandekommen der Vitalfärbung hinreichend lange dauerndes und hinreichend großes Konzentrationsgefälle an Harnstoff zwischen Medium und Zellinnern nicht zuläßt. Erst bei Benutzung einer über 5 molaren Harnstofflösung im Medium kann für genügend lange Zeit ein genügender osmotischer Druck im Medium aufrecht erhalten werden und es tritt normale granuläre Vitalfärbung ein. Wir sagen dann: die Vitalfärbungsgrenzkonzentration ( $C_v$ ) des Harnstoffes ist ungefähr 5 n.

Bringen wir nun, um ein anderes Beispiel zu erwähnen, die flüssig gezüchteten Kulturzellen in ein acetonhaltiges Farbbad, so treten sogleich enorme Quellungserscheinungen auf und zwar auch bei stärkster Konzentration und niemals Vitalfärbung. Nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Ringerlösung treten dann Vitalgranula auf.

Wir sagen nun,  $C_v$  des Acetons ist  $= \infty$ , d. h., die Permeationsgeschwindigkeit des Acetons ist so groß, daß bei keiner endlichen Konzentration im Medium für genügend lange Zeit ein hinreichender Konzentrationsunterschied zwischen innen und außen bestehen kann, so daß wenn keine anderen osmotisch wirkenden



Stoffe dem Medium zugesetzt werden, die Quellung mindestens nicht geringer ist als bei Anwendung von nur destilliertem Wasser als Medium (abgesehen vom Vorhandensein einer spezifischen quellenden Wirkung des Acetons).

Wenn wir nun auf die oben behandelten Stoffe zurückkommen, so ergab sich, daß bei Glukose und Fruktose eine doppelt so starke molare Konzentration im Medium vorhanden sein muß (ungefähr 0.40 Mole/l) als bei Anwendung von Sacharose (etwa 0.20 Mole/l). Ferner permeiert nach obigem Mannit viel schneller als Arabinose.

Es ist für die Auswertung der vorliegenden Versuchsergebnisse zunächst noch nicht von Belang zu entscheiden, auf welche Weise die Stoffaufnahme durch die Zelle geschieht, inwieweit Porenmembranen mit Donnangleichgewichten oder Lösungsmittelgrenzschichten oder oligomolekulare Filme, oder ihre Kombinationen in Wirkung treten. Wir dürfen umgekehrt aus weiteren Befunden hoffen über die Art der Permeabilität für diese oder jene Stoffe und somit über den Feinbau der Zellgrenzschicht einige Aufklärung zu finden. Zunächst ist für uns nur die Tatsache wichtig, daß der osmotische Druckunterschied zwischen Zelle und Außenflüssigkeit und damit der Wassertransport nach der Zelle durch das Eindringen osmotisch wirkender Stoffe in die Zelle zunimmt und daß die Verminderung des osmotischen Druckes im Medium, bei Unterschreitung einer für jeden Stoff charakteristischen Grenze in der Unmöglichkeit des Auftretens bzw. im Verschwinden aufgetretener Vitalgranula ihren meßbaren Ausdruck findet.

Beim Vergleich der Vitalfärbungsgrenzkonzentrationen für Nichtleiter finden wir im allgemeinen, daß sie den osmotischen Druck eines isoionisch normal equilibrierten Elektrolytgemisches von ungefähr 0.16 Mole/l überschreiten. Wenn wir jetzt zur Auffindung der Cv-Werte für Elektrolyte übergeben, so finden wir oft ein anderes Verhalten. Wenn wir mit dem Natriumchloridsalz beginnen, so finden wir bei 24 Stunden wachsenden Herzfibroblasten vom Hühnerembryo seine Vitalfärbungsgrenzkonzentration gleich ungefähr 0.05 Mole/l, also ungefähr einem Drittel der molaren Konzentration der Ringerlösung. Wir schließen daraus nicht nur auf eine äußerst langsame Permeabilität für Natriumchlorid, sondern überdies noch, wie oben erwähnt, auf das



Bestehen eines hier stark wirksamen unbekanntem Faktors ( $\xi$ ), dessen Wirkungsweise mit dem Wesen der Stoffaufnahme aufs Engste verbunden ist. Die Vitalfärbungsgrenzkonzentration der von uns benutzten Ringerlösung (Natrium-, Kalium- und Calciumchlorid 0·9:0·042:0·025 auf 100 Teile Wasser) von ungefähr 0·163 Mole/l beträgt für embryonale Huhnherzfibroblasten 0·04 Mole/l, also weniger als für Natriumchloridlösung allein. Wir sagen daher, der  $\xi$ -Factor des Ringerschen Salzgemisches ist größer als derjenige der Natriumchloridlösung. Der Cv-Wert des Natriumbromids ist ungefähr gleich demjenigen des Natriumchlorids, ungefähr 0·045—0·05 Mole/l. Für Natriumrhodanidlösung fanden wir eine Cv von ungefähr 0·085 Mole/l; eine ebenso große für  $\text{NaNO}_3$  und  $\text{KNO}_3$ . Für  $\text{KCl}$ ,  $\text{KBr}$  und  $\text{KJ}$  fanden wir Cv-Werte, welche die molare Konzentration der serumisotonischen Ringerlösung etwas übersteigen, also ungefähr gleich 0·166 Mole/l. Das hieße nun, daß für diese Salze im Vergleich mit den erwähnten Natriumsalzen eine ziemlich schnelle »Permeabilität« (unter Permeabilität sei hier nur der Gegensatz zu einer osmotischen Wirkung vom Medium aus gemeint, also abgesehen davon, ob es sich um Eindringen, adsorptive oder andere Bindung handelt) besteht, indem sie erst bei stärkerer Konzentration als diejenige der serumisotonischen Lösung, für genügend lange Zeit einem intrazellulären osmotischen Überdruck das Gleichgewicht zu halten vermögen. Bei einer geringeren als 0·166 molaren  $\text{KCl}$ - oder  $\text{KBr}$ -Konzentration ist keine Vitalfärbung zu erzielen, dagegen tritt starke Vakuolisierung des Zytoplasmas auf, wobei die Vakuolen oft den Kern stark komprimieren und deformieren. Weitere Versuche ergaben für Calciumchloridlösungen  $\text{Cv} = 0·143$  bis 0·125 Mole/l. Bei geringerer Konzentration ist nur reversible Diffusfärbung zu erzielen. Für  $\text{NaSO}_4$  fanden wir eine Cv von ungefähr 0·13, dagegen für  $\text{MgSO}_4$  eine solche von 0·25 Mole/l. Ammoniumsalze sind nicht ohne weiteres auf ihren Cv-Wert zu untersuchen, weil sie als Salze schwacher Basen und starker Säuren auf das Protoplasma tierischer Gewebezellen bekanntlich (4) gelifizierend wirken. Sie müssen daher zuvor entsprechend gepuffert werden, am besten mit 1 Teil Ammoniumhydroxyd auf 16 Teile Salz ( $\text{pH} = 8·29$ ). Ihre Permeationsgeschwindigkeit, ihr Cv-Wert erwies sich dann als groß.



Eine gewisse Überraschung bereitete die Vitalfärbungsgrenzkonzentration des Magnesiumchlorids und des Magnesiumbromids. Sie beträgt für beide 0·084 bis 0·066 Mole/l. Das Magnesiumion steht also trotz seiner Zweiwertigkeit unter allen Elektrolyten dem Natriumion (in Bezug auf den Faktor  $\xi$ , auf die die Permeabilität regulierende Einwirkung auf Grenzflächenkolloide) am nächsten. Das dem Magnesiumion sonst nahestehende, im periodischen System dicht unter ihm sich befindende Calciumion hat dagegen einen Cv-Wert von 0·143—0·125, also ungefähr einen halb so großen  $\xi$ -Faktor. Der Kontrast zwischen Magnesium und Calcium ist hier frappant. Während Calciumchlorid in einer Konzentration von etwa 0·10 m. nur Diffusfärbung und nie Vitalfärbung erzeugen kann, rufen aequimolekulare Magnesiumchlorid- und Magnesiumbromidlösungen prompt granuläre Vitalfärbung hervor. Es ist hierbei interessant die Tatsache in Erinnerung zu bringen, daß das Magnesium in seiner Wirkung auf Eiweiß nicht den Erdalkalien, sondern den Alkalien gleicht (5).

