

99
N° 1—8 B II

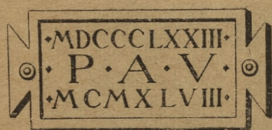
JANVIER—OCTOBRE

1947

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

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

SUBVENTIONNÉ PAR LE CONSEIL DES MINISTRES ET LE MINISTÈRE DE L'INSTR. PUBLIQUE



CRACOVIE
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ

1948

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 Kopernika 7).

Nakładem Polskiej Akademii Umiejętności.

Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem K. Kiecia.

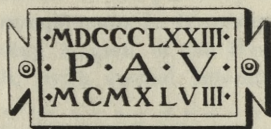
M-19895

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

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

ANNÉE 1947

SUBVENTIONNÉ PAR LE CONSEIL DES MINISTRES ET LE MINISTÈRE DE L'INSTR. PUBLIQUE



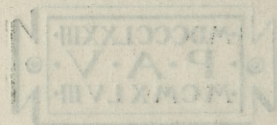
CRACOVIE
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ

1948

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE POLONAISE
DES SCIENCES ET DES LETTRES
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES
SÉRIE B - SCIENCES NATURELLES (II)

ANNÉE 1947

Publié par le Conseil des Ministres et le Ministère de l'Enseignement Supérieur et des Sciences
à la demande de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres
Sous l'égide de l'UNESCO



CRACOVIE
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ
Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządkiem K. Kiecia.

M-34239

Table des matières.

	Page
T. Vetulani: Premières observations sur la régénération du Tarpan sylvestre européen dans la forêt vierge de Bialowieża. (Planches 1—7).	1
Z Malaczyńska-Suchcitz: Glycogen in the tegumental tissues of the crayfish (<i>Potamobius Astacus</i> L). (Plates 8—9).	23
R. J. Wojtusiak: Investigations on the vision of infra-red in Animals. I. Investigations on water tortoises.	43
St. Koziół: Vascularisation du labyrinthe de la truite arc-en-ciel (<i>Salmo irideus</i> Gibb.).	63
A. Pigoń: Some physico-chemical properties of the vacuoles in the macrophages of the frog (<i>Rana esculenta</i> L.)	75
Z. Grodziński: Le développement des vaisseaux sanguins dans le cerveau de la truite arc-en-ciel (<i>Salmo irideus</i> Gibb.).	99
H. Szarski: On the thermal death of the chicken embryo.	133
H. Szarski: On the blood-vascular system of the Salientia	145
A. Bursa, H. Wojtusiak and R. J. Wojtusiak: Investigations of the bottom fauna and flora in the Golf of Gdańsk made by using a diving helmet. Part II.	213
G. Górkiewicz: Les vaisseaux sanguins des muscles du tronc de la truite (<i>Salmo irideus</i> Gibb.)	241
St. Koniar: Le système des principaux vaisseaux sanguins du tube digestif de la truite (<i>Salmo irideus</i> Gibb.) et du barbeau (<i>Barbus fluviatilis</i> Ag.)	261
A. Mikłaszewska: Experiments on the plasticity of instinct in caterpillars of <i>Nymphula nymphaeata</i> L. (<i>Lepidoptera-Pyralidae</i>).	277
L. Sikorowa: The Bordering Region of the Head and Trunk of the <i>Salmo irideus</i> Gibb. (with special references on its vascular system).	299
B. Ferens: On the Ability of Colour-Discrimination of the Tawny Owl (<i>Strix aluco aluco</i> L.) (Plate 10).	309
E. Kurzmann and M. Paschma: The Development of the subchordal sinus in <i>Lampetra Wilderi</i>	337
J. Rymar: Un nouveau groupe de composés organiques modifiant le dessin des ailes des Lépidoptères d'après la méthode d'injection de Zaćwilichowski (Planches 11—12)	347

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE POLONAISE DES SCIENCES ET DES LETTRES
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES
SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES (II)

1947

Pierwsze spostrzeżenia na drodze do regeneracji europejskiego tarpana leśnego w Puszczy Białowieskiej. O zmianie maści u koni bielejących w zimie. — Premières observations sur la régénération du Tarpan sylvestre européen dans la forêt vierge de Białowieża.

Sur le changement de couleur des chevaux à robe blanche d'hiver.

Mémoire

de **M. T. VETULANI,**

présenté le 10 Février 1947 par M. H. Hoyer m. t.

(Planches 1—7)

1. Remarques générales sur la réserve des Koniks dans la forêt vierge de Białowieża.

Comme il a déjà été rapporté ailleurs (voir Vetulani 36 et 37), il a été créé en 1936 sur mon initiative dans la région de la forêt vierge de Białowieża une réserve spéciale pour les Koniks primitifs polonais (petits chevaux de paysan). A l'aide de ces Koniks polonais, on a essayé de régénérer dans cette réserve son ancêtre sauvage, notamment le Tarpan sylvestre européen, dont les derniers représentants en Europe ont vécu le plus longtemps, jusqu'à la deuxième moitié du XVIII^e siècle, justement dans cette forêt vierge.

Le 9 Février 1936, on a provisoirement mis en liberté les premiers spécimens typiques du Konik polonais dans l'enclos provisoire du district forestier de Gródek. Ils provenaient de la région de Biłgoraj (voïvodie de Lublin), où, d'après des témoignages dignes de foi, les derniers Tarpan sylvestres sauvages de la forêt vierge de Białowieża ont été attelés et domestiqués de force par les paysans de cette localité au début du XIX^e siècle.

Dans la nuit du 5 au 6 Juillet 1937, les Koniks furent transportés de cet abri provisoire dans leur nouvelle réserve qui occupait

pour le moment 28 hectares de superficie, qui se trouve dans la région forestière de Zwierzyniec, dans les environs de la fameuse réserve à bisons. Plus tard la superficie a été agrandie jusqu'à 36 ha.

Pendant les trois premières années de son existence, le nombre des Koniks introduits dans la réserve s'est monté à 19 spécimens (5 étalons et 14 juments) du matériel de départ ancien et à 17 poulains nés dans la réserve pendant les années 1937—39. Le matériel de départ provient du district de Biłgoraj (12 spécimens), 3 spécimens des régions nord-est de la Pologne d'avant guerre (districts de Braślav et Świąciany, 3 de la Galicie (districts de Jaworów et de Krynica) et 1 de la Polésie (district de Drohiczyn). Pour ce qui concerne leurs marques distinctives extérieures, tous ces spécimens de Koniks correspondent au type du Tarpan sylvestre, ainsi que je l'ai décrit et démontré en m'appuyant sur mes recherches faites jusqu'à ce jour; ils se distinguent par leur robe couleur sauvage, pour la plupart gris souris avec des raies noires tigrées du tronc, du garrot et des extrémités.

En s'appuyant sur ce matériel de départ, on a essayé de réintroduire dans la forêt vierge de Białowieża le Tarpan sylvestre sauvage par la voie d'élevage à l'état pur et d'accouplement incesté, ainsi qu'à l'aide d'une sélection rigoureuse nécessaire au but recherché. On se propose à l'avenir de mettre en liberté dans le Parc National de Białowieża un troupeau de Koniks typiques de la réserve, pour leur donner ainsi la meilleure occasion de devenir définitivement sauvages, dans des conditions de vie et parmi la faune sauvages de la forêt vierge.

Il faut désigner comme demi-sauvage l'élevage actuel du Konik dans la réserve. Outre des hangars ordinaires ou en forme de croix, ouverts d'un côté, il ne peut être question d'aucun autre abri. Mais même ces hangars ouverts ne sont recherchés par les Koniks qu'en hiver, quand il fait de la pluie ou du vent; autrement, même en hiver, ils passent leurs nuits de préférence dans les taillis ou les buissons; c'est là qu'ils trouvent aussi en été le meilleur abri contre les rayons brûlants du soleil et les piqûres des insectes (planche 1, fig. 1). Des poils d'hiver, extrêmement allongés et épais, qui sont surtout particuliers aux poulains nés déjà dans la réserve de parents typiques, rendent aux Koniks de la réserve l'existence plus favorable dans les conditions rigoureuses de cet élevage demi-sauvage. Aussi chez les spécimens

adultes et plus âgés du matériel de base, les poils d'hiver qui sont plus épais et plus allongés que dans les conditions de l'élevage domestique, démontrent-ils les premiers essais d'adaptation aux conditions naturelles de la vie. Outre quelques soins sporadiques donnés aux sabots agrandis, les Koniks de la réserve ne sont soumis à aucun autre soin. Pendant la saison de pâturage, leur nourriture se compose exclusivement d'herbages luxuriants dans les prairies sylvestres, ainsi que de feuilles et de branches des buissons. Ce n'est qu'à la fin de l'automne, en hiver et au début du printemps que, vu l'espace limité qui leur est réservé, on ajoute à leur nourriture du foin sec, des racines et des bulbes (betteraves et carottes), ainsi que de petites quantités d'avoine. Pendant le dernier hiver (1938—39) l'avoine fut dans une mesure considérable et avec les meilleurs résultats remplacée par des glands. L'abreuvement se produit avec de l'eau de puits qui se trouve toujours dans des auges et qui est souvent changée. Les Koniks ont aussi toujours à leur disposition des morceaux de sel. La direction scientifique de l'élevage des Koniks dans la réserve de Białowieża se trouve entre mes mains, sous la surveillance de l'Institut des Recherches de la Direction Générale des Forêts de l'Etat Polonais, ainsi que de la Direction des Forêts de l'Etat à Białowieża et je l'exerce en restant en contact étroit avec les autorités de ces institutions, ainsi qu'avec l'Union des Amis de la Réserve des Koniks à Białowieża, organisée grâce à l'initiative du général St. Dembiński, chef de la remonte. L'administration de la réserve est exercée par l'Inspection de la Vénérerie de la Direction des Forêts de l'Etat à Białowieża; l'élevage et la surveillance médico-vétérinaire dépendent du Laboratoire Biologique local. Deux gardiens permanents sont engagés pour la surveillance immédiate des Koniks de la réserve qui, d'après mes ordres et sous le contrôle permanent du Laboratoire Biologique, inscrivent dans un journal spécial toutes les observations de plus grande importance concernant les manifestations de vie et de la conduite des Koniks confiés à leur garde. Ces notices précises et systématique des gardiens, complétées par les observations du directeur de l'Institut Biologique faites pendant ses nombreuses visites de contrôle dans la réserve, ainsi que par mes propres observations faites durant mes fréquentes visites à Białowieża, seront plus tard transcrites dans des livres spéciaux d'évidence (régistres

d'élevage et livre d'évidence pour observations biologiques) et me serviront à l'avenir de base pour une étude spéciale sur l'ensemble du procès d'acclimatation, ainsi que des progrès de la transformation graduelle et du retour à l'état sauvage du Konik de la forêt vierge.

2. Le changement de couleur des Koniks polonais, blancs en hiver

Tout en réservant pour des publications futures toutes les autres observations d'ordre biologique et d'élevage des Koniks de la réserve, je voudrais examiner ici seulement le phénomène extrêmement caractéristique et complètement inconnu dans la littérature du passage périodique à la blancheur d'hiver observée par moi chez quelqu'uns de ces Koniks. D'après Schwalbe (29), cette dernière n'a été observée jusqu'à présent que chez de tels animaux vivant à l'état sauvage comme par exemple: le renard des zones glaciales (*Canis (Alopex) lagopus* L.), l'hermine (*Mustela (Mustela) erminea* L.), le lièvre polaire américain (*Lepus arcticus* Leach (*glacialis*)), le lièvre alpin (*Lepus varronis* Mill.), le rat de Norvège (*Dicrostonyx Myodes (torquatus* Pall.), la perdrix blanche (*Lagopus lagopus*. (L.) Br.) ainsi que le loup polaire (*Canis tundrae* Mill) et le renne (*Rangifer tarandus* L.).

Il faut faire ressortir ici, que ce phénomène chez les Koniks est apparu comme résultat de l'accouplement d'un seul et même étalon typique »Liliput«, qui garde même en hiver sa couleur caractéristique gris-souris foncé (noire sale), avec plusieurs juments typiques, qui non plus ne font paraître aucune blancheur d'hiver. Cette circonstance ainsi que l'accroissement de cette marque distinctive (blancheur d'hiver) par l'accouplement inceste, me laissèrent supposer qu'il faut voir dans le phénomène du blanchissement périodique de certains Koniks un atavisme survenu comme suite d'une heureuse union accidentelle des gènes de nature polymérique ou polygénique, dont dépend le signe distinctif que nous examinons et qui, de nos jours, sont répandus et cachés parmi la population des Koniks polonais. J'ai remarqué pour la première fois tout-à-fait par hasard ce phénomène du blanchissement d'hiver chez un étalon gris-souris clair de 3 ans, »Tref«, dans la ferme expérimentale de l'Université des Jagellons, à Mydlniki, près de Cracovie,

où il est né en 1933 comme produit de l'accouplement inceste, étant le fils du vieil étalon »Liliput« mentionné au début et provenant du district de Biłgoraj et de sa fille gris-souris clair typique »Liliputka«.

Comme je l'ai déjà dit ailleurs (voir *Vetulani* (36)), mon attention a été attirée pendant mon séjour à Mydlniki au début de Janvier 1936 par la présence, que je n'avais jamais observée auparavant, de poils blancs isolés et disséminés parmi les poils gris-souris sur le tronc, l'encolure et les parties supérieures des extrémités de l'étalon »Tref«. Je ne pouvais m'expliquer alors ce phénomène autrement qu'en admettant une certaine ressemblance entre »Tref« et son père, en même temps son grand-père »Liliput«, chez lequel apparaissaient en certaines saisons des poils blancs pareils, disséminés isolément parmi ses poils pigmentés foncés. Une circonstance heureuse amena bientôt le mot de l'enigme. Quelques semaines plus tard, le 13 Février 1936, je revins à Mydlniki pour y montrer à mon hôte, le professeur Dr. O. Antonius de Vienne, les deux étalons (Koniks) gris-souris (»Liliput« et »Tref«), destinés comme étalons pour la réserve en cours d'organisation à cette époque. A mon grand étonnement, l'étalon »Tref« n'apparut pas alors dans sa robe gris-souris claire, dans laquelle je l'avait connu jusqu'alors (planche 6. fig. 2), mais dans une robe d'hiver tout-à fait extraordinaire, presque blanche, comme neige et seulement par endroits en robe d'hiver épaisse blanc-sale (voir planche 7, fig. 1.). Cette robe blanche d'hiver, ainsi que cette couleur blanche, s'étendaient chez lui sur tout le tronc, l'encolure, la partie inférieure de la tête, les parties supérieures des extrémités et aussi, quoiqu'à un moindre degré, sur la base de la queue aux poils courts semblables à une brosse. Les poils du devant de la tête, du côté des lobes des oreilles, des parties inférieures des jambes et les poils protecteurs (le toupet, la crinière et la longue queue) seuls gardaient leurs poils pigmentés foncés et faisaient même l'impression d'être plus intensivement pigmentés qu'en été.

Après un examen microscopique, ces poils d'hiver blancs-neige se sont trouvés être des poils sans pigments, dont les canaux contiennent de la moelle, plus ou moins ondulés, de 25—30 mm de longueur, tandis que les poils blancs-sales de 40—45 mm de longueur au cou se distinguent des premiers, outre par leur plus grande longueur, par la présence d'un pigment brun, mais seule-

ment au bout des poils. Ces données concrètes se rapportent aux échantillons de poils pris le 7 Avril 1936, lorsque chez »Tref« la couleur gris-souris de sa robe d'été perçait au fur et à mesure qu'il perdait de plus en plus sa robe blanche d'hiver.