Eine Klärung dieses so sehr verschiedenen Verhaltens der beiden sonst so ähnlichen Erdalkalien, wie die große Ähnlichkeit von Magnesium- und Natriumion, kann beim derzeitigen Stande unseres Wissens kaum zu erwarten sein. Es ist kaum anzunehmen, daß die Ähnlichkeit der Molekulargewichte, der Atomdurchmesser für ihre ähnlichen Cv-Werte verantwortlich zu machen sei. Denn wir finden, daß sonst die Cv-Werte vom Molekulargewichte weitgehend unabhängig sind. Nichtsdestoweniger bietet die gefundene Tatsache interessante Ausblicke, wenn wir den Atombau und das Atomspektrum von Magnesium und Natrium miteinander vergleichen. Nachdem nämlich das Natriumatom das einzige Elektron seiner äußeren Schale und das Magnesiumatom die beiden Elektronen seiner äußeren Schale an das Chlorion abgegeben haben und sich positiv laden, ist ihr Atombau (bis auf einen Unterschied in der Kernladung) einander vollständig gleich geworden. Sind nun Magnesium und Natrium ionisiert, so sind ihre Spektren vollständig gleich. Außerdem ist ja, nach dem Verschiebungssatz, das Funkenspektrum erster Ordnung des Magnesiums mit dem Bogenspektrum des Natriums, d. h. mit dem Spektrum des Natriumatoms identisch. Das Magnesium kann also bei verschiedener Anregungsenergie gleichzeitig sowohl das Spektrum des Natriumatoms wie auch dasjenige des Natriumions, also des Neons, zei-



gen. Dasselbe betrifft die Ähnlichkeit der Spektren von Calcium und Kalium ( $\text{Ca II} = \text{K I}$  und  $\text{Ca III} = \text{K II}$ , d. h. das Spektrum von  $\text{Ca}^x$  gleicht demjenigen von K und das Spektrum von  $\text{Ca}^{xx}$  demjenigen von  $\text{K}^x$ ) und es weisen auch die vorliegenden Versuche eine Ähnlichkeit im Verhalten von Calcium und Kalium auf, indem beide einen ähnlichen hohen Cv-Wert haben, also bedeutend schneller »permeieren« als Natrium und Magnesium. (Es sei hierzu nur die chemische Prozesse aktivierende Rolle der Strahlung und die Fluoreszenztheorie (Resonanztheorie) der Katalyse erwähnt).

Darüber hinaus kann über den niedrigen Cv-Wert der bevorzugten Elektrolyte nicht viel gesagt werden. Sie sind befähigt, neben ihrer osmotischen Wirkung auf die Aufrechterhaltung eines normalen Stoffwechsels einzuwirken. Nur osmotische (und Donnan-) Wirkungen können durch Stoffe vom Medium aus zustande kommen. Andere Wirkungen müßten natürlich durch Herantreten des Stoffes aus dem Medium an die Zellbestandteile bewirkt werden. Wir müssen daher annehmen, daß die erwähnten Salzionen entweder durch Erzeugung von komplizierten Membrangleichgewichten oder durch irgendwelche adsorptive Bindung mit Zellbestandteilen die »permeabilitätsregulierende« Wirkung entfalten. Wir wissen ja, daß im allgemeinen die Elektrolytadsorption den Diffusionsweg in heterogenen Systemen bestimmt. (Vielleicht vermögen die Salzionen auch den Weg zur Farbstoffspeicherung zu bahnen).

Die Cv-Werte unterliegen von Kultur zu Kultur nur unbedeutenden Schwankungen, bei unter gleichen Bedingungen gezüchteten Zellen. Dagegen übt die Größe des Mittelstückes, aus dem, wie es sich im Laufe der Versuche herausgestellt hat, Salze in das flüssige Versuchsmedium diffundieren, einen großen Einfluß auf das Versuchsergebnis aus. Wir erhalten also nur bei möglichst gleichen Mittelstücken vergleichbare Cv-Werte.

Wir waren ferner darauf bedacht, für die vorliegenden Untersuchungen gleichaltrige Embryonen zu benutzen. Wir wissen seit den Untersuchungen von Białaszewicz, daß bei Hühnerembryonen der osmotische Druck im Zellinnern gesetzmäßig mit steigendem Alter des Embryos zunimmt. Es müßte daher bei Variierung des osmotischen Druckes im Medium, die osmotische Druckdifferenz in Abhängigkeit vom Alter des Embryos verschieden



ausfallen. Andererseits ist es aber auch möglich mit der beschriebenen Methode, bei entsprechender Versuchsanordnung, den osmotischen Druck im Zellinnern verschiedenalteriger Embryonen zu bestimmen.

Mit Hilfe der vorliegenden Methode der Bestimmung von Grenzflächenkonzentrationen wandten wir uns auch der Frage zu, welche Unterschiede in der Permeabilität der verschiedenen Gewebe für die verschiedenen Stoffe bestehen. Bei Epithelzellen fanden wir bisher einen kleineren  $C_v$ -Wert für einige Stoffe. Manche Stoffe sind dadurch ausgezeichnet, daß sie nach ihrem Permeieren in die Zelle (anisoionische Permeabilität) charakteristische Merkmale in ihr hervorrufen, die von ihrem Eindringen zeugen. So erzeugen beispielsweise eingedrungene Rhodansalze nadelförmige typische braune Kriställchen in den Zellen. Dagegen zeigen die fällend bzw. quellend wirkenden Stoffgruppen nichts Charakteristisches für die einzelnen Stoffe.

Es wäre nun sicher unrichtig, wollte man annehmen, daß die reversible Umschaltung von Vitalfärbung in Diffusfärbung durch Stoffe in Konzentrationen unterhalb ihrer  $C_v$ -Werte lediglich auf mehr oder weniger starker Zellschädigung durch die benutzten Stoffe beruhe. Würde es sich nur um Zellschädigung und nicht auch um Permeationsgeschwindigkeit handeln, so wäre es unverständlich, warum beispielsweise bei 3% Glukose u. a. Diffusfärbung entsteht und nie Vitalgranula, dagegen bei 10% Glukose, die doch mehr zellschädigend wirken müßte, granuläre Vitalfärbung erzielt werden kann, warum 0.10 molares Calciumchlorid immer nur Diffusfärbung, während 0.16 molares Calciumchlorid Vitalgranula erzeugt, warum erst 5 n Urea Vitalfärbung herbeiführt oder warum 0.16 n  $MgSO_4$  keine Vitalfärbung herbeiführen kann, dagegen 0.25 n  $MgSO_4$  Vitalfärbung herbeiführt. Andererseits kann es sich hier auch nicht um einfache Ionenpermeabilität handeln, denn, während das Magnesiumion sich dem Natriumion ähnlich verhält, verhält sich das  $Na_2SO_4$  doch ganz verschieden vom  $MgSO_4$ , trotz gleichem Anion.

Durch Feststellung der Vitalfärbungsgrenzkonzentration verschiedener Stoffe erhalten wir Vergleichswerte ihrer Permeationsgeschwindigkeit. Es besteht aber außerdem die Möglichkeit zahlenmäßiger Berechnung der Permeationsgeschwindigkeit einzelner Stoffe, wenn wir die Dauer der durch sie erzielten Vitalfärbung



messen können. Granulär vitalgefärbte Zellen verlieren nach verschieden langer Zeit ihre Vitalgranula, und zwar nicht nur mit ihrem Absterben, sondern oft auch noch früher, aus noch unaufgeklärten Gründen. So zeigen mit Neutralrot angesetzte Kulturen in den ersten 18 Stunden meist noch gute granuläre Vitalfärbung, aber je später um so größer und um so spärlicher werden die Neutralrotgranula, bis sie ganz verschwunden sind, trotz Weiterlebens der Kultur. Von diesem Rückgang der Vitalfärbung bei isoionisch gezüchteten Zellen soll hier nicht die Rede sein. Bei der im Vorigen geschilderten Versuchsanordnung dagegen ist die Dauer der Vitalfärbung bei Benutzung von Konzentrationen osmotisch wirkender Stoffe, die oberhalb ihrer  $C_v$ -Werte liegen, der Permeationsgeschwindigkeit dieser Stoffe antipar und mit ihrer Konzentration im Medium symmetrisch. Wenn nämlich der Stoff im beträchtlichen Maße eingedrungen ist, so wird ein Zustand erreicht, in dem er vom Medium aus nicht mehr dem osmotischen Druck der intrazellulär osmotisch wirkenden Substanzen die Wage halten kann; dann tritt die Entfärbung, oft unter Quellungerscheinungen in der Zelle ein. Der Rückgang der Vitalfärbung kann aber auch noch früher geschehen, wenn eine spezifisch fällende Wirkung des eingedrungenen Stoffes auf das Protoplasma die Zelle abtötet. Im allgemeinen aber scheint eine Gesetzmäßigkeit für die Dauer der Vitalfärbung zu bestehen, beim Vorhandensein von Stoffen im Medium, deren Permeieren den osmotischen Druck und damit die Wasserübertragung in die Zelle alteriert. Diese Gesetzmäßigkeit kann durch die Formel  $\frac{C_m - C_v}{T}$  ausgedrückt werden, wo  $C_m$  die benutzte Konzentration des osmotisch wirkenden Stoffes im Medium,  $C_v$  die Vitalfärbungsgrenzkonzentration dieses Stoffes und  $T$  die Zeit bis zum Rückgang der eingetretenen Vitalfärbung bedeuten. Je größer  $C_m$ , um so länger dauert im allgemeinen die Vitalfärbung, natürlich innerhalb gewisser Grenzen, die bei manchen Stoffen durch die Hypertonie gestellt werden.

Es sei hier nochmals auf eine Hauptfehlerquelle hingewiesen, die in einer festgestellten Salzdifffusion aus dem Mittelstück in das flüssige Medium besteht. Alle hier mitgeteilten Zahlen haben also, gleich große Mittelstücke vorausgesetzt, einen guten Vergleichswert, werden aber durch im Gange befindliche Versuche an Kul-



turen mit entfernten Mittelstücken eine entsprechende Korrektur erfahren müssen. Wie bereits erwähnt, soll durch Bestimmung von Permeationsgeschwindigkeiten von Stoffen noch nichts ausgesagt werden über die Art ihres Eindringens in die Zelle, ob und durch welche Kräfte sie an der Zelloberfläche oder auch im Zellinnern an Protoplasmateilchen gebunden werden u. a. Nichtsdestoweniger muß das Eindringen oder Nichteindringen eines osmotisch wirkenden Stoffes den Grad seiner osmotischen Wirksamkeit vom Medium aus bestimmen und umgekehrt, muß aus seiner osmotischen Wirksamkeit, welche in Cv-Werten ihren meßbaren Ausdruck findet, auf das Eindringen oder auf irgendwelche Bindungen dieses Stoffes mit Protoplasmateilchen geschlossen werden können.

#### Zusammenfassung.

1) Die Konzentration eines im wässerigen Medium von Gewebezellen osmotisch wirksamen Stoffes, bei welcher gerade noch, bei Zusatz von Neutralrot, granuläre Vitalfärbung eintritt, ist für jeden Stoff charakteristisch und ist ein Maß für die Permeationsgeschwindigkeit dieses Stoffes. Je schneller ein Stoff permeiert, je rascher er also eine hohe Konzentration in der Zelle erreicht, um so weniger kann er eine osmotische Druckwirkung vom Medium aus entfalten. In diesen Fällen kann eine granuläre Vitalfärbung nicht eintreten, und zwar infolge Wassereindringens in die Zelle durch den niedrigen osmotischen Druck im Medium oder auch noch in vielen Fällen durch eine spezifisch fällende Wirkung mancher miteingedrungener Stoffe (hyposmotische bezw. anisotonisch isosmotische Permeabilität).

2) Diejenigen Stoffe, deren Cv-Werte niedriger sind, als 0.16 M. i. L. sind durch ein Vermögen ausgezeichnet, trotz erniedrigtem osmotischem Druck im Medium eine normale Stoffaufnahme zu unterhalten. Dieses Vermögen ist um so größer, je kleiner der Cv-Wert unterhalb 0.16 Mole/l ist, und ist am größten für Ringerlösung, Natriumchlorid- und Natriumbromidlösung. Eine gefundene Beziehung zwischen Magnesium und Natrium wird besprochen.

3) Durch Bestimmung der Vitalfärbungsgrenzkonzentration kann auch die Permeabilität differenter Gewebe (Bindegewebe, Epithel, maligne Zellen) für verschiedene Stoffe studiert werden.



4) Bei Benutzung eines osmotisch wirkenden Stoffes in höheren Konzentrationen als sein Cv-Wert, bietet sich für möglichst vergleichbares Material eine Möglichkeit der Berechnung der Permeationsgeschwindigkeit dar.

Skłodowska-Curie Radium-Institut, Warszawa.

### Literatur.

- 1) Backmann u. Runnström, Pflügers Archiv, 144, 287 (1912). —
- 2) Białasiewicz, Archiv Entw. Mech. 34, 489 (1912). — 3) Grossfeld H., Osmotischer Druck und Vitalfärbung (Bull. de l'Acad. Pol. Scienc. B II. 1937). —
- 4) Grossfeld H., Z. Zellforsch. u. mikrosk. Anat. 25, 312 (1936). — 5) Pauli W., Hofmeisters Beitr. 5, 27 (1903).







*Ciśnienie osmotyczne a barwienie przyżyciowe. — Osmotischer Druck und Vitalfärbung.*

Mémoire

de M. H. **GROSSFELD**,

présenté le 1 juillet 1937, par M. K. Białaszewicz m. t.

In früheren Arbeiten (6, 7, 23) wurde gezeigt, daß die Zellzucht in gelatinirten Medien ganz besonders zum Studium auf das Zellwachstum wirkender physikalischer Faktoren geeignet ist, daß aber, wenn es sich um die Erkenntnis des Einflusses chemischer und physikalisch-chemischer Faktoren auf die Zelle handelt, sich die übliche Züchtungsmethode in Gallertmedien nicht mehr eignen kann. Es müssen dann vielmehr zweierlei Bedingungen erfüllt sein. Das Medium muß erstens flüssig bleiben, d. h. beliebig austauschbar sein, zweitens darf das Versuchsmedium (10, 11) nicht mit dem Züchtungsmedium, d. h. dem eigentlichen Wachstumsmedium identisch sein. Denn das Züchtungsmedium muß ja dermaßen chemisch und physikalisch-chemisch equilibriert sein, daß es eine gute Zellvermehrung ermöglicht und somit uns erst ein geeignetes Versuchsmaterial in die Hand gibt. Setzen wir ferner dem Züchtungsmedium die zu prüfenden Stoffe zu, so erfahren dieselben durch dieses Medium mehr oder weniger eingreifende Veränderungen, noch ehe sie auf die Zelle selbst einwirken. Ich ging daher für die meisten Versuche zur Trennung des Versuchsmediums von beliebig austauschbarem Züchtungsmedium über (11). Die Vorbereitung des Versuchsmaterials geschah demnach kurz wie folgt: Es wird auf dem Deckglas oder Glimmerplättchen 1 Tropfen (oder auch nebeneinander 2—3 Tropfen) eines flüssigen Mediums gesetzt, bestehend aus Embryonalextrakt, Ringer- oder Tyrode-Lösung und destilliertem Wasser im Ver-