D'après les informations du directeur de la ferme expérimentale de Mydlniki, le Dr. Płoski, et surtout d'après les rapports sur place du personnel d'écurie, il résulte que la blancheur d'hiver, constatée le 13 Février 1936 chez »Tref« apparaît chez lui périodiquement tous les ans, avec des gradations différentes qui correspondent à la rigueur de l'hiver, et qu'elle est également caractéristique, quoiqu'à des moments un peu plus tardifs, pour sa soeur cadette »Czajka«, et, à un moindre degré pour leur mère à tous deux »Liliputka« (voir planche 2, fig. 1—3). Pour ce qui concerne la jument-konik »Czajka«, j'ai observé, par exemple en été 1936, que la couleur de ses poils, étant encore gris-souris, se trouvait déjà à la fin du mois dans une phase de transition, semblable à une mosaïque, pour se transformer en blancheur d'hiver caractéristique. Encore le 7 Avril la robe d'hiver de cette jument se trouvait dans la même phase de blancheur que celle de son frère »Tref« le 13 Février. A cause de la distance où je me trouve, mes observations n'avaient qu'un caractère accidentel et les faits dont je viens de parler ne se rapportent qu'aux jours, où j'ai eu l'occasion de contrôler par hasard le cours de ces phénomènes caractéristiques.

Le phénomène décrit chez les descendants de l'étalon »Liliput« et encore renforcé par l'accouplement entre proches parents, ainsi que le changement périodique de poils et de couleur, lorsque la robe d'été gris-souris est remplacée par une robe blanche d'hiver, m'ont, cela va sans dire, décidé à acquérir pour l'élevage de la réserve de Białowieża, non seulement le vieux et précieux »Liliput«, ce dernier »Mohican« de race pure du Konik polonais, mais encore toute sa descendance blanc d'hiver¹⁾.

Malgré l'âge avancé (plus de 20 ans) de l'étalon »Liliput« et son état asthmatique, dû au lourd travail pendant sa jeunesse dans des conditions de vie très rigoureuses dans une petite ferme

¹⁾ L'étalon »Liliput«, ainsi que »Tref« étaient sur le point d'être éloignés de la ferme expérimentale »Mydlniki«. Au dernier moment, on les garda sur mes prières instantes, après qu'on eut constaté un manque absolu de matériel mâle dans le district de Bilgoraj et dans d'autres régions.

de paysans du district de Biłgoraj, ce vieil étalon s'est montré extrêmement précieux pour l'élevage actuel dans la réserve. Il représente très fidèlement le type du Tarpan sylvestre (voir son portrait chez *Vetula ni* (36)), il se distingue encore par un instinct grégaire très remarquable et une très bonne capacité de reproduction. Sa valeur toute spéciale consiste en ce que nous lui sommes redevables, à lui et à son type de gène, de la connaissance du phénomène jusque-là tout à fait inconnu chez les chevaux de la blancheur d'hiver périodique.

Il s'est déjà montré dans la forêt vierge de Białowieża que »Liliput« a produit une descendance d'un blanc d'hiver non seulement par accouplement avec sa fille »Liliputka II«, mais aussi avec d'autres juments de la réserve non-apparentées avec lui, du même type du Tarpan sylvestre que lui.

Des trois de ses pouliches nées dans la réserve en 1937, la jument gris-souris »Majdanka« (fille de la jument gris-souris »Myszka«) et la jument couleur renard avec raies noires foncées »Borówka« (voir planche 3 et 4), fille de la jument gris-souris »Biłgorajka« se distinguent par la blancheur d'hiver périodique déjà pendant le deuxième hiver, en contraste avec la jument gris-souris »Pustocha« (fille de la jument gris-souris foncé »Puszcza«).

Des quatre poulains de la réserve de l'étalon »Liliput« du croît de 1938, la blancheur d'hiver a paru chez trois pendant l'hiver 1938/39, notamment chez la »Pasięka« gris-souris (fille de la jument »Puszcza«), chez le »Wywał« gris-souris (fils de la »Wilczyca«, brun-loup) et chez la »Borowina« brunâtre gris-souris (fille de la jument aubère »Biłgorajka«); seulement chez la »Dubitka« (fille de la jument aubère »Dziducha«) la blancheur d'hiver n'a pas paru. Chez le »Mostyr«, gris-souris aussi, qui est jusqu'à présent le seul descendant de l'étalon »Tref« (fils de la jument »Myszka« gris-souris) de l'année 1938, la blancheur d'hiver caractéristique s'est montrée pendant l'hiver dernier (voir planche 6, fig. 3). J'ai déjà commencé un ouvrage scientifique dont le sujet est le blanchissement caractéristique des Koniks polonais du type Tarpan sylvestre. Je voudrais seulement signaler ici, que d'après des observations systématiques faites pendant le dernier hiver (1938/39) sur le changement de couleur chez le Konik-étalon »Tref« (voir planche 1, fig. 2 et 3 et planches 5 et 6) et chez la jument »Borówka« (voir planches 3 et 4) qui ont été même

amenés dans ce but de la réserve à Poznań, ce changement s'effectua autrement que je ne l'avais d'abord indiqué pour »Tref«, en m'appuyant sur des observations sporadiques (voir Vetulani (36)). Car l'apparition de la robe blanche d'hiver n'est pas causée par les poils d'hiver allongés épais et sans pigment couvrant les poils d'été courts et pigmentés, mais par la perte antérieure plus ou moins rapide des poils de la génération d'été, considérablement allongés et parfois en partie pigmentés, ce qui a eu lieu l'année 1939 pendant la deuxième moitié de Février chez »Tref« et dans le courant de Mars chez »Borówka«. Après une durée de plusieurs semaines de la robe blanche d'hiver, dont il est évident, que l'intensité et la durée dépendent de l'intensité de l'hiver, elle est rejetée avec une vitesse qui dépend du cours et des procès atmosphériques du printemps. Comme résultat, la robe d'été courte et pigmentée paraît alors dans toute sa magnificence et reste dans cet état pendant tout l'été jusqu'à l'automne, ensuite elle s'allonge vers l'hiver, tombe et finalement est remplacée, plus ou moins rapidement ou progressivement, par la robe blanche d'hiver, comme il a été décrit plus haut. L'influence indubitable du facteur climatérique sur le cours du procès décrit est clairement prouvée par le fait que, par exemple, la blancheur d'hiver chez l'étalon »Tref« a été beaucoup moins intense (voir planche 5, fig. 2) que l'année précédente, ou bien en 1935/36 que pendant l'hiver dernier (1938/39) très doux et pas typique, quand la presse polonaise avait signalé déjà dans la première moitié de Février le retour des cigognes en Volhynie, ce qui n'avait pas eu lieu en Pologne depuis 1912 (voir planche 7, fig. 1.). Pendant cet hiver tempéré, ce n'est pas la blancheur de neige qui domina dans la robe d'hiver de cet étalon, mais les poils d'un blanc-sale et, en plusieurs endroits du tronc, les poils non pigmentés de la génération d'hiver commencèrent à tomber presque en même temps, que les poils pigmentés de la génération d'été, devenus entre-temps allongés. Chez la »Borówka« la robe d'hiver du tronc montra, outre les parties blanches, aussi de grandes parties roses-pâles (planche 4, fig. 1.)

3. Le caractère atavistique du blanchissement d'hiver du Konik polonais

Comme je l'avais déjà mentionné auparavant, il m'avait semblé probable dès le début, vu l'analogie des phénomènes décrits avec

la périodicité caractéristique des mammifères et des oiseaux du Nord, que chez mes Koniks la blancheur d'hiver est apparue comme un signe distinctif atavistique grâce à des accouplements de spécimens typiques, réussis avec succès. Pour tirer cela au clair, je me suis mis à étudier les indications sur la couleur des Tarpan sauvages, en m'appuyant sur la littérature disponible. Une autre circonstance encore m'a encouragé à le faire. Lors de mon voyage d'études en Allemagne et en Suisse, en été 1938, j'avais communiqué mes observations et mes suppositions à cet égard aux zoologistes de Berlin et de Munich, mais on m'alléguait, comme argument contraire, que dans aucune littérature qui nous était parvenue jusqu'alors il n'y avait la moindre mention de la couleur blanche chez les chevaux sauvages et en particulier chez les Tarpan.

Cette remarque sur une telle lacune dans la littérature ne me semble nullement convaincante. Sans vouloir faire ici des reproches à n'importe qui, il suffit, par exemple, de remarquer que, pendant le séjour de nos Koniks blancs d'hiver à Mydlniki qui dura plusieurs années, l'étrange changement de poils et de couleur, qui leur est particulier, y avait à vrai dire, échappé aux regards, ou bien, pour donner un exemple encore plus caractéristique, parmi les nombreux voyageurs et naturalistes, qui visitèrent la réserve du Comte Zamoyski entre Zamość et Biłgoraj vers la fin du XVII et le début du XIX siècles et y virent les derniers Tarpan sylvestres de la forêt vierge de Białowieża, il n'y eut que le seul H a c q u e t qui ait remarqué et mentionné comme une contribution scientifique extrêmement importante, le signe distinctif de ces chevaux sauvages: leur crinière courte et en brosse, grâce à quoi leur caractère sauvage a été définitivement prouvé et constaté (Voir V e t u l a n i (34)). Dans un ouvrage russe très important de K ö p p e n (23), qui jusqu'à présent n'a pas été utilisé par la récente littérature de l'Europe occidentale ou centrale, mais dont l'auteur avait prouvé déjà en 1896, donc beaucoup plus tôt qu'A n t o n i u s (2), en s'appuyant sur des recherches exactes et des données importantes, le caractère sauvage et la position zoologique particulière du Tarpan des steppes de la Russie méridionale, nous trouvons aussi de nombreuses données concernant la couleur de ce cheval sauvage. D'après ces données, la couleur typique des poils du Tarpan des steppes a, au début, c'est-à-dire dans les

premières années de sa vie, une nuance rougeâtre (bronze) qui, plus tard, passe au gris-souris avec raies noir-tigre et, à la partie inférieure des extrémités — au noir. D'après cet auteur, même pendant les mois d'hiver, Février et Mars, on a observé chez les Tarpan des steppes de la Russie méridionale des poils très allongés et raides, de couleur gris-cendre. D'après Köppen, les différentes descriptions de la couleur du Tarpan des steppes, que quelques auteurs désignent comme étant, outre gris-souris, aussi aubère et isabelle, doivent être mises sur le compte des différences d'âge, généralement pas suffisamment prises en considération. D'après l'opinion de Gmelin, Köppen déclare la couleur gris-souris comme typique et la constate chez tous les Tarpan des steppes; il remarque à ce propos que des spécimens blancs et gris-cendre sont mentionnés aussi, mais il regrette que Gmelin n'ait pas nommé les auteurs de ces communications. Il suppose que, relativement aux chevaux blancs sauvages, cet auteur avait en vue les récits d'Hérodote qui mentionne dans son Histoire les chevaux blancs sauvages, qui allaient de son temps paître autour d'un grand lac, d'où, paraît-il, prenait sa source le fleuve scythe Boh (en grec Hypanis). D'après ce que nous lisons chez Köppen, quelques philologues ont associé les données d'Hérodote sur les chevaux blancs sauvages au culte religieux, auquel on prétendait que ces chevaux étaient consacrés. Köppen ne considère pas du tout nécessaire de se servir d'une interprétation si exacte des paroles d'Hérodote et déclare simplement que le mot grec »leukos« ne signifie pas »blanc« mais »clair« et, d'après son avis, les Tarpan gris-souris, aubère ou gris-isabelle pourraient être compris sous cette dénomination.

Le savant russe Anuczyn (6) parle aussi, d'après les données de Gmelin, des mêmes chevaux blancs sauvages d'Hérodote, ainsi que des chevaux gris ou gris-terreux qui ont été signalés comme Tarpan par certains auteurs. Quoique Anuczyn polémise avec Köppen sur le caractère sauvage des derniers Tarpan des steppes de la Russie méridionale, il ne conteste pas leur existence à l'état sauvage en Russie méridionale dans les temps anciens, par exemple au XII siècle. A propos des restes dans les musées russes des deux derniers Tarpan, du caractère sauvage desquels il doute et dont l'un était brun et l'autre gris-souris foncé, Anuczyn ne partage nullement l'opinion de Köppen que la dénomination d'Hérodote

»leukos« pourrait être généralement appliquée aux différentes nuances gris-souris; il soutient, au contraire, qu'à son avis, la dénomination grecque »leukos« pourrait plutôt s'appliquer aux couleurs jaune-clair et rougeâtre, telles que: aubère, isabelle, jaune-rougeâtre et autres des ânes sauvages, des mi-ânes, ainsi qu'au cheval sauvage de Przewalski, de la Mongolie. D'après mon avis, le phénomène observé par moi et décrit ci-dessus du blanchissement périodique de certains Koniks polonais de la réserve de Białowieża jette une certaine lumière sur les essais faits jusqu'à présent par Köppen et Anuczyn pour trouver une solution du problème du cheval blanc sauvage d'Hérodote. Dans l'Histoire d'Hérodote (Livre IV, chapitre 52), nous lisons ce qui suit dans la description des pays situés au nord de la Mer noire: Le troisième fleuve, l'Hypanis (donc Boh) prend sa source dans le pays des Scythes d'un grand lac, autour duquel paissent des chevaux blancs sauvages. Ce lac est justement nommé la mère de l'Hypanis. Dans l'édition latine de cette Histoire de F. Palm, Leipzig 1839, ces chevaux blancs sauvages sont désignés sur l'Index final (Index historicus), page 289 du III volume, comme: »Equi silvestres«, donc sous le même nom latin, sous lequel E. S. Piccolomini (26) au XV s. et le chroniqueur polonais Matthias de Miechów (24 et 25), au début du XVI s. les avaient déjà désignés, en parlant des chevaux sauvages de la Pologne et de la Lithuanie.

La notice d'Hérodote, dont il a été question et qui a trouvé un écho si vif dans les cercles des naturalistes russes à cause de ces chevaux blancs énigmatiques, a aussi occupé durant de longs siècles et même encore à un plus haut degré les cartographes, justement à cause de ce lac dont, d'après Hérodote, le fleuve Boh jaillirait. Nous apprenons dans les ouvrages de Buczek (12—15) sur la cartographie polonaise du XVI siècle, que Wapowski, nommé »le père de la cartographie polonaise« a introduit sous l'influence de la »Géographie« de Ptolomée (moitié du II siècle après Christ), ou bien sous celle de la »Chorographie de la Pologne« de Dlugosz, mais surtout en s'appuyant sur l'Histoire d'Hérodote (V siècle avant Christ) sur ses cartes de la Sarmatie et de la Pologne de la première moitié du XVI s. certains soi-disant »marécages d'Amadoc« (Amadoca Palus) en forme de lac, non-existants en réalité. De ce grand lac qui, sur ses cartes, embrasse toute la région limitrophe de la Volhynie et de la Podolie, il

a conduit huit fleuves et, parmi eux, de concert avec Hérodote, aussi le fleuve Boh. Les successeurs de Wapowski, comme Gastaldi (1562) et Pograbijs, c'est-à-dire Pograbka de Pilsen (1570) ont remplacé plus tard sur leurs cartes ce grand lac-marécage par un lac ordinaire. Plus tard, l'étendue de ce lac amadocéen fut réduite par le cartographe polonais Grodecki sur sa carte géographique de l'époque vers 1562; d'après lui, ce lac formerait la région de la source seulement de deux fleuves: le Slucz et le Zbrucz.