hältnis von 5:4:1. Nach Einlegung der Gewebsfragmente werden die Tropfen ausgebreitet und die Flüssigkeitsmenge mit Hilfe der Saugpipette reguliert, dann wird das Deckglas über den hohlgeschliffenen Objektträger gelegt und nach Umrandung wird die Kultur, lieber als liegender Tropfen, in den Brutschrank gestellt. Durch das leicht hypotonisch gemachte Medium erlangen wir erfahrungsgemäß ein etwas rascheres Wachstum (25). Nach etwa 24 Stunden erhalten wir ein üppiges Wachstum von Fibroblasten meist in Membranform, wie auch von reinem Epithel, wenn wir Fragmente epithelgener Organteile zur Züchtung benutzen. Zum eigentlichen Versuch nehmen wir jetzt das Glimmerplättchen ab, saugen mit einer dünnen Glaspipette das Züchtungsmedium ab und spülen die Kultur vielfach hintereinander mit der Flüssigkeit des inzwischen vorbereiteten Versuchsmediums durch, ehe wir die Kultur in das Versuchsmedium bringen, wodurch wir die meist störenden Reste des Züchtungsmediums möglichst entfernen. Soll das Versuchsmedium einen Farbstoff als Test enthalten, so muß die Waschung der Kulturen mit dem noch nicht angefärbten Versuchsmedium geschehen, weil sonst eine Testanfärbung der Zellen bei unerwünschter Anwesenheit von Resten des Züchtungsmediums erfolgen müßte, was, wie aus dem Folgenden einleuchten wird, die Versuchsergebnisse trüben würde. Solchermaßen können wir chemisch wie physikalisch-chemisch quantitativ genau bestimmte Stoffe auf die lebende frei liegende Zelle einwirken und die Wirkungen auf mannigfache Weise zum Ausdruck bringen. In den vorliegenden Versuchen bringe ich die durch die Versuchsstoffe an der Zelle erzeugten Veränderungen meistens durch Farbstoffe zum Ausdruck.

In früheren Arbeiten (11) erwähnte ich bereits kurz, daß granuläre Vitalfärbung von kultivierten Gewebezellen nicht zu erzielen ist, wenn das Versuchsmedium als Farbbad weniger als 20—30% des equilibrierten Elektrolytgemisches einer Ringerlösung, also weniger als etwa 0.04 Mole/l enthält. Die Zellen und Kerne färben sich dann reversibel diffus oder bleiben, bei noch stärkerer Verdünnung der osmotisch wirkenden Substanzen im Medium, ganz farblos. Diese Tatsache kommt auch zum Ausdruck, wenn wir einer in einem koagulierten Plasmamedium eingeschlossenen Kultur Farbstoff in reinem Wasser als Lösungsmittel zu-



setzen. Bis zum Eintritt eines Diffusionsgleichgewichtes zwischen den Salzen des Mediums und dem Lösungsmittel des Farbstoffes hat dieses einen Salzgehalt unterhalb 0.04 Mole/l, woraus Diffusfärbung oder Farblosigkeit der Zellen resultiert. Denn die Farbstofflösung erreicht immer die Zellen schneller, als die Salzdifffusion eine molare Konzentration von 0.04 im Farbbade herbeiführt. Ist diese Konzentration erreicht, so entsteht »von selbst« eine Umschaltung, eine Reversion der Farbstoffwirkung: die diffuse Färbung von Zytoplasma und Kern verschwindet und es erscheint allmählich granuläre Vitalfärbung.

Die genauere Verfolgung dieser Tatsachen am geeigneten Objekt, d. h. an flüssig gezüchteten Kulturen ergab Folgendes:

Wenn wir Kulturzellen in ein Farbbad von Neutralrot in Ringerscher Flüssigkeit oder in Blutserum bringen, so erhalten wir, solange die Zellen leben, eine granuläre Vitalfärbung, die an den polarisierten (8) Fibroblasten in Kernnähe an der basalen der Richtung der Amöboidbewegungen zugekehrten Seite zuerst erscheint. Außer den Farbkörnchen bleiben Zytoplasma und Kern ungefärbt. Es kann nicht daran gezweifelt werden, daß diese Art der granulären Farbstoffspeicherung durch sog. vitale Vorgänge bedingt, daß sie ein »lebendes Modell« sichtbar gemachter Stoffaufnahme ist. Dagegen galt bisher für gezüchtete Gewebezellen, mit wenigen Ausnahmen, eine diffuse Zytoplasma- und Kernfärbung als sicheres Zeichen des eintretenden oder des eingetretenen Zelltodes. An unserem Material können wir diese Auffassung bestätigen, wenn es sich um bleibende Diffusfärbung von Zytoplasma und Kern handelt, die als Zeichen des eingetretenen oder nahenden Zelltodes in Erscheinung tritt. Wir werden aber im Folgenden eine große Reihe leicht und prompt hervorzurufender diffuser Anfärbungen von Zytoplasma und Kern kennen lernen, welche kurzdauernd und ebenso leicht und prompt innerhalb gewisser Zeitgrenzen im Versuche reversibel sind, also nicht zum Tode der Zelle führen, geschweige denn den eingetretenen Zelltod anzeigen.

Wenn wir die durch hinreichende Waschung von den Resten ihres Züchtungsmediums möglichst frei gemachten Gewebezellen in ein Farbbad bringen, dessen Gehalt an Ringersalzen weniger als etwa 0.04 Mole/l beträgt, wird, neben starken Quellungserschei-



nungen, wie oben erwähnt, keine granuläre Vitalfärbung eintreten. Dagegen wird bei nicht zu starken Salzverdünnungen, also bei nicht zu stürmischen Quellungserscheinungen (Brown'sche Bewegung von Protoplasmateilchen; Riesenvakuolen, die den Kern komprimieren und zu bizarren Figuren deformieren), prompt Diffusfärbung besonders der Kerne eintreten. Wird nach einiger Zeit, solange die Zellen durch zu starke Quellung noch nicht zugrunde gegangen sind, dieselbe Kultur in ein anderes mehr Ringersalze enthaltendes Farbbad gebracht, so tritt allmählich ein Rückgang der Diffusfärbung von Zytoplasma und Kern ein und gleichzeitig mit dem völligen Abblenden der ganzen Zelle treten Farbgranula an den für granuläre Vitalfärbung typischen Stellen auf. (Zugleich verschwinden auch natürlich durch osmotische Druckerhöhung im Medium die die Kerne komprimierenden Riesenvakuolen, wobei manche deformierten Kerne ihre normale Form wieder zu erlangen vermögen). Durch Wiedererhöhung des osmotischen Druckes im Farbbad erfolgt eine »Umschaltung« der Farbaufnahme: Rücktritt der Diffusfärbung und gleichzeitiges Auftreten granulärer Vitalfärbung. Nur ganz selten kann, lediglich für eine kurze Weile, verschwindende Diffusfärbung von Zelle und Kern gleichzeitig mit wiedereintretender granulärer Vitalfärbung bestehen. Es gilt vielmehr als Regel, daß wieder auftretende Neutralrotgranula an das notwendige Verschwinden diffuser Zell- und Kernfärbung gebunden ist. Es zeigt sich also, daß zur Erscheinung der granulären Vitalfärbung mit Neutralrot an gezüchteten Gewebezellen, neben dem Auftreten der typischen Farbgranula, ebenso notwendig das Nichtauftreten diffuser Färbungen gehört. Mit dem Vorgange der Granulabildung oder Granulafärbung ist eine Unmöglichkeit diffuser Farbaufnahme verbunden, eine Tatsache, die zur Klärung des Vitalfärbungsprozesses beizutragen geeignet sein dürfte.

Wollen wir die die reversible Diffusfärbung des Zytoplasmas störenden stürmischen Quellungserscheinungen (wie Teilchenausfallen, den Kern komprimierende Riesenvakuolen etc.) hintanhaltend, so setzen wir zu dem als Versuchsmedium benutzten Farbbad entsprechende Anelektrolyte in passender Konzentration zu. Einen ähnlichen Effekt erhalten wir auch, wenn wir dem Versuchsme-



dium bestimmte Fremdelektrolyte oder auch Ringer-Elektrolyte in abnormer Zusammensetzung zusetzen, kurz wenn wir den osmotischen Druck des Versuchsmediums entweder durch die praktisch nicht leitenden oder durch leitende anisoionische Teilchen in bestimmter Konzentration erhöhen. Wir wollen zunächst die Erscheinungen bei Benutzung einer etwa 3–4% Dextroselösung im Farbbade als Versuchsmedium beschreiben. Wir erinnern zunächst daran, daß die Waschung der Zellen von den Resten ihres salzhaltigen Züchtungsmediums mit einer ebenfalls 3–4% Dextroselösung, aber ohne Farbzusatz, zu geschehen hat, weil sonst während der Waschung eine irreführende granuläre Anfärbung der Zellen herbeigeführt werden würde. Bringen wir dann die Zellen in ein 4% Dextrose, Fruktose oder Mannit enthaltendes elektrolytfreies Farbbad, oder etwa in ein 0·10 normale Calciumchloridlösung enthaltendes Farbbad, so treten dann die oben geschilderten stürmischen Quellungserscheinungen nicht auf. Dagegen eine rosafarbene Diffusfärbung von Zytoplasma und Kern, welche, innerhalb enger Zeitgrenzen, durch Einbringung der Kultur in ein anderes Ringerlösung enthaltendes Farbbad reversibel ist. Es verschwindet die Diffusfärbung und granuläre Vitalfärbung tritt auf.

Die reversible Umschaltung von granulärer Vitalfärbung in Diffusfärbung von Kern und Zytoplasma mittels osmotischer Druckänderung und zugleich die Antibasie der beiden Arten von Farbstoffaufnahme (und Stoffaufnahme), kann noch auf verschiedener anderer Art gezeigt werden. Wenn man an flüssig gezüchteten Kulturzellen zuerst in einer Neutralrotlösung in Ringerflüssigkeit granuläre Vitalfärbung erzeugt, so kann man die Neutralrotgranula zum Verschwinden bringen und Diffusfärbung von Zytoplasma und Kern herbeiführen, wenn man die Kultur in ein anderes Versuchsmedium bringt, das beispielsweise 4% Mannit- oder Dextroselösung oder 0·10 n Calciumchloridlösung enthält. Bringen wir nun nach kurzer Zeit dieselbe Kultur in Neutralrot enthaltende Ringerlösung zurück, so kann noch die Diffusfärbung verschwinden und es erscheint abermals typische granuläre Vitalfärbung.

Die Reversion einer Diffusfärbung in granuläre Vitalfärbung ist nur dann zu erzielen, wenn wir dem zweiten Versuchsmedium der Ringerlösung auch Neutralrot zusetzen. Desgleichen ist eine



Umschaltung von granulärer Vitalfärbung in Diffusfärbung auch nur dann zu erzielen, wenn wir dem zweiten Versuchsmedium, also dem etwa 0.04 molaren isoionischen Medium bzw. der isotonischen Dextroselösung oder hyposmotisch anisoionischen Elektrolytlösung auch Neutralrot zusetzen. Tun wir das nicht, so tritt nur Entfärbung ein, also im ersten Falle Verschwinden der Diffusfärbung ohne Bildung von Vitalgranula, im zweiten Falle Verschwinden der Vitalgranula ohne Auftreten von Diffusfärbung. Diese Tatsache konnte nur an flüssig gezüchteten Kulturen festgestellt werden. An im Blutplasma gezüchteten Kulturen dagegen findet man ein für den ersten Augenblick dieser Tatsache widersprechendes Verhalten. An Plasmakulturen können in vielen Fällen die oben beschriebenen Reversionen genau so prompt, bloß unter Berücksichtigung der fortschreitenden Salzdifffusion, aus dem Koagulum ins Farbbad herbeigeführt werden, wie an flüssig gezüchteten Kulturen. Für Plasmakulturen ist aber die Zugabe von Neutralrot zum zweiten Versuchsmedium nicht nötig, um das Auftreten von Neutralrotgranula nach Verschwinden der Diffusfärbung bzw. das Auftreten von Diffusfärbung nach Verschwinden der Neutralrotgranula herbeizuführen. Es zeigte sich aber, daß es sich auch hier nicht um eine Umwandlung von diffus adsorbiertem Farbstoff in Farbstoffgranula und umgekehrt handelt, sondern darum, daß das Plasmakoagulum trotz Mediumwechsels reichlich Farbstoff festhält und ihn dem zweiten Medium abgibt. Daß dem so ist, wurde ferner durch Folgendes bewiesen. In ganz seltenen Fällen kam es auch bei flüssig gezüchteten Kulturen vor, daß nicht nur Entfärbung, sondern auch ganz geringe Vital- bzw. Diffusfärbung bei Reversionen durch ein Medium ohne Farbstoff auftritt, und zwar dann, wenn dicke Mittelstücke vorlagen. Es wurde angenommen, daß in das zweite Versuchsmedium Farbstoff aus diesen Mittelstücken hineindiffundiert. Diese Annahme konnte ich dadurch bestätigen, daß ich in derselben Versuchsreihe bei Reversionen ohne Farbstoffzusatz nur Entfärbung und niemals Farbgranula bzw. Diffusfärbung auftreten sah, wenn ich das Mittelstück vor dem Versuche ausschnitt und nur die an das Glimmerplättchen adhärierenden Zellen behandelte.

Man kann daraus mit Sicherheit schließen, daß die hier beschriebenen Reversionen nicht so aufgefaßt werden können, daß bei Variierung der osmotischen Druckdifferenz etwa eine direkte



Umwandlung von »Diffusfarbstoff« in granulären Farbstoff möglich sei, sondern so, daß durch unseren Eingriff gleichzeitig sowohl das Verschwinden der Diffusfärbung, wie auch damit zusammenhängend die Anfärbung von Vitalgranula aus dem Farbstoff des Mediums ermöglicht wird.

Es wird von vielen Seiten die naheliegende Vermutung ausgesprochen, daß besonders die granuläre Vitalfärbung an physiologische Stoffwechselforgänge in der Zelle eng geknüpft sei. In erster Linie wird dabei an Oxydationsprozesse gedacht (obwohl auch der Vitalfärbung ein glykolytischer Prozeß zugrunde gelegt worden ist). Es lag mir daher daran festzustellen, ob die hier mitgeteilte reversible Umwandlung von granulärer Vitalfärbung in diffuse Zytoplasma- und Kernfärbung und umgekehrt, mittels der Variierung der osmotischen Druckdifferenz oder des Elektrolytgehaltes im Medium, auch durch Schwankungen des Oxydo-Reduktionspotentials herbeigeführt werden können. Um so wichtiger erschienen uns solche Untersuchungen, als es Nassonov und Alexandrov (1, 19) an anderem Material (Larven von *Chironomus plumosus*; *Daphnia pulex*; aerob und anaerob lebende Infusorien; Epithel des Froschdarmes) gelang, durch Erniedrigung des Redoxpotentials eine reversible Kernfärbung herbeizuführen, welche nach Wiedererhöhung des  $r_h$  einer Granulafärbung im Zytoplasma bei Entfärbung der Kerne Platz machte.