Sur les cartes géographiques de la Pologne postérieures, de la fin du XVI siècle, qui avaient été exécutées d'après un examen direct des régions de la Pologne sud-ouest et surtout en commençant par la carte géographique non-éditée de Sarnicki, ce lac amadocéen fut enfin complètement rayé de la cartographie polonaise comme étant mythique. D'après Buczek (14), il n'y a non plus aucune trace du lac amadocéen mentionné sur la carte géographique de la Pologne dans l'Atlas soi-disant manuscrit de Madrid de l'année 1592 de l'éminent cartographe néerlandais Sgrooten. La mention de Buczek (14), d'après laquelle on doit considérer les légendaires marécages amadocéens de Ptolomée comme une réminiscence probable des marécages de la Polésie, mérite surtout d'être accentuée, ainsi que son opinion que les grands marécages de la Polésie où Hérodote a placé les sources des fleuves pontins de la Volhynie et de la Podolie, parmi lesquels le fleuve Boh, et dont Wapowski a aussi tenu compte d'après Hérodote, ne peuvent probablement être considérés que comme réminiscence de ces mêmes marécages de la Polésie.

En m'appuyant sur ladite analyse des assertions d'Hérodote, je conclus que les chevaux blancs énigmatiques d'Hérodote se trouveraient sur les territoires polonais, notamment dans les environs des marécages de la Polésie qui confinent à la forêt vierge de Białowieża et qui ressemblent à de vastes lacs surtout au printemps, au moment de la fonte des neiges. C'étaient donc les mêmes chevaux sylvestres sauvages, dont les chroniques du début du XVI siècle (voir Matthias de Miechów (24 et 25)), et même déjà celles du XV siècle (voir Piccolomini (26)) racontent, qu'ils vivaient dans les forêts de la Pologne et de la Lithuanie et sont désignés sous le nom de »Equi sylvestres«. J'ai déjà précédemment prouvé que ces chevaux sylvestres ont habité la

Pologne le plus longtemps. Il ressort en plus de cette analyse, qu'il faut attribuer la couleur blanche des chevaux sauvages d'Hérodote à leur robe d'hiver sans pigment, telle qu'elle a apparue, peut-être d'une façon encore incomplète, par la voie de l'atavisme chez certains Koniks de la réserve mentionnée, comme résultat de la sélection naturelle, opérée sur mon initiative. D'après des informations obtenues dans les cercles militaires, il paraît que dans les environs de la forêt vierge de Białowieża, un changement de couleur semblable arrive parfois parmi les chevaux des paysans de cette localité et cause même certaines difficultés pour la définition et l'inscription de leur couleur, par rapport à l'enregistrement des chevaux dans les buts militaires. Il faut donc ajouter aux autres signes distinctifs morphologiques du Tarpan sylvestre européen (*Equus cab. gmelini* Ant. forma *silvatica*) distingués par moi, encore le signe particulier de la blancheur d'hiver périodique, mais il faut tenir compte de ce que les traits caractéristiques particuliers au Tarpan sylvestre doivent être considérés comme résultat des changements que le Tarpan des steppes primaire (*Equus cab. gmelini* Ant.) a dû subir en passant à la forme sylvestre sous l'influence des changements de climat postdiluvien dans l'Europe Centrale, Septentrionale et du Nord-Ouest. Ces opinions que j'ai énoncées sur le problème du Tarpan sylvestre trouvent aussi leur confirmation dans plusieurs indications importantes, contenues dans les travaux russes de Köppen (23) et d'Anuczyn (6) que je ne connaissais pas auparavant¹⁾.

¹⁾ Tout en partageant complètement les opinions d'Antonius (2) sur la place séparée, occupée dans la zoologie par le Tarpan sauvage des steppes de la Russie méridionale (*Equus cab. gmelini* Ant.), qui trouvent, entre autres, un fondement complet dans les ouvrages russes très importants que j'ai cités plus haut, mais peu connus jusqu'à présent (voir aussi Braunér (9)), je ne puis pas, malheureusement, soutenir sa manière de voir, quand il identifie tout simplement dans ses nouvelles publications voir Antonius (4 et 5) son Tarpan des steppes »*Equus c. gmelini* Ant.« avec le cheval sauvage sylvestre européen et, en outre, le désigne »*Equus caballus* v. Brincken«.

Premièrement: Comme il ressort de mes recherches antérieures déjà décrites, la désignation latine »*Equus silvestris*«, quoique pouvant désigner en général un cheval sauvage, ne s'est jamais rapportée qu'à ceux des chevaux sylvestres de l'Europe centrale qui, adaptés au climat des forêts, ont survécu le plus longtemps en Europe dans la forêt vierge de Białowieża et qui représentent la forme du Tarpan sylvestre (*Equus cab. gmelini* Ant.

4. Le changement de couleur des Koniks polonais blanchissant en hiver servant de témoignage de leur origine et de leur apparemment à d'autres chevaux eurasiatiques

Comme nous lisons chez Czapski (16), des poils blanchâtres de différentes longueurs qui tombèrent au mois de Mai, se montrèrent déjà vers la fin de l'été, comme protection contre le froid de l'hiver chez les Tarpan des steppes qui gardèrent durant l'hiver leur couleur gris-souris (voir les communications citées de Köppen). Il est très possible, que cette part de poils blancs ait donné en résultat cette couleur grise ou gris-terreux qu'Anuczyn (6) mentionne et qui est aussi particulière aux Koniks blancs en hiver dans une certaine phase transitoire de leur blanchissement.

Nous sommes aussi redevables à Pruski (28) d'une communication importante et intéressante concernant cette question. D'après celle-ci l'ancien inspecteur du haras de l'Etat à Janów Podlaski, Eberhard, lors d'un voyage à St. Petersbourg avec un transport de chevaux pour les écuries Impériales, a examiné, en 1845, dans une clôture spéciale du parc Impérial à Gatchino, deux chevaux sauvages de la Russie méridionale, âgés de 4 ans, qui avaient été capturés à l'âge d'un an dans les steppes de la région d'Orenbourg. Entre le début de Septembre 1844 et la moitié de Mars 1845, pendant le séjour d'Eberhard à St. Petersbourg, il paraît que ces petits chevaux sauvages (1 étalon et 1 jument) dont la couleur fut désignée comme jaunâtre ou blond-cendré avec raies noires, montraient par endroits des parties blanches. Cela se rapportait à la croupe entière, au haut des cuisses, à la partie inférieure

forma silvatica Vet.), transformée sous l'influence des changements de climat postdiluvien dans les vastes régions de l'Europe.

Deuxièmement: La désignation de ces chevaux sauvages sous le nom de »Equi silvestres« était connue dans la littérature au moins depuis E. S. Piccolomini et Matthias de Miechów, donc, au moins depuis plus de 300 ans avant Brincken. Dans la traduction polonaise de l'ouvrage cité de Matthias de Miechów (24) de l'année 1545 (25), ces »Equi silvestres« furent expressément dénommés »chevaux sylvestres«.

Troisièmement: nous sommes redevables à Hacquet, du moins jusqu'à présent, des premières et très importantes communications sur les signes distinctifs morphologiques du cheval sylvestre sauvage, dont nous nous occupons; ces communications m'avaient permis déjà auparavant de prouver le caractère sauvage des derniers Tarpan sylvestres européens de la forêt vierge de Białowieża (voir Vetulani (34)).

du ventre, à l'aine; il paraît aussi que dans les courtes crinières se trouvaient des poils blancs et les queues courtes furent décrites comme étant blanchâtres.

Qu'il s'agisse réellement chez les chevaux primitifs du type du Tarpan sylvestre d'une connexion entre les conditions du climat et l'intensité du blanchissement, voilà ce qui serait prouvé non seulement par les oscillations de ce procès chez nos Koniks selon la rigueur de l'hiver selon les années, mais avant tout par les différences du degré de blanchissement, qui nous sont jusqu'à présent connues d'après la littérature sur les petits chevaux primitifs (à mon avis, le même type de Tarpan sylvestre) dans différentes contrées, où ils sont répendus sur le territoire de l'Eurasie. Car, tandis que, chez les Koniks polonais, le blanchissement ne s'étend que sur le tronc, l'encolure, la partie inférieure de la tête avec la ganache et les parties supérieures des extrémités, il s'étend chez les petits chevaux du même type dans l'extrême Nord aussi sur les autres parties du corps, les crins allongés du toupet, de la crinière et de la queue y compris. C'est ainsi que nous avons rencontré chez les chevaux des îles Lofoden, que nous connaissons d'après la dissertation de Brinckmann (11) et qui représentent, d'après leurs signes distinctifs osteologiques (voir Vetulani (32-33)), le même type de Tarpan sylvestre, chez un exemplaire qui fut tué au mois d'Avril et qui, à mon avis, était faussement considéré comme un cheval blanc ayant blanchi, outre la présence de ce pigment gris-noir sur le museau, les sabots et les châtaignes aussi des poils jaune pâle pigmentés seulement à l'encolure, tandis que la crinière de ce cheval était unicolore et sans pigment (voir planche 7, fig. 2). Baashus-Jessen (7) signale chez les chevaux norvégiens de Gudbrandsdal (nommés Døle) une couleur semblable, dont le trait principal est le manque de pigment dans la robe avec, en même temps, des nuances d'un jaune sale pâle des crins allongés de la crinière, de la queue et couvrant le paturon. Mais le spécimen foncé de cette race, que cet auteur présente dans l'image 2 sur le fond d'un paysage d'hiver sylvestre, démontre distinctement la blancheur d'hiver sur le tronc; donc il a changé de couleur selon l'exemple du Konik polonais devenu blanc.

Les communications de Pfizenmayer (27) démontrent un blanchissement extrêmement fort, identique au cas décrit du cheval des îles Lofoden, chez les chevaux iacoutes du Nord-est de l'Asie

(voir planche 7, fig. 3). Il résulte des photographies démontrées par cet auteur, ainsi que de ses remarques que les signes distinctifs extérieurs de ces chevaux coïncident nettement avec ceux des Koniks polonais du type Tarpan sylvestre. Nous observons sur les photographies, faites en hiver, de ces petits chevaux iacoutes sur tout le corps, y compris la tête, les parties inférieures des extrémités, le toupet, la crinière et la queue ou bien une blancheur de neige, ou bien, leur tronc et leur tête étant blanc-gris, une nuance quelque peu plus foncée, gris-cendre du reste du corps, surtout des parties inférieures des extrémités et de la queue.

Les informations citées par P f i z e n m a y e r (27), concernant les restes fossiles de chevaux sauvages, suivant lesquelles on lui avait parlé à Werkchojansk d'un crâne de cheval ou d'un cadavre de cheval gelé, aux poils gris-blancs très allongés, trouvés auprès d'un cadavre de mammoth aux bord de la Berezówka, semblent indiquer, qu'ainsi que les petits chevaux iacoutes, leurs ancêtres sauvages de cette localité se sont distingués par la couleur caractéristique blanche ou blanc-gris. D'après les informations qui furent données à P f i z e n m a y e r par les habitants de la forêt vierge de la Sibérie nord-est lors de sa première expédition en Sibérie (1901), il paraît qu'on rencontre des chevaux sauvages ou devenus sauvages dans les toundras de la Sibérie nord-est le long de la lisière de la forêt entre les deux grands affluents nord-est de la Kolyma: l'Omolon et la Anjui. Ces chevaux sont décrits par les lamoutes indigènes comme étant petits, munis de poils allongés blanc-gris et dont la chair est très grasse et savoureuse.

Il est vrai que nous manquons encore d'indications concernant les chevaux des îles Løfoden ou iacoutes qui confirmeraient le caractère périodique de la blancheur de leurs poils, mais, néanmoins, il est très probable, d'après les remarques de B r i n k m a n n (11) et de D u e r s t (18) sur la couleur blanche des chevaux des îles Løfoden, qu'ils désignent comme blanchie, ou qu'ils comparent à la couleur du renard polaire, ainsi que d'après les faibles traces de la pigmentation que j'ai citées en décrivant les chevaux des îles Løfoden ou les chevaux iacoutes d'après B r i n k m a n n et P f i z e n m a y e r, que leur blancheur représente justement la forme plus intense d'une blancheur telle qu'elle est apparue ataviquement chez quelques Koniks polonais de la réserve dans la forêt vierge

de Białowieża. Il serait extrêmement important d'obtenir des éclaircissements: à savoir si chez les chevaux iacoutes ou chez ceux des Iles de Lefoden la couleur blanche de la robe se conserve durant l'année entière, comme chez l'ours polaire (*Ursus (Thalassarctos) maritimus* Phipps), le chat-huant blanc (*Nyctea nyctea* L.), le faucon polaire (*Hierofalco arcticus* Holb.), ou bien s'ils ne l'ont que pendant le long hiver du nord, comme les autres espèces d'animaux du nord mentionnés au début, comme cela s'est aussi manifesté dans un degré beaucoup plus faible chez les Koniks polonais dans les conditions de climat de l'Europe centrale.

Le blanchissement d'hiver, pour lequel, comme nous le savons, les Tarpan des steppes avaient déjà (ce qui les distingue des chevaux sauvages de Przewalski) une certaine disposition et qui était particulière au Tarpan sylvestre dans les conditions climatiques de l'Europe centrale, comme un moyen spécifique inné à l'organisme pour répondre aux changements des agents du monde environnant, nous permet d'avancer encore la solution d'une question importante, quoiqu'elle ne puisse être encore définitivement résolue. Il s'agit notamment de la question posée par Antonius (3) sur l'origine de ces chevaux blancs sauvages du nord-est Sibérien aux signes distinctifs craniens du Tarpan, que nous avons connus grâce à Czerski (17) et Pfizenmayer (27) et que, d'après Antonius (3), on pourrait se représenter comme étant la forme ancestrale des chevaux iacoutes et du poney mongol à museau court de ce type. Pour des raisons de culture historique, il n'est guère possible d'admettre une influence du sang du Tarpan des steppes sur elle.

Relativement à l'ouvrage de Bourdelle (8), j'ai déjà autrefois attiré l'attention sur la possibilité théorique (voir Vetulani (38)) que les différentes tendances morphologiques qui sont particulières aux chevaux sauvages actuels de Przewalski et qui nous sont connues par les travaux d'Antonius (4), Bourdelle (8), Brinkmann (11), Hilzheimer (22), Spöttel (30) et autres, pouvaient à la fin aboutir à l'origine du Tarpan des steppes comme sous-espèce séparée, ce qui, toutefois, n'a pas encore été dûment établi.

De la même manière aurait pu se détacher de la souche primitive du cheval sauvage de Przewalski sa forme sauvage nord-est asiatique convergeant avec le Tarpan des steppes et qui a été domestiqué dans la Sibérie nord-est, mais, néanmoins, cela

n'a été considéré par Antonius (3) que par hypothèse et avec une parfaite prudence. A mon avis, il faudrait plutôt examiner un rapport entre ces chevaux sauvages (ou redevenus sauvages) blancs, semblables au Tarpan du nord-est de l'Asie, ainsi que des chevaux domestiqués de là-bas, du même type que les chevaux iacoutes avec le Tarpan sylvestre sauvage européen et avec son ancienne extension jusqu'aux régions arctiques de l'Eurasie.

Quoique Schwalbe (29) émette l'opinion, comme résultat général des faits réunis par lui concernant le blanchissement des animaux blancs en hiver que ce phénomène est en général une fonction du climat arctique et que, comme tel, il présente des nuances graduelles, il fournit toutefois en même temps les preuves (entre autres chez le renard bleu du Nord), que les conditions du climat seules ne sont pas en état d'expliquer tous les phénomènes de ce procès.

D'après mes études et mes recherches sur le Tarpan sylvestre européen, sur son origine et sur le blanchissement d'hiver constaté chez lui, ainsi que chez quelques-uns de ses descendants (le Konik polonais, le cheval des Iles Lofoden, le cheval iacoute), il me semble résulter indubitablement que la disposition du Tarpan sylvestre à blanchir en hiver, associée à son changement de poils deux fois par an, lui a été particulière sans rapport à la latitude géographique de sa distribution considérable (mais ayant rapport à la migration postglaciale des animaux européens). Cette disposition ne s'est manifestée chez lui qu'en formant différents phénotypes sous l'influence des différentes latitudes géographiques et des différences de climat qui en résultent.