Eine Verminderung des  $r_h$  der Zelle suchte ich unter den Bedingungen der Zellzüchtung auf zweierlei Weise herbeizuführen, erstens durch möglichste Verminderung der  $O_2$ -Zufuhr und zweitens durch spezifische Oxydationshemmung mit Hilfe von Blausäure. Für den ersten Fall suchte ich am einfachsten die  $O_2$ -Zufuhr dadurch zu drosseln, daß ich den Hohlraum des Objektträgers bis zum Überfließen mit bei Zimmertemperatur flüssigem Paraffin füllte und darüber das kulturtragende Glimmerplättchen unter Vermeidung von Luftblasen klappte und luftdicht umrandete. Das eigentliche Kulturmedium gestaltete ich dabei so winzig, wie nur möglich. Bei so angesetzten Kulturen ist wohl mit einer Herabsetzung des  $r_h$  zu rechnen, besonders für die weiteren Wachstumsstadien. Wird solchen Kulturen gleichzeitig Neutralrot zugesetzt, so tritt granuläre Vitalfärbung auf, die nicht weniger prägnant und typisch und nicht von kürzerer Dauer ist



als an den Kontrollkulturen, wiewohl in vielen Fällen in den so behandelten Kulturen ein früheres Tiefrotwerden der Vitalgranula (also ein schnelleres Absinken des pH des Zytoplasmas) eintritt als in den Kontrollkulturen. Ich konnte an so behandelten Kulturen noch am dritten Tage eine gut meßbare Vergrößerung des Wachstumsareals feststellen. In mehreren Fällen war die Vitalfärbung eine längere Zeit erhalten als in den Kontrollkulturen (vielleicht als Ausdruck einer Verlängerung der Lebensdauer der Zelle infolge Verlangsamung des Stoffwechsels). Zwecks Erzielung einer Oxydationshemmung durch Blausäure wurde entweder dem Züchtungsmedium beim Ansetzen der Kultur oder später dem Versuchsmedium Kaliumcyanid zugesetzt, welches aber als Salz einer starken Base und schwachen Säure stark hydrolytisch wirkt. Auf die Kulturzellen wirken aber beide Hydrolyseprodukte ein, nicht nur die erst zu prüfende Blausäure, sondern auch in erster Linie die abdissoziierten Hydroxylionen des Kaliumhydroxyds. Diese entfalten, bei flüssig gezüchteten Kulturzellen, wenn sie dem Versuchsmedium in höheren Konzentrationen zugesetzt werden, sofort die so sehr markanten Erscheinungen der Einwirkung von OH' auf tierische Gewebezellen, die in früheren Arbeiten (9) beschrieben wurden. (Die Trias: Lebhaftes Brown'sche Bewegung im Zytoplasma; sofortige Abkuglung langer Spindelzellen; fortschreitende Teilchenflockung). Diese Nebenwirkung des Kaliumcyanids, die eine etwaige Blausäurewirkung ganz überdeckt, können wir bei Benutzung des stark puffernden Plasmakoagulums leichter vermeiden. Bei Benutzung flüssiger Kulturen erscheinen die Puffereigenschaften einer Ringerlösung nur bei geringer KCN-Konzentration genügend zur Vermeidung der beschriebenen Nebenwirkung, bei höheren Konzentrationen dagegen muß die KCN-Lösung mit Salzsäure neutralisiert oder wenigstens in einen pH-Bereich gebracht werden, in welchem weder die H-Ionen noch die OH-Ionen die bekannten Wirkungen auf tierische Gewebezellen entfalten. Bringen wir also flüssig gezüchtete Fibroblasten in ein Versuchsmedium aus Ringerlösung und Neutralrot, dem wir eine sogar 0.05% neutralisierte Kalium-Cyanidlösung zusetzen, so erzielen wir noch eine typische granuläre Vitalfärbung, die erst mit dem Absterben der Zellen zurückgeht. Die bald eintretende Zellschädigung geht nicht mit Diffus-Färbung von Kern oder Zytoplasma einher. Benutzen wir geringere KCN-Konzentra-



tionen, so tritt granuläre Vitalfärbung ein, die von nicht kürzerer Dauer ist als bei den Kontrollkulturen.

Bringen wir Kulturzellen für mehrere Stunden in eine etwa 0.01% KCN enthaltende Ringerlösung und hierauf in ein entsprechendes Farbbad, so tritt noch granuläre Vitalfärbung ein. Ich züchtete außerdem noch Fibroblastenkulturen in einem Plasmamedium, dem ich 0.1% Kaliumcyanid zusetzte. Die Wachstumsgröße war hier sicher nicht kleiner als die der Kontrollkulturen, und die am 2, 3, 4 und 5 Tage vorgenommenen Neutralrotfärbungen zeigten normale granuläre Vitalfärbung. Wir können demnach auf Grund obiger Befunde feststellen, daß an Kulturzellen eine zumindest ebenso gute vitale Granula-Färbung bei erniedrigtem  $r_h$  wie in den Kontrollkulturen auftritt. Dagegen dürfen wir, in Übereinstimmung mit der Beurteilung ihrer Ergebnisse von Nasonov und Alexandrov, aus unseren Befunden schließen, daß der normale Lebensprozeß insbesondere die Stoffaufnahme von embryonalen Kulturzellen nicht an aerobe Lebensbedingungen gebunden ist. Dieser Befund stimmt mit den Ergebnissen einiger direkter Stoffwechselmessungen an Kulturzellen gut überein (2, 27).

Es erschien auch wichtig an tierischen Gewebezellen die Frage zu prüfen, ob nicht auch pH-Schwankungen ähnliche reversible Umschaltungen von granulärer Vitalfärbung in Diffusfärbung herbeizuführen vermögen, wie überhaupt, welche Bedeutung den Wasserionen für den Vitalfärbungsprozeß zukommt. Umso mehr, als besonders von pflanzenphysiologischer Seite Versuchsergebnisse vorliegen, nach denen (3, 26) durch Variierung des pH des Mediums, alternativ reversible Membranfärbung bzw. Vakuolenfärbung herbeigeführt werden kann. (Zu der Methode von Strugger (Epidermiszelle der Zwiebelschuppe von *Allium cepa*) sei hier bemerkt, daß die benutzten Medien von verschiedenen pH, gleichzeitig aber auch verschiedenen osmotischen Druck aufweisen. So benutzte Strugger als Medium von pH 5 destilliertes Wasser, und als solches von pH 7.50 Leitungswasser, wodurch Wirkungen verschiedener osmotischer Drucke sich mit pH-Wirkungen vergesellschaftet haben mochten. Eine Sonderung der beiden Wirkungen erscheint umso wichtiger, als Strugger bei Anwendung von Phosphatgemischen als Pufferlösungen, also bei Ausschaltung der



osmotischen Druckunterschiede zwischen destilliertem und Leitungswasser keine Reversion der Vakuolen-Färbung mehr erzielen konnte. Auch bei der Erzielung von Membranfärbung durch Glukoselösungen in dest. Wasser und Vakuolenfärbung durch Leitungswasser wäre es von Interesse zu erfahren, wie die Färbung aus Leitungswasser von pH 5 bzw. aus dest. Wasser von pH 7.50 ausfallen würde). Die Prüfung des Einflusses des pH des Mediums auf das Auftreten der Vitalgranula an in Plasmamedien gezüchteten Gewebezellen ist wegen der stark puffernden Eigenschaften des Plasmamediums so gut wie unmöglich. Wir benutzten also auch zu diesen Versuchen wie bisher flüssige austauschbare Züchtungs- und Versuchsmedien. Das Ergebnis dieser Versuche lautet dahin, daß granuläre Vitalfärbung in demjenigen pH-Bereiche des Farbbades möglich ist, in welchem die von mir andernorts (9) beschriebene antagonistische Wirkung von Kation und Anion des Wassers auf die tierischen Gewebezellen noch nicht in Erscheinung tritt. Also im pH-Bereiche, in dem die Zellen nicht unter den Erscheinungen der Gelifizierung durch Säuren bzw. der Abkuglung etc. durch Alkalien abgetötet werden, erfolgt die Aufnahme des Neutralrots in Form typischer granulärer Vitalfärbung. Es ergibt sich daraus, daß das pH des Mediums in dem sehr weiten Bereiche, in welchem die Zelle nicht unter den bekannten Erscheinungen zugrunde geht, keinen Einfluß auf die Bildung von Neutralrotgranula hat. An der gezüchteten Gewebezelle geprüft, kann also für die Auffassung der Schule von Nassanov, Alexandrov u. a., wonach auch die reversible Diffus-Färbung bei herabgesetztem  $\rho_h$  durch Gelifizierung des Kernes infolge von pH-Erniedrigung bedingt sei, keine Stütze gefunden werden. (Die hierbei beschriebene reversible Kernkonturierung mit starkem Hervortreten der Kernkörperchen fanden wir als sehr häufige Erscheinung unter der Einwirkung der verschiedensten Stoffe, auch ohne Hervorrufung reversibler Diffusfärbung bei Zusatz von Neutralrot). Granuläre Vitalfärbung tritt also in den gezüchteten Gewebezellen bei jedem pH des Mediums ein, das die Zellen nicht gleich abtötet. Die Farbe der Neutralrotgranula hängt dabei natürlich in erster Linie vom pH im Zellinnern und nicht von demjenigen des Mediums, also nicht von der Farbe des Neutralrots im Farbbad ab.

Die Gegensätzlichkeit zwischen Diffusfärbung und granulärer



Vitalfärbung dürfte dazu geeignet sein, ein wenig Licht auf das Wesen beider zu werfen. Die gezeigte, durch osmotische Wirkung herbeigeführte alternative Reversibilität beider Vorgänge spricht dafür, daß es sich in beiden Fällen um Erscheinungen handelt, die mehr weniger an Oberflächen auftreten und die sich gegenseitig ausschließen. Soviel ergibt sich wohl unmittelbar aus den mitgeteilten Versuchen. Wir haben gefunden, daß das Auftreten granulärer Vitalfärbung untrennbar an einen Zustand des Protoplasmas geknüpft ist, bei dem diffuse Anfärbung unmöglich ist. Jede Theorie der granulären Farbspeicherung und der Stoffaufnahme muß diese Tatsache zu erklären vermögen. In erster Annäherung ist daran zu denken, daß für die kataphoretische bzw. Ionenwanderung der aufgenommenen Farbbasen an das entgegengesetzt geladene »Vitalgranulum« ein beträchtlich hohes Potential nötig ist zwischen den die Farbstoffteilchen anziehenden Vitalgranula und dem dieselben abstoßenden übrigen Zytoplasma, den Nachbarstellen des Granulums. Dabei ist natürlich die Farbation des basischen Farbstoffes von seinen Wasserionen verschieden und vom pH nicht direkt abhängig. Sinkt dieser Potentialsprung (durch permeiernde fallende und entladende Stoffe und vielleicht auch durch abnorme Quellung), so werden die Farbstoffteilchen weder vom Gesamtprotoplasma genügend abgestoßen, noch von den spezifischen Orten genügend angezogen. Es erfolgt dann eine Anreicherung des Farbstoffes durch Protoplasma und Kern, so wie das durch tote Zellen, Fasern etc. geschieht, wobei sog. mechanische Adsorption oder andere aber viel schwächere Nebenvalenzen der Teilchen in Wirksamkeit treten können, nachdem die abstoßenden Kräfte infolge Ladungsverminderung und Störung des Ladungsmosaik unwirksam geworden sind. Die Reversion der Diffusfärbung in Vitalfärbung ist demnach an die Wiederherstellung des Ladungsmosaik im Zytoplasma durch rechtzeitige Beseitigung der sie zerstörenden Faktoren gebunden. Dieselben Faktoren, die die Potentialunterschiede der Zelle bis unter einen kritischen Punkt nivellieren, verhindern die elektrische Adsorption von Farbstoffteilchen an das Vitalgranulum, wozu ein besonders hoher Potentialsprung nötig ist. Vielleicht könnte auch dabei eine Verminderung der DEK durch Wasser eine ladungsverringende Rolle spielen. Denn das Protoplasma hat ja eine noch höhere DEK als Wasser; ihre Herabsetzung durch Wasser müßte



auch Potentiale ionischen Ursprungs verringern, denn sie verringert ja die Dissoziation der Salze. Aber in Gefolge davon müßten auch Potentiale, die ihren Ursprung in einem chemischen Prozeß haben, durch eine Störung der die chemische Reaktion aktivierenden Oberflächen-Kondensation des Systems, vermindert werden. Ferner: bei im Medium erhaltenem osmotischem Druck permeieren osmotisch unwirksame Stoffe elektiv ohne Lösungsmittel, es bestehen dann die Bedingungen zur Entstehung von kondensierten Systemen, von spezifischen Adsorbaten (Vitalgranula). Bei erniedrigtem osmotischem Druck im Medium würde das Diffusionsgleichgewicht, durch etwaige Aufnahme von Gelöstem aus dem Lösungsmittel heraus in die Zelle, noch mehr gestört werden: die Bedingungen für die Entstehung von kondensierten Systemen, von Adsorbaten in der Zelle sind also ungünstig, es stellen sich dem einfach osmotische Kräfte, die Wärmebewegung entgegen. Wir glauben auch mit dieser Auffassung an die bekannten Vitalfärbungstheorien (v. Möllendorff, Gicklhorn, Chambers und Spek, H. Pfeiffer, Chlopin, Kedrovsky) anknüpfen zu dürfen. Denn wird z. B. mit Gicklhorn u. a. die Speicherung als eine Art Entmischung, das Vitalgranulum als Entmischungsprodukt aufgefaßt, so zeigen die hier mitgeteilten Tatsachen in besonders augenfälliger Weise, wie die Vitalgranula als Entmischungsprodukt mit der Erniedrigung des osmotischen Druckes im Medium verschwinden und mit seiner Wiedererhöhung wiederkehren. Diese Auffassung vermag aber noch nicht restlos die Gegensätzlichkeit von Diffusfärbung und Vitalfärbung aufzuklären<sup>1)</sup>.

### Zusammenfassung.

1) Durch Herabsetzung des osmotischen Druckes im Außenmedium von Gewebezellen kann man die durch basische Farbstoffe (Neutralrot) erzeugte granuläre Vitalfärbung in eine Diffusfärbung von Zytoplasma und Kern umschalten.

<sup>1)</sup> Es wäre von diesem Gesichtspunkte aus von Interesse zu ermitteln, inwieweit eine Analogie besteht zwischen der hier mitgeteilten reversiblen Umschaltung von granulärer in Diffusfärbung durch Änderung des osmotischen Druckes im Medium von Gewebezellen und den von Gicklhorn (3) beschriebenen ebenfalls durch osmotische Druckschwankungen mit Hilfe von Plasmalyticis an der Schneebeere (der Frucht von *Symphoricarpus racemosus* L.) u. a. hervorgerufenen Erscheinungen, die er als Folge einer reversiblen Entmischung des Zellsaftes deutet.



2) Durch rechtzeitige Wiedererhöhung des osmotischen Druckes kann die granuläre Vitalfärbung bei gleichzeitigem Verschwinden der Diffusfärbung wiederkehren. Auf diese Weise kann man an denselben Zellen mehrmals hintereinander Reversionen granulärer Vitalfärbung in Diffusfärbung herbeiführen.