En se basant sur mes susdites premières observations en cours de la régénération du Tarpan sylvestre européen dans la forêt vierge de Białowieża, on peut s'attendre, que les études systématiques biologiques sur les Koniks polonais, dans la réserve de Koniks dont il a été question, seront continuées sans interruption et, qu'à l'avenir, elles nous fourniront de nouvelles et précieuses contributions scientifiques ayant pour but d'approfondir nos connaissances actuelles sur le Tarpan sylvestre et ses rapports avec les chevaux domestiques eurasiatiques relativement à leur origine et à leur histoire.

L'Institut pour l'élevage spécial de l'Université de Poznań, Pologne.
(D'après le manuscrit de l'année 1939).

Littérature

- 1) Adametz L.: Lehrbuch der allgemeinen Tierzucht. Wien 1926. —
- 2) Antonius O.: Grundzüge einer Stammesgeschichte der Haustiere. Jena 1922. — 3) Antonius O.: Zur Abstammung des Hauspferdes. Z. f. Tierzüchtung und Züchtungsbiologie Bd. 34. Heft 3. Berlin 1936. — 4) Antonius O.: Ueber Herdenbildung und Paarungseigentümlichkeiten der Einhufer. Z. f. Tierpsychologie Bd. 1. Berlin 1937. — 5) Antonius O.: On the geographical distribution, in former times and to-day, of the recent equidae. Proceedings of the Zoological Society of London, Series B, Vol. 107, Part 4, 1937. London 1938. — 6) Anuczyn D.: Contribution au problème des chevaux sauvages et de leur domestication en Russie. Journal du Ministère de l'Instruction publique. En russe. St. Petersburg 1896. — 7) Baashuus-Jessen J.: Live stock breeding in Norway. Ed. 2. Oslo 1931. — 8) Bourdelle E.: Essai d'une étude morphologique des équides préhistoriques de France d'après les gravures rupestres. Mammalia T. II. N° 1. Paris 1938. — 9) Brauner A.: Le Tarpan (*Equus Gmelini*, Antonius) en russe. En plus: Communications par correspondance sur le Tarpan des steppes. Ascania Nova 1937. — 10) Brincken H.: Mémoire descriptif sur la forêt impériale de Bialowieża, en Lithuanie. Varsovie 1826. — 11) Brinkmann A.: Equidenstudien I—II. Bergen 1919—1920. — 12) Buczek K.: Kartografia polska w czasach Stefana Batorego. Wiadomości Służby Geograficznej Z. 2. Warszawa 1933. — 13) Buczek K.: Waclaw Grodecki (Studium biograficzne). Polski Przegląd Kartograficzny Nr 43. 1933. — 14) Buczek K.: Wołyń w dawnej kartografii (Wieki XV—XVIII). Rocznik Wołyński T. IV. Równe 1935. — 15) Buczek K.: Ślężacy w kartografii polskiej XVI wieku. Wydawnictwa Instytutu Śląskiego. Katowice 1937. — 16) Czapski M.: Historia powszechna konia. Poznań 1874. — 17) Czerski J. D.: Beschreibung der Sammlung posttertiärer Säugetiere. Mem. de l'Acad. Imp. des Sciences de St. Petersburg VII. Série T. LX. Nr 1. Petersburg 1892. — 18) Duerst J. U.: Pony. Tierheilkunde u. Tierzucht Bd. 8. Berlin 1930. — 19) Herodotus, Historiarum libri novem. Nova editio stereotypa. Curavit Fridericus Palm. Lipsiae 1839. — 20) Herodotus, Neun Bücher der Geschichte. Nach Uebersetzung von Goldhagen in neuer Bearbeitung, herausgegeben von Hans Floerke, Berlin. — 21) Hiller S.: Beitrag zum Studium über die innere Struktur des Hirnanhanges (*Hypophysis cerebri*) beim Pferde. Bulletin de l'Acad. Polon. des Sciences et des Lettres. Cracovie. 1934. — 22) Hilzheimer M.: Was ist *Equus equiferus* Pallas? Naturwissen. Wochenschrift N. F. Bd. VIII. Berlin 1909. — 23) Köppen F.: A propos de l'histoire du Tarpan en Russie. Journal du Min. de l'Instruction publique. En russe. St. Petersburg 1896. — 24) Mathias de Miechov, Tractatus de duabus Sarmatiis, Asiana et Europiana et de contentis in eis. Cracoviae 1517. — 25) Miechowita M.: Polskie wypisanie dwoiey krainy świata, którą po łacinie Sermatia... zową. Przekład Andrzeja Glabera z Kobyłina. Kraków 1545. — 26) Piccolomini E. S.: Europa Pii Pontificis Maximi nostrorum temporum varias continens historias. Venetiae 1501. — 27) Pfizenmayer E. W.: Mam-

- nuthleichen und Urwaldmenschen in Nordost-Sibirien. Leipzig 1926. — 28) Pruski W.: Filip Eberhard i nieznanie dotąd jego dzieło o koniach. Jeździec i Hodowca. Warszawa 1930. En plus: Extrait du manuscrit de cette oeuvre, reçu par lettre, Warszawa 1939. — 29) Schwalbe G.: Ueber den Farbenwechsel winterweisser Tiere. Morphologische Arbeiten Bd. 2. H. 3. Jena 1893. — 30) Spöttel W.: Equus Przewalskii Polj. mit besonderer Berücksichtigung der im Tierzuchtinstitut der Universität Halle gehaltenen Tiere. Kühn-Archiv Bd. 11. Berlin 1926. — 31) Vetulani T.: Studien über den polnischen Konik (polnisches Landpferd) aus der Gegend von Bilgoraj. Bullet. de l'Acad. Polon. des Sciences et des Lettres. Cracovie 1925. — 32) Vetulani T.: Weitere Studien über den polnischen Konik (polnisches Landpferd). Bullet. de l'Acad. Polon. des Sciences et des Lettres. Cracovie 1928. — 33) Vetulani T.: Tarpan und polnisches Landpferd (Konik). Beitrag zur Herkunft des europäischen Hauspferdes. Biologia Generalis Bd. IV. Lief. 3—5. Wien u. Leipzig 1928. — 34) Vetulani T.: Zwei weitere Quellen zur Frage des europäischen Waldtarpans. Z. f. Säugetierkunde Bd. 8. H. 6. Berlin 1933. — 35) Vetulani T.: und Schulze R.: Einleitende Studien über die Hypophyse beim polnischen Konik (Steppen- u. Waldtarpanytypus) als Beitrag zu dessen Morphologie. Bullet. de l'Acad. Polon. des Sciences et des Lettres. Cracovie 1934. — 36) Vetulani T.: Die Wiedereinführung des Waldtarpans in den Urwald von Białowieża (Bialowies). Bullet. de l'Acad. Polon. des Sciences et des Lettres. Cracovie 1936. — 37) Vetulani T.: Beitrag zur Charakteristik der primitiven Landpferde Polens. Z. f. Tierzüchtung und Züchtgsbiol. Bd. 41, Heft 3, Berlin 1938. — 38) Vetulani T.: Kritische Besprechung der morphologischen Studie von Bourdelle über die prähistorischen Epuiden Frankreichs. Z. f. Tierzüchtg u. Züchtgsbiol. Bd. 43, Heft 2. Berlin 1939. — 39) Vetulani T.: Résultats de recherches sur le petit cheval indigène polonais »Konik polonais« ainsi que sur le problème du Tarpan. Mammalia. T. III. Nos 3 et 4. Paris 1939. — 40) Gu de to the specimens of the horse family (Equidae) exhibited in the Department of Zoology, British Museum (Natural History). Second Edition. London 1922. — 41) Pauly's Real-Encyclopädie der classischen Altertumswissenschaft, herausgegeben von Georg Wissowa, I. Bd. Stuttgart 1894.

Explication des planches 1—7

Planche 1

1. Coup d'oeil sur la réserve polonaise des Koniks dans la forêt vierge de Białowieża. Phot. prise en Avril 1938 par Dr. J. J. Karpiński.
2. Konik polonais: l'étalon »Tref« encore de robe blanche d'hiver. Phot. prise en Avril 1938 par Dr. J. J. Karpiński.
3. Konik polonais: l'étalon »Tref« de robe gris-souris d'été au début de la phase du passage périodique à la robe blanche d'hiver. Phot. prise en Décembre 1938 par Dr. J. J. Karpiński.



1



2



3

T. Vetulani



1



2



3

1



2

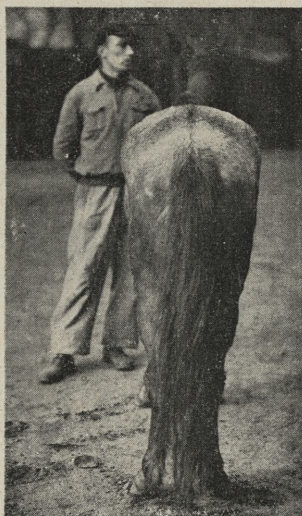


3



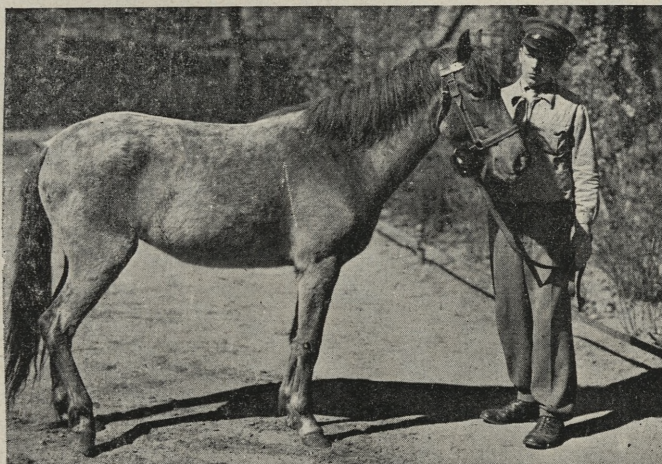
4

5

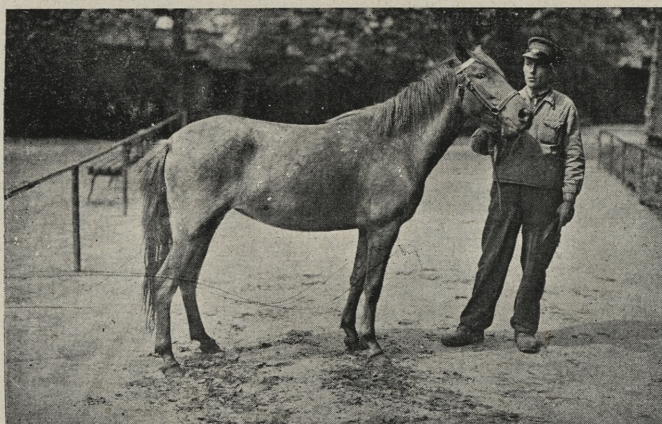




1

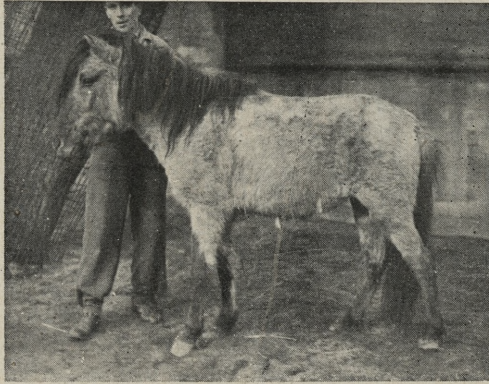


2



3

T. Vetulani



1



2



3



1

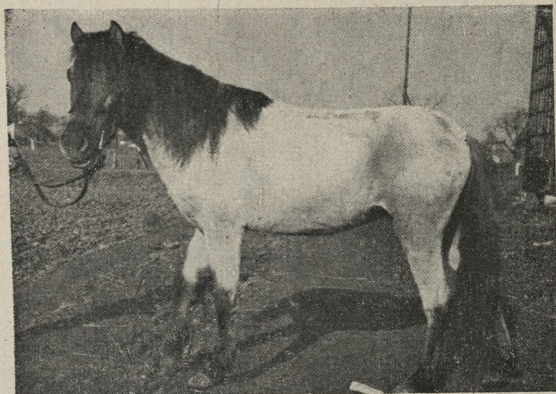


2

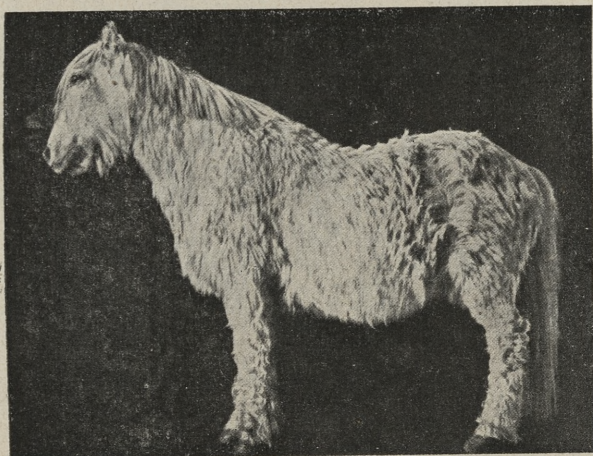


3

T. Vetulani.



1



2



3

T. Vetulani

Planche 2

1. Konik polonais: la jument »Liliputka II« encore de robe gris-souris d'été. Phot. prise en Décembre 1938 par Dr. J. J. Karpiński.

2. Konik polonais: la jument »Liliputka II« encore de robe blanche d'hiver. Phot. prise le 1 Avril 1939 par Dr. J. J. Karpiński.

3. Konik polonais: la jument »Liliputka II« au moment de la perte des poils blancs d'hiver. Phot. prise le 15 Mai 1939 par Dr. J. J. Karpiński.

Planche 3

Illustrant le changement périodique de couleur du Konik polonais: la jument »Borówka«.

1 et 2. Phase I. Dans la robe d'été couleur renard de cette pouliche, les premiers poils blancs d'hiver apparaissent au garrot et à la base de la queue, ainsi que des poils blancs d'hiver isolés dispersés sur tout le tronc. Phot. prises le 15 Octobre 1938 (Phot. orig.).

3-5. Phase II. Progrès du blanchissement d'hiver caractéristique chez la jument »Borówka«. Phot. prise le 2 Mars 1939. (Phot. orig.).

Planche 4

Illustrant le changement périodique du Konik polonais: la jument »Borówka« (Suite).

1. Phase III. Le moment culminant de la période »blanche« de la jument »Borówka« pendant le dernier hiver doux. Phot. prise le 22 Mars 1939 (Phot. orig.).

2. Phase IV. Passage à la robe d'été couleur renard de la jument »Borówka«. Phot. prise le 19 Avril 1939. (Phot. orig.).

3. Phase V. Robe d'été couleur renard de la jument »Borówka«. Retouchée à la jambe de derrière où des rayons de soleil ont pénétré. (Phot. orig.).

Planche 5

Illustrant le changement périodique de couleur du Konik Polonais: l'étalon »Tref«

1. Phase I. Les poils allongés pigmentés de la génération d'été peu de temps avant leur chute. Phot. prise le 18 Février 1939. (Phot. orig.)

2. Phase II. Blanchueur d'hiver caractéristique de cet étalon pendant le dernier hiver doux. Phot. prise le 2 Mars 1939. (Phot. orig.)

3. Phase III. Les poils de la génération d'hiver au moment de leur chute. Phot. prise le 22 Mars 1939. (Phot. orig.)

Planche 6

Illustrant le changement périodique de couleur du Konik polonais: l'étalon »Tref« (Suite).

1. Phase IV. Robe d'été présentant les restes peu nombreux des poils de la génération d'hiver. Phot. prise le 19 Avril 1939. (Phot. orig.)

2. Phase V. Robe gris-souris clair de la génération d'été du Konik polonais: l'étalon »Tref«. Phot. prise le 22 Mai 1939. (Phot. orig)

3. Les poulains des Koniks polonais blanchissant en hiver dans la réserve de Białowieża dans différentes phases de la chute de leur robe blanche d'hiver. Au centre »Mostyr« du croit de 1938, encore partiellement blanc. Phot. par Dr. J. J. Karpiński).

Planche 7

1. Blancheur intense du Konik polonais: l'étalon »Tref« pendant un hiver rigoureux. Phot. prise en Mars 1936. (Phot. par Dr. W. Ploski).

2. Un cheval blanc des îles Lofoden, un exemplaire empaillé, tué en Avril, au début de la phase de son changement de poils (D'après Brinkmann [10]).

3. Chevaux iacoutes blancs ou blancs-gris (D'après Pfizenmayer [26]).

Glikogen w ikankach pokrywowych raka rzecznego (Potamobius Astacus L.) — Glycogen in the tegumental tissues of the crayfish (Potamobius Astacus L.)

Mémoire

de M^{me} Z. MAŁACZYŃSKA-SUCHCITZ,

présenté le 19 mars 1947 par M. S. Maziarski m. t.

(Plates 8—9)

I. Introduction

During my investigations (1936) upon the skin-glands of the crayfish (*Potamobius Astacus L.*) I have stated in the gill-cover-glands which were subject of these investigations the existence of glycogen. As Kirch, whose publication from the 1886 is the only detailed work upon the glycogen in the tissues of the crayfish, directly denies¹⁾ the existence of this substance in the gill-cover-glands and distinctly accents the lack of glycogen in them even then, when »ihre Umgebung« with glycogen »förmlich strotzt« (p. 41), I wished to solve this problem; the further aim of these investigations was the settlement of the eventual connection of the appearance of glycogen in these glands with the period of ecdysis, respectively with the function of the glands and with existing in their cells plasm structures. During my work were also examined the morphology and dislocation of glycogen in all other tissues of the gill-covers and the results of these investigations are hereby inclosed.

II. Material and methods

The investigations were undertaken on the animals which were in different months killed and fixed, respectively, they served as a fresh material for the observations *in vivo*.

¹⁾ that they »stets glycogenfrei« are p. 41. (See also p. 32).

I used as the fixative fluids: Carnoy's fixative, absolute alcohol and Zieglwallner's fluid in the mixtures given by him:

a) 1% chromic acid in 84% alcohol	15 parts
2% osmium tetroxide	4 "
glacial acetic acid	1 "
b) concentrated solution of sublimate	20 "
2% osmium tetroxide	10 "
absolute alcohol	50 "
c) Trichlor-lactic acid in substance	9 "
2% osmium tetroxide	24 "
glacial acetic acid	9 "
aqua dest.	58 "

The absolute alcohol and Carnoy's fixative are not particularly qualified as the fixatives for the tissues of the crayfish, and therefore I used them only as the control methods; but the mixture of Zieglwallner mentioned under c) proved especially favourable. The tissues of the crayfish are with these reagent perfectly fixed without any shrinks and exhibit different grains and plasm-enclosures which are quite dissolved by the use of alcohol or after Carnoy. This reagent fixes hereby even the tiniest amount of glycogen (even glycogen dust) which after staining with Best's carmine appears in the form of little grains, drops, or greater lumps coloured electively ruby-red. One never observes here the phenomenon, well known to cytologists of glycogen flight (glycogen pressed on a cell-wall), which appears so often after other fixatives, what may be seen even after fixation with other mixtures of Zieglwallner (mixtures a and b). I accent therefore the great value of this method, because Burghreave¹⁾ describing different methods of the glycogen's fixation and staining declares just these (Zieglwallner's methods) as of inferior value. But I find them very suitable; the great contents of osmic acid partially preserve even the structures which contain lipoids. The dark colour of the sections caused by osmium tetroxide enables to observe them under the microscope after staining with Best's carmine, without preceding colouring of the nuclei, whereby all details appear quite distinctly. Considering the great dissolubility of glycogen

¹⁾ Bull. d'Hist Appl. T. 10. 1933.

in water, this circumstance which saves every former proceedings with the sections is very profitable.

The preserved parts of tissues were imbedded in paraffin, the sections (4—6 μ thick) are labelled by means of 70% or 90% alcohol on the with white of egg covered slides. Albumen-glycerine have not given any satisfying results, because the glycogen enclosures were partly dissolved.

Besides, however, I used iodine-staining according to Barfurth (iodine-glycerine-method), to Kan Kato-Bleibtreu, also staining with Lugol's solution according to Langhans, this was used well after preserving in the absolute alcohol as also for staining of the fresh material. The iodine-staining turned out well in both cases so that one may control the observations which were carried on a preserved material and on a fresh material.

I used for the control the solution of glycogen in water and the splitting of this substance by means of spittle. The preserved glycogen is not always in the same measure soluble in water. I noticed, that with the mixture b) according to Zieglwallner preserved glycogen is very hard soluble in water¹⁾, that with the mixture a) fixed, dissolves immediately after touching with water.

As I received by means of mentioned methods especially good results in fixation and staining of the glycogen substance of the crayfish I did not use more neither that of H. Bauer (1933) advised fixation accordingly to Bouin Allen, combined with succeeding treatment of the paraffin-sections with chromic acid and staining with Schiff's reagent, not the method given by Pastéels a. Léonard (1930) and its modification of H. Gendre (1937), because the control with splitting of glycogen by means of spittle must be undertaken as well.

III. Observations on a fixed material

Glycogen can be always stated in the tissues of gillcovers, but in the period of ecdysis there follows a quite enormous accumulation of this substance. In the gill-cover-glands there is also

¹⁾ The difficult water-dissolubility of the glycogen in the fat-body of the silkworm notices f. i. Bogojawlensky (1935).

glycogen to be found in the period distant from ecdysis, but then it is found in very small amount. The greater accumulation appears only before the moult.

The maximal accumulation of this substance follows in the time, when it begins to form itself the new skeleton, that is to the time which is still rather distant from the process of ecdysis; it is the same period of time in which the new generation of gill-cover-glands¹⁾ is forming.

All tissues which build the skinduplication of gillcover are in this period overfilled with glycogen.

On the preserved and with Best's carmine stained sections one can state above all the enormous accumulation of glycogen in the connective cells. The connective tissue is here formed from great cells called Leydig's cells of I order according to K. C. Schneider (1904, 1908); for the same cells many authors use now the name »vesicular cells« (»Blasenzellen«) which introduced Nold (1924) for the cells of *Molusca* connective tissue (for so called »Langersche Blasen«). Glycogen appears here in more or less greater grains, vacuoles or lumps, which are generally in connection with the net-work-structure, which is to be seen in these cells (fig. 1, pl. 8). I did not see any glycogen in the nuclei of these cells, at least it is not easy to decide if there are lying single glycogen-grains in the nuclei or above respectively under them in cytoplasm. After the use of Zieglwallner's mixture b) we receive then often such pictures, as it is shown in fig. 2. It must be noted that Verne (1924) finds glycogen by *Carcinus moenas* and *Cancer pagurus* above all in the fluid which imbibes the tegumental tissues in this period²⁾, but in the connective cells he finds it also in the form of grains.

The form of connective-tissue cells is, as known various and the more alonged cells are called according to Schneider the Leydig's cells of II order. They can be observed f. i. in greater quantity under the hypoderma, near to the s. c. »support-beam« (»Stützbalken«), sometimes also in the neighbourhood of gill-cover-glands. Their glycogen contents is always equal to the vesicular-cells, sometimes even it seems to be greater; particu-

¹⁾ See my works 1917, 1936.

²⁾ »Sous l'aspect de mottes ou de plaques« (p. 188).

larly it refers to the cells which are lying under the upper-hypoderma (fig. 3, pl. 8). This abundance of glycogen immediate under the chitinogenous-cells is also mentioned by Kirch.

Between the connective tissue of the gill-covers there are the blood-vessels, thereby there appear numerous lymphspaces. In contrary to Kirch's observations I stated glycogen in the lymphfluid (fig. 1, pl. 8 and fig. 18, pl. 9). The cross-sections of the blood-vessels show however the absence of glycogen in the blood, although the vessel-walls forming connective tissue are overfilled with glycogen (fig. 4 and fig. 1). Sometimes, however, we can state during this period even in the blood glycogen-grains. It always exists also in the lymphocysts of the crayfish in this period (fig. 5). A little later there appear only the nuclei of the lymphocysts diffusely red stained (fig. 6). Blood- or lymphcells of the crayfish look, as known, different, what surely depends on their physiological state. Fig. 7 represents the so called granulous eosinophilic lymphocysts, in which the nuclei only (nuclei-rests according to Panning) show diffused glycogen¹⁾. Kirch, who accents distinctly the absence of glycogen in the blood and in the lymph, could not state it as quite sure in the blood-bodies (p. 32), but he does not miss a »spurweises Vorkommen von Glycogen« in them (l. c.).

I observed the lack of glycogen several times, but only after ecdysis or in the period distant from ecdysis.

Kirch considers the absence of glycogen in the blood of the crayfish as proof, that the hepatopancreas might not be taken as the place of glycogen production, namely therefore that the transport trough blood does not exist. As we have seen, however this circumstance can not stand the test.

Among the connective tissue cells there appear still the s. c. »cellules proteïques« (Cuénot 1895), »cellules sphéruleuses« Kollman's (1908). Their appearance corresponds less or more to the description of K. C. Schneider (1902), that means, there are elements, in which one sees mostly great balls of accumulated substance (albuminoid), which are surrounded by a tender membrane, and show besides a flattened nucleus. I add still hereby that the substance which forms the balls has mostly

¹⁾ See also observations on fresh material.

a hyaline appearance, it is strong refrangible and as it is showed on my illustrations (fig. 1, 8a, 8b, 8c) it turns more or less black after the use of osmic acid; but it is no fat, thus it is not dissoluble in the oil of turpentine. These balls are also found after preserving with absolute alcohol, Carnoy's fixative, sublimate + acetic acid, Regaud's fluid etc. This substance however is not stainable with eosin or only in a small degree; it becomes black (more or less) after ironhematoxylin, shows thus an another behaviour as the eosinophilic granula of the lymphocysts. On the same sections however, there are to be seen sometimes such protein-cells, in which the balls are not hyaline, only they have a granulous contents (fig. 9). It is probably caused by an other physiological stage of that accumulated substance. Perhaps it is then more liquid and coagulates by the fixative fluids. I noticed the transition from the hyalin to a granulous stage under the microscope *in vivo*: it comes namely after the addition of some drops of acetic acid to the physiological solution in which one observes the cells.

On the sections which were stained with Best's carmine there appear only the nuclei of these cells diffused red or redly coloured (sometimes also there are the little grains) (fig. 8a, 8b, 8c, fig. 9), what indicates the existence of glycogen in them. The results of colouring with iodine however admit some doubts (see chap. IV).

It was stated that these cells were not always to be seen in the same quantity. They appear very richly before ecdysis, and after this process they dissappear very quickly. Immediately before ecdysis and on the first days after ecdysis there are to be seen many cells, the contents of which does not exhibit a great ball, but several smaller balls. One can conclude from it, that the protein-cells store up some substance which is necessary for the building of a new chitinous skeleton.

It is still not settled from which elements they descend, from eosinophilic lymphocysts or from Leydig's cells. They are more often to be found among the last, more seldom in the lymphfluid.

There is glycogen also in hypodermic cells¹⁾, and it appears on some places in very great quantities.

¹⁾ J. Verne (1924) does not state any glycogen in the hypodermic cells of the *Cancer pagurus* and *Carcinus moenas* being in the period of

The figures which represent the hypodermic cells of gill-covers before the ecdysis are very different. It stands in dependence 1) upon whether we have to do with an upper or under epithelium, 2) the circumstance that the hypodermic cells elaborate a new chitin, is expressed in the different behaviour of these cells, whereby the thickness of a new-formed cuticle serves as a sign in which stage the cells are; 3) it can be stated, that even on the same sections not all places of the epithelium look equally, what may be also explained by the under 2) mentioned circumstance.

The figures 10, 11, 12 and 13 — which represent the hypodermic cells of the upper epithelium exhibit distinct differences which are probably in connection with the various stages of the production of a new chitin. On other places of the section from which the fig. 10 was taken, one sees only scanty quantities of glycogen in the plasm of hypodermic cells. Only nuclei exhibit still always glycogen-grains (fig. 14). For such stages, one may accept with Kirch, that the connective tissue is richer of glycogen than the hypoderma. But this does not touch such pictures which represent f. i. the fig. 11, still less for epithelium of the so called »fibrylläre Stützbalken« (according to Kirch) (fig. 12, 13 and 15).

Both the epithelia of the gill-covers connecting fibers, that means the »fibryllären Stützbalken« Kirch's, the »Connectivfasern« Giesbrecht's (1913) or »colonnades« of Vitzou (1882), are thought by some authors as of a connective tissue-nature (Kirch 1886, Schneider 1902), others regard it as the prolongation of the hypodermic cells (Vitzou 1882, Giesbrecht 1913, Panning 1924). I can only add that I noticed as well as Panning the allonged nuclei in the middle parts of these fibers; but this circumstance does not solve this problem. The whole habitus of this fibers reminds indeed in general of the appearance of the connective-tissual septa, which exist on different places of the body f. i. on that of the pericardial septum. After certain fixatives they present even lamellar structure (fig. 15 and 16), which reminds of the connective tissue of bloodvessels' adventitia (Małaczyńska 1912), but ecdysis; he sees it only sometimes in the intercellular spaces (»dans les espaces intercellulaires«) (l. c. p. 188).

the decision which histological value may be due to them could be stated only by the investigation of their development.

I call a special attention to this fact, that I could always state great accumulation of glycogen just in these elements and in the to them belonging hypodermic cells (fig. 12, 13, 15). My observations are in this object in a certain contrast to the statement of Kirch, according to whom »die fibryllären Stützbalken nicht so glycogenreich« are as the »zwischen ihnen gelegene grosszellige Bindsesubstanz« (l. c. p. 43). At all events I confirm the enormous accumulation of glycogen in the hypoderma and the glycogen richness in the nuclei of these cells, the appearance of the glycogen-grains close by the upper end of these cells, where they sometimes form a continual layer, and even the existence of very small glycogen-grains in the layers of chitin lying directly by the hypodermic cells; it all may stand in connection with the production of chitin.

The appearance of round bodies in the hypodermic cells, which show sometimes within glycogen (fig. 11) is always to be stated before ecdysis. I do not want to decide here of what nature they are, but I suppose, that they are perhaps in connection with the existence of the blue pigment cristalls in these cells.

The cells of the under epithelium are always very low and there are not any cell's limit to recognise. They show during this period also always glycogen in the form of grains, but one never sees here such accumulation of this substance as in the upper epithelium (fig. 17). The nuclei contain also very often glycogen.

The question of the appearance of glycogen in the nuclei seems for different authors not yet to be decidedly stated so f. i. for H. Gendre (1938. p. 170). But this fact was stated by T. Kurkiewicz (1930) for nuclei of the dividing cells of *Ciona intestinalis* and as to the cells of the hypoderma or to the blood-cells of the crayfish this is stated by me without doubt.

H. Gallistel (1937) found in the shell of *Daphnia magna* also great fluctuations in the glycogen contents which »durch die kürzere oder längere zeitliche Entfernung von der Häutung bedingt sind« (p. 78). She stated also a great glycogen contents in the matrix of the outward-lamella and only traces in the

matrix of inn-lamella. She finds also glycogen »vor allem an der Basis der Stützbalken« (p. 79).