3) Bestimmte Elektrolyte vermögen auch bei stark erniedrigtem osmotischem Druck im Medium granuläre Vitalfärbung aufrecht zu erhalten.

4) Die Umschaltung der beiden Arten der Farbaufnahme durch osmotische Druckveränderung geschieht durch neuerliche, dem neugesetzten osmotischen Druck adaequate Farbaufnahme aus dem Medium und nicht durch intrazelluläre Wanderung von freigeswordenem Farbstoff.

5) Durch Variieren des pH des Mediums kann bei tierischen Gewebezellen keine Umschaltung von granulärer in Diffusfärbung oder umgekehrt herbeigeführt werden. Innerhalb von pH-Bereichen des Mediums, die das Leben der Gewebezellen zulassen, kann ein Einfluß der Wasserionen auf die Entstehung granulärer Vitalfärbung nicht festgestellt werden.

6) Durch Abschluß der Zufuhr von molekularem Luftsauerstoff, wie auch durch Behandlung der Kultur mit starken neutralisierten KCN-Lösungen, kann keine Verhinderung der Entstehung von Neutralrotgranula noch eine Umschaltung in Diffusfärbung erzielt werden. Kulturzellen können unter anaeroben Verhältnissen gut leben und wachsen.

7) Die prompte Reversibilität der granulären Vitalfärbung läßt die Annahme einer (mindestens im ersten Stadium) adsorptiven Bindung des Farbstoffes im Vitalgranulum als naheliegend erscheinen.

Die Ursachen der Gegensätzlichkeit von granulärer und Diffusfärbung, die zum Verständnis der Farb- und Stoffaufnahme beizutragen geeignet scheinen, werden diskutiert.

Skłodowska-Curie Radium-Institut. Warszawa.

---

### Literatur.

- 1) Alexandrov W., *Protoplasma* 17, 161 (1933). — 2) Fischer A., *Ergebnisse Physiol.* 35, 82. — 3) Gieckhorn J., *Kolloidchem. Beihefte* 28, 367. — 4) Gieckhorn J., *Protoplasma* 2, 1 (1927). — 5) Gieckhorn J., *Protoplasma* 10, 345 (1930). — 6) Grossfeld H., *Archiv. exp. Zellf.* 16,



317 (1934). — 7) Grossfeld H., Archiv. Entw. Mech. 131, 324 (1934). — 8) Grossfeld H., Z. Zellforsch. u. mikr. Anat. 20, 730 (1934). — 9) Grossfeld H., Z. Zellforsch. u. mikr. Anat. 25, 312 (1936). — 10) Grossfeld H., Nature (London) 31, 138 (1936). — 11) Grossfeld H., Protoplasma 26, 497 (1936). — 12) Grossfeld H., C. r. Soc. biol. (Paris) 58, 747 (1931). — 13) Grossfeld H., C. r. Soc. biol. (Paris) 58, 846 (1931). — 14) Höber R., Naturwiss. 24, 196 (1936). — 15) Kedrovsky B. Z. Zellforsch. u. mikrosk. Anat. — 16) Keller R., Kolloidchem. Beihefte 28, 219. — 17) Levi Giuseppe, Ergebn. Anat. u. Entw. 31. — 18) Möllendorf W. v., Kolloid Z. 23, 158. — 19) Nassonov D., Protoplasma 17, 218 (1933). — 20) Needhem and Needhem, Protoplasma 17, 218 (1933). — 21) Pfeiffer H., Protoplasma 8, 261 (1929). — 22) Pfeiffer H., Protoplasma 1, 434 (1927). — 23) Pfeiffer H., Arch. exp. Zellf. 19, 139 (1937). — 24) Profimowitsch W., Biol. Z. 5 (1936). — 25) Shiwago, P. I. etc. Arch. Russ. d'Anat. 14, 263 (1935). — 26) Strugger, Z. Zellf. u. mikrosk. Anat. (1936). — 27) Wind F., Biochem. Z. 179, 384 (1926).



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

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

N° 1—5 B I, 1937.

- Badian J.** Sur la cytologie des Levures (Planche 5).  
**Górski F.** Recherches sur l'utilisation des antipodes optiques de l'acide racémique par *Aspergillus Fumigatus* Fres.  
**Krzemieniewski H. und S.** Die zellulosezersetzenden Myxobakterien (Planches 2—4).  
**Krzemieniewski H. und S.** Über die Zersetzung der Zellulose durch Myxobakterien.  
**Lilpop J.** New plants from the Permocarboneous Rocks in Poland. I. (Planche 1).

N° 1—4 B II, 1937.

- Dembowski J.** Beiträge zum Instinktproblem (Planche 5).  
**Gallera J.** Sur le téloblaste des embryons platyneuriques (Planches 3—4).  
**Gatty-Kostyal M., Paszkowska M. and Zakrzewski Z.** The Influence of Certain Organic Substances on the Growth of Transplanted Tumors.  
**Grossfeld H.** Stoffaufnahme und Amöboidbewegung. I. Die Bedingungen des Auftretens sichtbarer Amöboidbewegung an absterbenden Gewebezellen.  
**Janiszewska J.** Das dritte und das vierte Larvalstadium von *Contracaecum aduncum* (Rud) aus dem Darne der Flunder, *Pleuronectes flesus* L. (Planche 1).  
**Niesiołowski W. und Wojtusiak R. J.** Über die Verbreitung der geographischen Formen von *Erebia manto* Esp. in den Karpathen, mit besonderer Berücksichtigung der Ostkarpathen ((Planche 7).  
**Swienty W.** Über ältere Entwicklungsstadien der Arterien und Venen im Flügel des Huhns.  
**Tur J.** Sur l'étendue de l'action néoplasmodique de la cautérisation blastodermique (Planche 2).  
**Zacwilichowski J.** Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten eines erworbenen Merkmales bei den Nachkommen des Schwammspinners *Lymantria dispar* L. (Planche 6).



## TABLE DES MATIÈRES.

Mai—Juillet 1937.

	Page
J. MARCHLEWSKI. Guinea-fowl ( <i>Numida meleagris</i> L.) and Common Fowl ( <i>Gallus domesticus</i> L.) Hybrids Obtained by Means of Artificial Insemination (Planche 8) . . .	127
J. WILBURG. Das Überleben der Gewebe in der Temperatur von +38° C nach dem Tode des Hühnerembryos . .	131
H. SZARSKI. The Blood Vessels of the Thymus Gland in Some of the Salientia (Planche 9) . . . . .	139
S. SKOWRON, Z. WICIŃSKI und S. ZAJĄCZEK. Untersuchungen über den Einfluß von Mangel und Überschuß der Schilddrüsenhormons im mütterlichen Organismus auf die Schilddrüsen der Föten sowie über den Einfluß einer teilweisen Entfernung der Nebenschilddrüsen auf den Geburtsakt (Planche 10) . . . . .	151
B. ŚWIDERSKI. Die Faunen der Czarny Czeremosz-Szybeny-klippen (Planche 11) . . . . .	169
F. ROGOZIŃSKI. Les caroténoïdes et la chlorophylle dans la digestion du ruminant . . . . .	183
J. GALLERA. Sur le développement de l'ectoderme extra-neural chez les Oiseaux (Planche 12) . . . . .	195
W. JUSZCZYK. Die Verteilung der Chromatophoren in der Haut eines normalen und flavistischen <i>Pelobates fuscus</i> Laur. (Planche 13) . . . . .	215
St. MARKOWSKI. Über die Entwicklungsgeschichte und Biologie des Nematoden <i>Contraecaecum aduncum</i> (Rudolphi 1802) (Planches 14—15) . . . . .	227
H. GROSSFELD. Methode der Permeabilitätsbestimmung tierischer Gewebezellen . . . . .	249
H. GROSSFELD. Osmotischer Druck und Vitalfärbung . . . .	261

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).**