The gill-cover-glands of in this period killed crayfishes always show a good amounts of glycogen on the fixed preparations. It appears in the form of less or greater grains or vacuoles which are quite equally distributed in the gland-cells (fig. 18). Also the plasm of the exporting-cells (Ausfuhrzellen) shows the same distribution of this substance only it is there scantier (fig. 18, 19, 20, pl. 9, 8). One may find also glands in which there is to be seen greater accumulation of glycogen grains, vacuoles or round lumps (fig. 21, pl. 9); such glands lay often in the immediate neighbourhood of lymph-spaces so that this fact can be explained by a greater supply of nutritive substance.

The young glands do not show any peculiarity in the form and in the distribution of the glycogen appearing in their cells (fig. 22, pl. 8), the nuclei of gland-cells seem hereby to be always glycogenfree.

All these glycogen-grains and vacuoles dont'stay in any connection with the Golgi-bodies. Just the equal distribution of this substance shows the lack of any relation between the glycogen and Golgi-bodies; the last appears in the cells always in certain places¹.

Neither here nor in hypodermic or Leydig-cells I did not also state the eventual acceptable genetic connection between the chondriom and glycogen (how it will accept Alexeieff (1917) for the Leydig cells of *Gastropoda*). The equal distribution of the glycogen substance in almost all the cells and especially here in the gland-cells, speaks against this supposition. I suppose, that the glycogen substance in the glands, as probably everywhere, is a product of a normal metabolism and is either directly splitted out from more complicated compounds or immediately infiltrated from the lymphfluid into the gland-cells and there it is settled as a reserve-material, without passing through the complicated secretoric apparatus which represents probably chondriom. I could not also state any direct connection between the glycogen accumulation and the forming

¹) Compare it with Kolatchew's results in the nervous-cells of *Mollusca*.

of secretion granules. It is only to notice that the intensive produce of secretion before ecdysis, falls together with considerable accumulation of glycogen in the gland-cells.

This enormous accumulation of glycogen in all the tissues of the gill-covers disappears still before ecdysis. The thickness of the just formed chitin-layer is then almost as great as the height of the hypodermic-cells (fig. 13, pl. 8). There are formed only two layers: the cuticle (outside-layer) and the pigment-layer.

In the gill-cover-glands, as well as in the lymph any glycogen is to be seen more. Sometimes the glands take after staining with Best's carmine only a light reddish colour, without showing a formed glycogen. Bogojawlensky (1938) reports about equal behaviour of the plasm of the silk-gland-cells.

The lymphocytes show only glycogenholding nuclei (fig. 6, 7, pl. 8). The still then existing numerous protein-cells have the same look as before, that means only nuclei show glycogen.

In the great vesicular cells (Leydig-cells) is the quantity of glycogen distinctly reduced. They often look as if they were glycogenfree. Sometimes however one may find here or there cells, in which the glycogen-grains and vacuoles are in pretty great amount. The connective fibers (support-beam) show as a rule still always glycogen, although, it does not exist in the parts which correspond to the hypodermic cells (fig. 13, pl. 8). It can not be stated then in other hypodermic cells; only in its nuclei it appears sometimes. The same may be stated also immediately after the process of ecdysis and I found it one week later too. On the contrary by the crayfishes which were killed 3—4 weeks after moult, one can find just equally distributed glycogen grains in all mentioned tissues, but the amount of this substance is much less as in the period of ecdysis.

I made also trials with famishing of animals. By the crayfish which was famished during 5 weeks immediately after the process of ecdysis I have found almost any glycogen more, neither in hypodermic cells and in connective fibers, nor in the lymph, lymphocytes or in the glands. Only little amounts, traces of glycogen (scanty grains here and there) were found in the otherwise quite empty vesicular cells.

By the purchased crayfishes on the contrary I could find glycogen even after 6 weeks of hungering. The vesicular cells

appear however also here more or less empty, only the nuclei of gland-cells and some connective fibers take after iodine-staining (after fixation in alcohol) a light brown colour. I saw also brown colouring grains in the lymphocyts.

Kirch was also not able to appoint the time, which is necessary for a perfect disappearance of glycogen in the tissues of the crayfish (l. c. p. 27). In his second experiment were the animals just after 37 days fasting quite glycogenfree, as however this result stood in striking contrary to the first, he decided to explain this result with influence of coldness on the glycogen forming.

Hungering trials which Bogojawlensky (1938) undertook on silkworm gave him as result the full exhaustion of glycogen-reserve in all organs (l. c. p. 211).

IV. Observations on fresh material

Skinparts of the gill-covers were treated on the slides by means of Langhans's or Barfurth's or Kan Kato Bleibtreu's methods.

For the Kan Kato-Bleibtreu's method and for the treatment by Langhans I used also a fixation of skinparts in absolute alcohol; later there were made sections from the between two disks of an older-tree-morrow lain skinparts by means of a plano-concave razor (according to the means used in botany), which were treated later with suitable fluids. The results were always strictly the same as after colouring of the fresh tissue. This method is therefore profitable because 1) the sections are always thinner than the whole pieces of tissue, what allows to observe exactly the topography of the tissue elements, what can not be seen on the teasing-preparations (the preparations made with teasing needles). 2) On such way fixed material can be longer preserved and the obtained results may be controlled several times.

Glycogen is after this colouring red-brown.

The principal result of my observations on the fresh material is that everywhere glycogen is to be seen as unformed (dissolved). Very seldom and only in the skinparts which were taken from the hungry animals, I saw small amounts of

glycogen in the form of round vacuoles. Generally it fills the concerning cells on the whole¹⁾.

After the treatment with iodine the vesicular Leydig-cells look prettiest and most intensely coloured. After treatment with iodine-kalium-iodate solution at once and by use of Kan Kato-Bleibtreu's method after some minutes, these cells appear on the whole pretty red-brown coloured and they contrast distinctly with the surrounded tissues (fig. 23 and 24, pl. 9). The easy perceptible »cell-membrane«²⁾ remains as well as the nucleus entirely uncoloured. On the uniform ground of the browned cell contents there appear only here and there fair, uncoloured, little spots; it may be perhaps fat³⁾. The vesicular cells have different forms. Near to the hypoderma lying cells show more alonged forms; as one sees here whole cells and not sections, their form can be perfectly stated.

That here really the glycogen substance is stained brown results from the spittle trial. The observed skin-parts were wetted with spittle and remained nearly half-an-hour at about 30°—35° C under the action of spittle. It was shown afterwards that the browning with iodine did not appear any more, the vesicular cells appear now as shrunked and take a fair yellow colour.

It may be noticed, that almost all authors (with exception of Kirch) who as Schneider, Janisch, Ringel (1924) inform about the vesicular cells of the crayfish and give the appearance of glycogen in them as reerve material, accept its existence only as supposition; I stated it there histologically and thereby I have verified the old statement of Kirch.

The hypodermic cells show after iodine staining a very different behaviour, what stands in harmony with the observations of the preserved material. Sometimes they are seen as quite

¹⁾ Kisker gives for *Mollusca* that by the animals which live under less better food conditions glycogen appears as unformed, but therefore in good nourishing conditions it appears in the form of grains. I remark that I observed by the crayfish rather the contrary.

²⁾ See the description of vesicular cells by *Crustacea* (Małaczyńska 1912), in the end-gut of *Astacus* also by Janisch (1924); comp. also Wetekamp (1915), Nold (1919) and Kisker (1923).

³⁾ Gallistel (1937) informs for *Daphnia magna*: »Fetzellen, welche keine Fetttröpfchen enthalten, führen in der Regel auch fast kein histologisch nachweisbares Glycogen«.

browned, the other time there are only nuclei stained brown or again above or under the nuclei one can see cap-like accumulation of the browned substance. The connective fibers appear generally on the whole filled with diffused glycogen; only the nuclei appear in these long elements clear on a dark ground.

Protein-cells in the skin-parts in which they appear in abundance, are after iodine-staining pale yellow, they differ however very distinctly from the tissues, which are coloured not at all; one can suppose, that certain amounts of glycogen exist in them. The balls appear *in vivo* strong bright.

As to lymphocysts I saw several times lymphocysts which were loaded with distinctly brown coloured grains. The grains, however, were here much greater than the in the fixated preparations red coloured glycogen grains and filled densely the lymphocysts. As to their behaviour they are like the eosinophilic lymphocysts.

The gill-cover-glands appear after use of iodine in most cases only pale-yellow coloured. The groups of the glands show indeed sometimes a brown staining, particular cells however, are always rather pale-yellow coloured. This however cannot be taken as histological proof of glycogen, because all tissues may appear yellow after iodine-staining. Bogojawlensky describes in the silk-glands of a silk-worm after using of Lugol's solution a colour »der ein Mittelding zwischen typischer braunroter Glycogen-färbung und gewöhnlicher strohgelber Färbung des Zellplasmas darstellt« (l. c. p. 209, 210) and concludes from it only conditionally upon existence of diffused glycogen in the cell-plasm.

By means of iodine-staining made observations it could also never be determined the existence of glycogen in the gill-cover-glands. Thus explains perhaps the fact that Kirch, who used only iodine-staining by his investigations, could not state any glycogen in the gill-cover-glands. In the view of this fact the value of the preserve methods appears in another light.

The with Zieglwallner's method fixated and further with Best's carmine stained gill-cover-glands show in certain periods noticeable amount of glycogen, what is to be seen on fig. 18 and fig. 20 and 21, pl. 9, 8. Without this method it could not be stated. Without the preserve methods the existence of gly-

cogen also in the nuclei of different cells could be hardly or not at all stated.

Considering above described observations, made on the fresh material I am obliged to accept, that the pictures which are to be seen on preserved preparations do not correspond to the state of facts. I must accept, that in living cells glycogen exists as unformed and fills the cells equally, only very seldom one sees in single cells small vacuoles of glycogen. Thus the grains, vacuoles and lumps which appear on a preserved preparations show only precipitates of glycogen. Some fixative fluids as f. i. Ziegll-wallner's mixture b) can give sometimes pictures, which correspond more to the real facts (fig. 2 and 3, pl. 8), but often was then the preserving of the tissues not specially satisfactory.

Kisker (1924) also found in the vesicular cells of *Helix pomatia* unformed glycogen substance and accepted that »das Auftreten von Glycogen in Form von kugeligen Ballen, durch die Konservierung hervorgerufen ist«¹⁾. This however what Kisker stated about the connection between the form of glycogen accumulation and life conditions could not be confirmed by me on my preparations.

My observations upon the appearance of cell-glycogen *in vivo* as unformed (diffused) glycogen, agree with the statements of other authors. I cite here f. i. the statement of Ehrlich²⁾, Noel (1922) and H. Gendre (1938), who inform about the glycogen inclusions in the liver or in the cartilaginous-cells of *Vertebrata*. Gendre describes however also grainforms of glycogen. He takes that: »l'état granuleux représente une traduction histologique de l'élaboration et de la migration du glucide et peut être un état transitoire dans les modifications physico-chimiques qu' il subit« (P. 171). Also about muscle glycogen informs this author (1938) that: »classiquement, le glycogène existe dans les tissus musculaires striés à l' état diffus«. However, while appealing to different authors which have described muscle glycogen in grainform (Arnold 1909, Loeper et Lemaitre 1930, Haggquist 1931, Aloisi 1934, Rojas and Resta 1937, Roskin 1938, Feyel 1938) he adds: »Néanmoins, on

¹⁾ l. c. p. 101.

²⁾ Cited according to H. Gendre.

peut affirmer, que c'est sous une forme »figurée«, que l'on fixe et que l'on colore »du glycogène« dans la fibre musculaire quelques soient les procédés employés« (p. 267).

Considering the point of view taken by G. Smith (1915) that glycogen supplies of *Crustacea* are stainable with neutral red, I add, that I have never observed the staining of glycogen with this dye. In the Leydig-cells which are entirely filled with unformed glycogen, it would be very easy to state, namely the whole cells would be obliged to appear equally red stained; but is however not the case.

V. Discussion

The accumulation of the great amount of glycogen substance before ecdysis in the tissues which build the skinduplication of the gill-covers may certainly stand in connection with the process of the skeletonforming, that means with the produce of chitin. However it could be here only accumulated as the supplies of glycogen which is determined for this timeperiod, in which the crayfish can not take any food. I have not stated how long this fastingtime before ecdysis lasts, neither I have not found any particulars about this matter in the literature. After ecdysis however it lasts by the crayfish about a week, because only after about 7 days is the skeleton impregnated with lime-salts so, that it becomes hard. Chantran (1879) and Vitzou (1882) inform, that the animals are hungering for some time after ecdysis. Schönborn (1912) however does not state it; he supposes that this circumstance lasts as long as the chelipeds¹⁾ are so soft that they cannot cut the food into pieces. This circumstance lasts according him no longer than 24 hours²⁾. Schönborn's informations touch however the crabs (*Carcinus* and *Maia*), for which the seawater is the source of mineralsalts. For the crayfish, a sweet water inhabitant, lasts this time, according to my observations, about a week and therefore the fasting time too must last at least as long.

The chemical compound of chitin $(C_8H_{13}O_5)_n$, a nitrogen containing polysaccharid, and that by many authors (Cl. Bernard

¹⁾ I think that it has to touch first of all the manducatory appendages.

²⁾ l. c. p. 540.

1879, Kirch 1886, Weber 1880, Verne 1924) stated considerable increase of glycogen substance in the tissues of *Crustacea* particularly in the tegumental tissues, just in the period of ecdysis, let suppose as very probable, that all these reserves can be used as a material for the production of a new chitin. To such conclusions there came just Cl. Bernard, Weber and Verne. As to my opinion this can first of all point to the facts that the glycogen substance accumulate in great amounts in the hypodermic cells and that the grains of glycogen are to be observed close to the extreme limit of cells in the next neighbourhood to the layers of new chitin. One can also state glycogen grains between the layers of the new chitin itself.

Verne takes it as fact, that glycogen serves as a material for produce of chitin, although he did not see any glycogen in the hypodermic cells by *Carcinus* and *Pagurus*. He relies there on the statement of glycogen accumulation in the connective tissue before ecdysis and on the hasty disappearance of this substance during the production of new chitin.

According to Schönborn (1910) also the percentage contents of glycogen of whole animals reduces during the produce of chitin. From his further investigations (1912) it is however evident, that immediately after ecdysis that percentage contents of glycogen of the whole animals is not so striking small (table II p. 539)¹), that the percentage contents of glycogen however is first of all dependent on the nourishing conditions (table I p. 536). These results however let not conclude anything upon the behaviour of this substance in the tegumental tissues.

Also L. Fage (1935) accepts that by the produce of chitin which according to him arises from the thick distal cell-ends of chitinogenous cells, glycogen takes an important part.

A. Paillot (1937) accepts also a direct participation of glycogen by the production of chitin by the silkworm; he relies on the fact of the glycogen migration into the neighbourhood of the outside cuticle.

I stated like M. Braun (1875), that before ecdysis there are formed only the both first layers of new skeleton: the outside layer and the pigment layer (according to K. C. Schneider);

¹ What indicates the author himself in the words: »während Glycogen keine aussergewöhnliche Werte ergibt«.

the produce of the third, the thickest layer (main layer) follows only after ecdysis. I have not stated how long this produce lasts. First after one week there are to be seen 2—3 piles of this third layer. But never after ecdysis we have to do with such accumulation of glycogen as before ecdysis. One can therefore conclude that for the production of new chitin such accumulation is not indispensably necessary. Schönborn (1912) noticed also particularly small amounts of chitin immediately after ecdysis and a hasty growth of the contents of this substance after this process. He does not report however about any increase of glycogen in this time.

The increase, however of glycogen in all tissues of the crayfish, as f. i. in the gill-covers also even in the skin-glands could perhaps indicate this fact, that in this period appears on the whole the more intensive metabolism in all tissues. The fact of the existence of glycogen substance in the cells of different tissues, also in these from the process of ecdysis distant time periods, as also the absence of glycogen by longer hungering animals (Kirch's, Schönborn's and my results), could however point to this, that this substance is only a normal product of metabolism, as it is taken by Kirch. For him is glycogen a by-product of the splitting of the albumen substances which are used in the chitinogenous cells for production of chitin. The accumulation of glycogen in the ecdysis period he explains by the important increase of the whole metabolism, which is in connection with the immense production of chitin (p. 46). Kirch, however does not accept the direct participation of glycogen in the building of skeleton.

I think, that these two views don't exclude each other, and that the glycogen substance, which is a normal product of cell-metabolism acumulates in the period of ecdysis in especially great amount in all tissues of body-wall, as a reservematerial and may be also used as a material for produce of the new chitin.

I must here express my sincere thanks due to Professor Dr. Casimir Simm, the Director of the Zoological Institute, for his great kindness and active interest in my work.

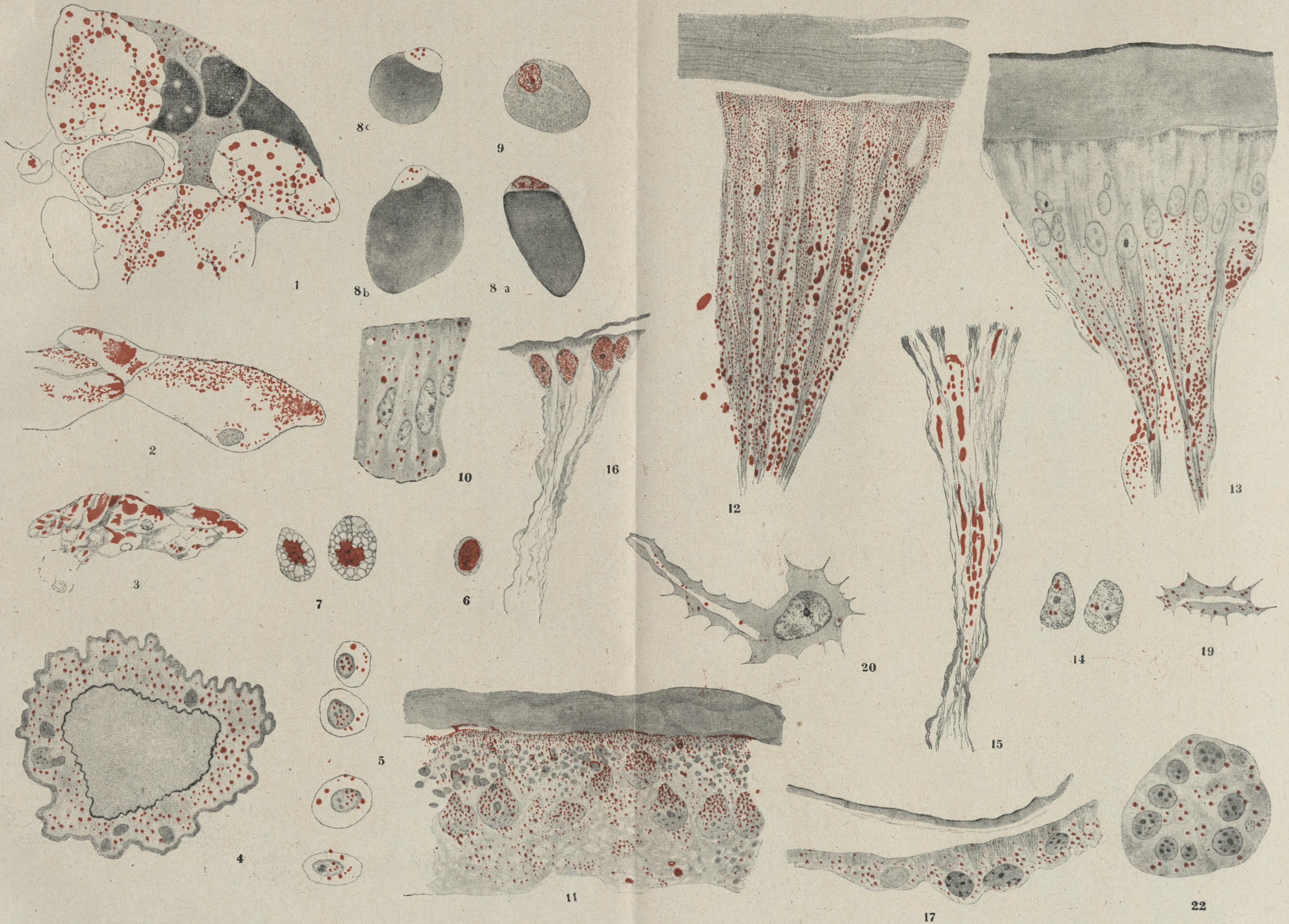
From Zoological Institute of the University of Poznai.

Literature

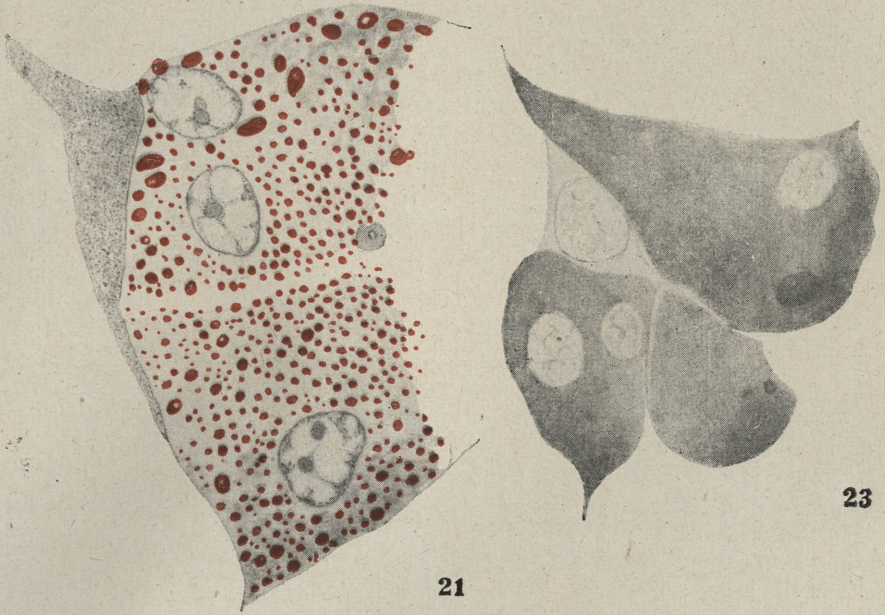
- 1) Alexeief A. C. R. Soc. Biol. T. 79. 1917. — 2) Aloisi M. Arch. Ital. anat. e embriol. 1934. — 3) Arnold J. Arch. für mikr. Anat. Bd. 73. 1909. — 4) Bauer H. Zeit. mikr. Anat.-Forsch. B. 33. 1933. — 5) Best F. Zeit. f. Mikrosk. 23. 1906. — 6) Bernard Cl. Soc. Biol. 1. 1859. — 7) Bogojawlensky K. S. Zeitsch. f. Zellforsch. u. Mikr. Anat. Bd. 22. 1935. — 8) Burghreave. Bull. d'Hist. Appl. T. 10. 1933. — 9) Chantran C. R. Soc. Biol. T. 78. 1874. — 10) Cuénot L. Arch. de Biol. T. XIII. 1895. — 11) Fage L. Arch. Mus. nation. Hist. nat. T. 12. 1935. — 12) Feyel Th. C. R. Soc. Biol. T. 128. 1938. — 13) Gallistel H. Zeit. Zellforsch. mikr. Anat. Bd. 25. 1937. — 14) Gendre H. Bull. d'Hist. Appl. T. 14. 1937. — 15) Gendre H. Bull. d'Hist. Appl. T. 15. 1938. — 16) Giesbrecht. Handbuch der Morph. der Wirbellosen Tiere. Jena 1921. — 17) Haggquist G. Gewebe u. Systeme der Muskulatur. Berlin. Springer 1931. — 18) Janisch E. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 121. 1923. — 19) Karpowitch A. u. Bogorad G. Zool. J. 19. (Russ. Engl. Zus.) 1940. — 20) Kirch J. Das Glykogen in den Geweben des Flusskrebse, Bonn 1886. — 21) Kisker L. G. Z. wiss. Zool. Bd. 121. 1923. — 22) Kolatchew A. Arch. Russ. d'Anat. d'Histol. et d'Embr. T. 1. 1917. — 23) Kollman M. Ann. de Sc. nat. 9 série zool. 1908. — 24) Kurkiewicz T. C. R. Soc. Biol. T. 104. 1930. — 25) Leydig F. Zelle. und Gewebe. Bonn. 1880. — 26) Loeper M. et Lemaire A. C. R. Soc Biol. T 103. 1930 — 27) Małaczynska Z. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. 1912. — 28) Małaczynska Z. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. 1917. — 29) Małaczynska-Suchcitz Z. Mémoires de l'Acad. Polon. des Sciences et des Lettres. 1936. — 30) Noel R. These Doct.-es.-Sciences, Paris 1922. — 31) Nold R. Zeit f. wiss. Zool. B. 123. 1924. — 32) Paillot A. C. R. Acad. Sc. 1937. — 33) Panning A. Zeit. f. wiss. Zool Bd. 123 1924. — 34) Pastéels et Léonard. Bull. d'Hist Appl. T. 12. 1930. — 35) Ringel M. Zeitsch. f. wiss. Zool. Bd. 123. 1924. — 36) Rojas P. et Resta L. S. Rev. Soc. Arg. Biol. 1937. — 37) Roskin G. Bull. d'Hist. Appl. T. 15. 1938. — 38) Smith G. Rep. 83. d. Meet. Brit. Ass. Adv. Sc. 1914. — 39) Schneider K. C. Lehrbuch d. vergl. Histol. d. Tiere. 1902. — Schneider K. C. Histologisches Practicum d. Tiere, 1908. — 41) Schönborn E. v. Zeit. Biol. (2) Bd. 37. 1910. — 42) Schönborn E. v. Zeit. Biol. (2) Bd. 39. 1912. — 43) Weber M. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 17. 1880. — 44) Wetekamp Fr. Zeitsch. f. wiss. Zool, Bd. 112. 1915. — 45) Verne J. C. R. Soc. Biol. 1924. — 46) Vitzou A. N. Arch. de Zool. experim. T. 10. 1882. — 47) Zieglwallner. Zeitsch. f. Mikroskopie. 1911.

Explanation of plates 8—9

All the figures were drawn with the aid of an Abbe Camera lucida on the level with the microscope-table; most drawings were made with employ of a Reichert microscope equipped with the hom. im. 1/12 and the compensatory eyepieces nr. 6, the figures 1, 2, 3, 4, 13, 15, 16 and 20 with employ of comp. eyepieces nr. 4.

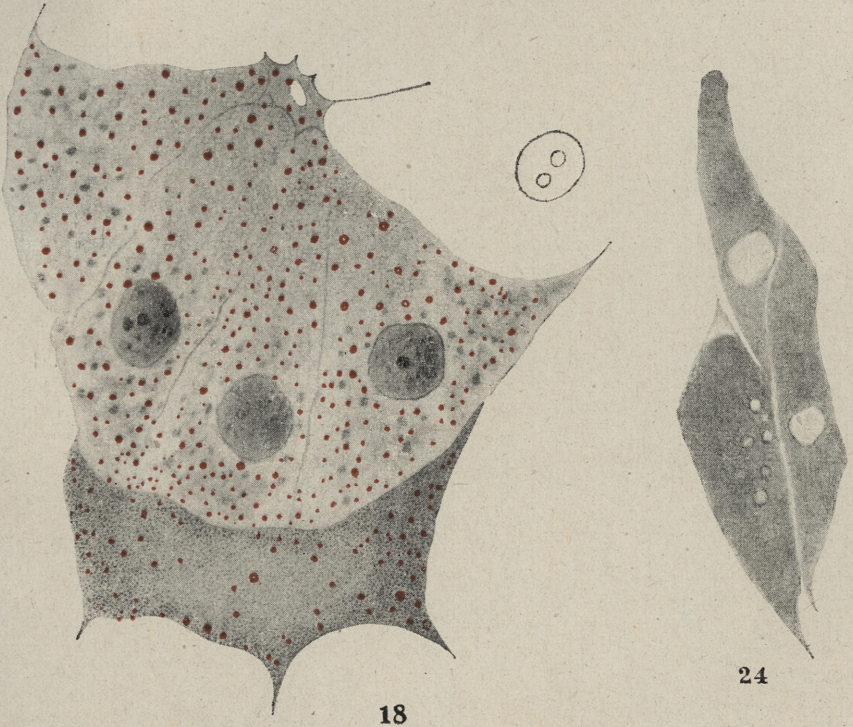


Z. Malaczyńska-Suchcitz del.



21

23



18

24

Z. Malaczyńska-Suchcitz del.

All the sections were taken from the tissue pieces preserved with Zieglwallner's fixative and afterwards stained with Best's carmine; the figures 23 and 24 represent the Leydig's cells from fresh material stained with iodine according to Kan Kato-Bleibtren's method.

Fig. 1. Leydig's cells of I. order, richly overfilled with glycogen; the transversal-section of a small blood vessel with glycogen grains in its wall and proteincells with great balls blackened with osmic acid, thereby in plasm also grains of glycogen. Glycogengrains also in lymphfluid.

Fig. 2. Leydig's cells of I. order, Glycogenflight.

Fig. 3. Leydig's cells of II. order lying under the hypoderma; great glycogen lumps.

Fig. 4. The transversal section of a midle-sized blood-vessel. Glycogen-grains in its connective tissue wall. Blood glycogen-free.

Fig. 5, 6 and 7. Blood and lymf-cells of the gill-cover. Explanations in text.

Fig. 8a, 8b, 8c and fig. 9. Proteincells; explanation in text.

Fig. 10. Hypodermic cells of the upper epithelium of gill-cover. The crayfish killed in the time still very distant from the process of ecdysis. In cytoplasm still scanty glycogen grains.

Fig. 11. The greater accumulation of glycogengrains in the upper hypoderma before ecdysis. The nuclei show glycogen too. In the upper end of the cells round bodies of unknown meaning, sometimes with glycogen grains within are seen.

Fig. 12. Hypodermic cells belonging to elonged elements i. e. connective fibers (Stützbalken Kirch's), which are richly overfilled with glycogen grains and lumps.

Fig. 13. Hypodermic cells with the belonging to them parts of connective fibers; the last with greater accumulation of glycogen.

Fig. 14. The nuclei of hypodermic cells with glycogen grains. The cytoplasm have glycogen no more.

Fig. 15. Connective fibers with great lumps of glycogen substance. Fig. 13 and 15 are taken from a crayfish immediately before ecdysis.

Fig. 16. The to connective fibers belonging hypodermic cells of the under epithelium; their nuclei show unformed glycogen.

Fig. 17. The under epithelium of the gill-cover. Hypodermic cells with glycogen grains.

Fig. 18. The trasversal section of a gill-cover-gland; 4 glandcells and one exporting cell. The equal distribution of glycogen grains in the plasm of both cell-kinds. Glycogen grains also in the intimate lymph space.

Fig. 19 and 20. The parts of the longitudinal sections of exporting cells. Scanty glycogen grains in plasm, also in exporting duct.

Fig. 21. The gland-cells with greater grains and lumps of glycogen.

Fig. 22. A transversal section of a young gill-cover-gland. Explanation in text.

Fig. 23 and 24. Leydig's cells after staining with iodine (Kan Kato Bleibtren's method).

The cells of fig. 24 show the little spots, probably fat.

*Badania nad widzialnością podczerwieni u zwierząt. —
I. Doświadczenia nad żółwiami wodnymi. — Investiga-
tions on the vision of infra-red in Animals. I. Investiga-
tions on water tortoises.*

Mémoire.

de M. R. J. **WOJTUSIAK**,

présenté le 19 Mars 1947 par M. Z. Grodziński m. c.

1. Problem

The problem of visual sensibility to infra-red radiation in tortoises arose during a discussion held some twenty odd years ago concerning the role of coloured fat globules in the eye of *Sauropsida*. Henning (1920) supposed that birds and tortoises that have in their retina orange or red coloured fat globules are capable of seeing even through the fog. This faculty was supposed to facilitate to tortoises the orientation in damp, foggy, and swampy regions and to enable the birds to find their way when flying. Such an opinion was contradicted by Honigmann (1931) who stated that the presence of a colour filter inside the tortoise-eye does not explain because of purely physical reasons their seeing through the fog. This author argued that men in putting orange or red coloured spectacles would obtain the same results and uttered a supposition that tortoises are directed in their orientation chiefly by their well developed sense of smelling.

In one of my former papers (Wojtusiak 1937) I emphasized that this problem can be settled neither in favour of the first nor the second hypothesis as long as some special test-experiments do not prove that the tortoise-eye is sensitive to infra-red rays. The results obtained by photography with long wave radiation invisible to human eye (Rowling 1933) point to the fact that seeing through the fog should be possible only in cases in which the retina of an animal would be sensitive to

long wave radiation. On the other side, the experiments on the orientation of birds carried out by the author of the present paper (1934-45), suggested him the idea that at least some species of birds, and probably also other vertebrates and invertebrates are capable to perceive the infra-red. Facts speaking in favour of this hypothesis were presented in a special theoretical paper (Wojtusiak 1946). The question how far the suppositions of infra-red perception in animals are justified could be answered only by special test experiments. Some authors (Vanderplank 1934, Stephenson E. M. 1946) show in this question a positive relation and others (Mathews L. H. & Mathews B. H. C. 1939, Hecht S. & Pirenne M. H. 1940) a negative one. The present paper gives the results obtained in this respect with water tortoises.

2. Material and method

The water tortoises used for the experiments belonged to the following species: *Emys orbicularis* L. (3 specimens), *Geoclemys reevesi* Gray. (2 specimens) and *Cyclemys amboinensis* Daud. (1 specimen). To investigate whether the tortoises are sensitive to infra-red radiation or not a special training method was adopted. The animals were fed with small bits of meat presented to them on a wire against a rectangular light spot projected on a white screen by a lamp emitting both visible and infra-red radiation. As soon as the tortoises came to associate the food given to them, with the light spot on the screen, they were given the choice among two light spots, one containing infra-red rays and another in which these rays were reduced by aid of a special filter. In choosing the infra-red light spot, which we shall call the training one — the tortoises received food, when choosing the second light spot — the negative one, they were given no food. To avoid their getting trained to a particular side the »feeding« light spot was changed every second, third or fourth time from right to left and vice-versa. Had the animals not been directed in choosing among the light spots by their different contents of infra-red rays, they would have to choose just as often the one as the other light spot. The fact that they actually discerned the two light spots ought naturally find its expression in a prevailing number of positive reactions to the »training« spot.

The experiment-method was in detail as follows:

The tortoises were fed in a flat tin water tank about 65 cm square and 18 cm deep. At one side of the tank was installed a white cardboard screen, the opposite side having another screen with two rectangular openings 11 mm wide and 5 cm high. The light spots projected through these openings on the first screen came from a lamp placed 70 cm before the tank (fig. 1.). The training and feeding was done only at one of the light spots

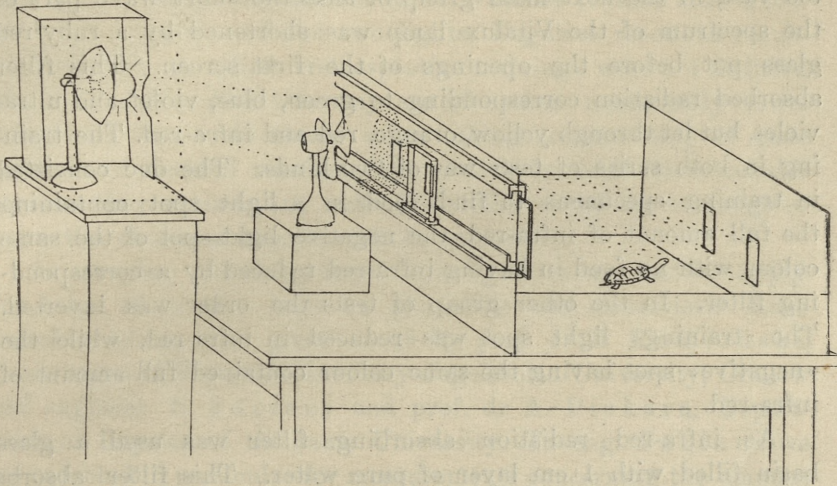


Fig. 1.

right or left. The lamp used was a Vitalux bulb 500 Watt, sending out radiation wave from 270—4000 $m\mu$ which contain the whole visible part of the spectrum, from some 390 to 760 $m\mu$, and on one side a certain amount of invisible ultraviolet rays while on the other strong infra-red rays equally invisible to human eye. Since infra-red ranges practically to some 10,000 $m\mu$ and passes then gradually into electromagnetic short wave radiation (Hertzian rays), our lamp gave us only a part of infra-red. Yet this amount of infra-red near the limit of the visible part of the spectrum seemed quite sufficient for our purpose as we supposed the visual sensibility of tortoises to be much more prolonged towards long wave radiation than is the case with human eye. The lamp was covered with cardboard so that a little amount of light penetrated outside. Owing to this circumstance the eyes of

tortoises were in the condition of normal light adaptation and were able to distinguish the colours. The cardboard lamp shade had a round aperture in its fore part, 8 cm wide, through which the light passed on the screen with openings and through them on the »training« screen.

The white light used for the main series of tests came directly from the lamp and contained the whole amount of both visible and invisible radiation. The range of radiation being thus too vast, in the next main group of tests the short wave part of the spectrum of the Vitalux lamp was shortened by a ruby-red glass put before the openings of the first screen. This filter absorbed radiation corresponding to green, blue, violet and ultra-violet, but let through yellow, orange, red and infra-red. The training in both series of tests was of two kinds. The one consisted in training specimens to find food in a light spot containing the full amount of infra-red, the negative light spot of the same colour with no food in having infra-red reduced by a corresponding filter. In the other group of tests the order was inverted. The »training« light spot was reduced in infra-red, while the »negative« spot having the same colour contained full amount of infra-red.

As infra-red radiation absorbing filter was used a glass basin filled with 1 cm layer of pure water. This filter absorbs infra-red radiation from 1500 m μ upwards and has the advantage to be colourless. Its disadvantage is to let through short wave heat radiation from 760—1500 m μ . To prevent this it would be necessary to use a filter of water at least 10 m thick.

The two beam fascicles one of which was transmitted through a water filter, projected on the white screen, differed in the general amount of radiation. The filtered beams contained less infra-red than those coming directly from the lamp. This difference could influence the animals in their choice and therefore the factor had to be eliminated. This was obtained by putting before the not filtered opening a four winged rotating sector moved by an electric motor. The sections used were 1/2 and 1/4 the surface of a circle. The position of the filter and the rotating sector to each other was changed with every change of the feeding side, done in order to avoid getting the animals trained to a definite spot. It may be worth noting that in the be-

ginning we tried to use an electric ventilator instead of rotating sector whose wings lie in one surface. The ventilator has the drawback of giving rise to air vibrations and because of that in our further experiments we used exclusively the rotating sector.

The experiments were recorded in principles similar to those we adopted in our former investigations on the sense of colour and shape in tortoises (Wojtusiak 1933, 1934). Every reaction was noted regardless of the fact whether the choice of one of the light spots was purely accidental or whether it came after a longer close inspection of the two lights. Negative reactions resulting from the so called »retrospective training« were not deduced. The data obtained in this way are of course numerically lower than those one could obtain when taking account only of quite certain and decided reactions, but seem to be much more reliable because they exclude any individual influence of the investigator upon the choice of reactions to be recorded.

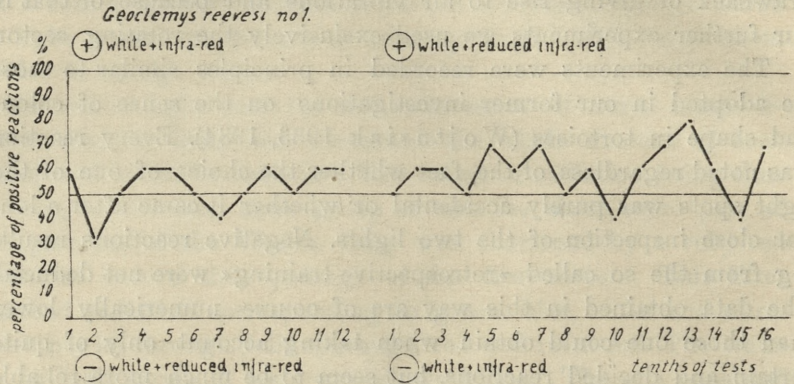
In carrying out the present investigations we had to apply for helps more than once to physicists and chemists. Much valuable advice was given to us by prof. dr B. Kamieński, Department of Physical Chemistry Jagellonian University, Cracow and engineer S. Fabiani and prof. dr A. Piekara, Department of Physics of the same University. To eng. Fabiani we are indebted in particular for measurements concerning the amount of radiation projecting on a white screen and transmitted through different filters as well as for hints how such measurements are to be made in practice. We take the pleasure to express here our heartfelt thanks to these two gentlemen. We feel also indebted to prof. dr E. Kurzyniec, Department of Chemistry Jagell. Univ. for the loan of specially sensible thermometers and a thermoelement. For a technical assistance we thank also to our collaborators miss B. Kryńska and mr. M. Młynarski.

3. Experiments with white light

The experiments of this series were done with 1 specimen of *Geoclemys reevesi* no 1 and 2 specimens of *Emys orbicularis* no 1 and 2.

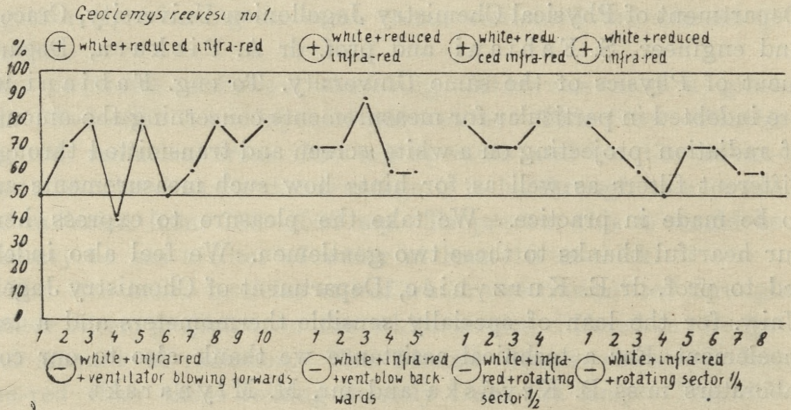
Geoclemys reevesi no 1 was feed for several days in the white light spot containing full infra-red sent out by the lamp. When the animal got accustomed to one white spot, it was gi-

ven to distinguish two white spots, one positive and an other negative with infra-red much reduced by a water filter. The



Diagr. 1.

number of tests was 120, the results of which are presented in the diagr. 1. and table 1. As seen the animals discerned one white light from another, though rather faintly. The average of



Diagr. 2.

positive reactions was 54%. The specimen was trained again but invertedly to the white light with no infra-red against a white light with infra-red. The result of 160 tests was more discernible 59% of reactions being positive. As the experiments were going on the animal visibly learnt better to distinguish the two white lights.

TABLE I.

Experiments	Name of tortoise nr.	without rotating sector		with rotating sector 1/2		with rotating sector 1/4	
		number of tests	number of positive reactions	number of tests	number of positive reactions	number of tests	number of positive reactions
Training on the white light spot containing full amount of infra-red	<i>Geoclemys reevesi</i> 1	120	54%	—	—	—	—
	<i>Emys orbicularis</i> 1.	100 (7)	72% (100%)	—	—	140 (4)	72.3% (100%)
Training on the white light spot containing reduced amount of infra-red	<i>Geoclemys reevesi</i> 1.	160 (12)	59% (83%)	40 (7)	75% (100%) (ventilator blowing, (forwards)	80	65%
				[100 (19)]	[66% (94.7%)] (ventilator blowing (backwards)		
	<i>Emys orbicularis</i> 2.	80 (10)	62% (100%)	[50 (6)]	70% (100%)	80 (3)	70% (100%)
Training on the red light spot containing full amount of infra-red	<i>Cyclemys amboinensis</i>	100 (5)	67% (100%)	—	—	—	—
	<i>Emys orbicul.</i> 3. exp. 1.	120 (15)	60% (93.3%)	60	68%	50 (5)	69% (100%)
	" " " 2.	170 (15)	67% (100%)	—	—	70 (11)	74% (100%)
Training on the red light spot containing reduced amount of infra-red	<i>Cyclemys amboinensis</i> experiment 1.	50 (15)	56% (92.8%)	—	—	—	—
	<i>Cyclemys amboinensis</i> experiment 2.	150	60%	—	—	—	—
	<i>Geoclemys reevesi</i> 1.	180 (13)	61% (100%)	—	—	70 (4)	84% (100%)
	" 2.	160 (31)	63% (96.7%)	—	—	70 (4)	78% (100%)

In order to verify whether the obtained results do not derive from the different amount of radiation transmitted through the two openings an electric four winged ventilator whose cuttings formed $1/2$ of the surface of a full circle was put before the opening with no water filter. The air currents of this ventilator was first directed from the lamp towards the water tank containing the tortoise. 100 tests gave 66% of positive reactions. In further tests the current of the ventilator was directed towards the lamp in order to avoid the influence of heat. 50 tests gave 70% of positive reactions.

In further experiments the influence of air current was completely eliminated. The ventilator with inclined wings was replaced by plat rotating sectors made of cardboard. With this rotating sector whose wing cuttings correspond equally to $1/2$ of the whole surface of a circle the former tests were resumed. 40 tests gave 75% of positive reactions. To assure a more complete elimination of any differences of radiation the wing cuttings of the sector used were made $1/4$ of the surface of the circle. The results of 80 tests show 65% of positive reactions.

The physical conditions of the tests were as in the table II.

As seen from the above a rotating sector $1/2$ was quite satisfactory to counterbalance the amount of radiation transmitted by the water filter. The positive reactions did not show a decrease neither with this sector nor with that of $1/4$ at which the ratio of radiation amount was inverted. Consequently we may infer that the tortoise distinguished the two white lights according to their various contents of infra-red. This inference could be opposed by a suggestion that the tortoises might also be directed in their choice of one of the light spots by a difference of temperature within the two lights. In such case instead of visual reactions we should have to deal with reactions to temperature.

To ascertain what are the differences of temperature in each case we made corresponding measurements in both light projections with the aid of a thermopile composed of copper wire and constantine welded together at the ends and connected in two places so as to allow each pile to be located within each of the light spots. The reading of differences of temperature was done directly on a mirror galvanometer POT (Cambridge Instrument Co). The calibrating of the scale enabled us to give diffe-

TABLE II.
Amount of radiation in different series of experiments

Light spot:	Amount of radiation expressed in oscillations of the galvanometer
white containing full amount of infra-red without rotating sector	8.5 mm
" " with rotating sector 1/2	4.0 "
" " " " " 1/4	3.5 "
white containing reduced amount of infra-red	4.0 "
red containing full amount of infra-red without rotating sector	6.0 "
" " with rotating sector 1/2	3.5 "
" " " " " 1/4	3.0 "
red containing reduced amount of infra-red	3.0 "

rences in °C. The adjoining table III presents the results obtained for white lights.

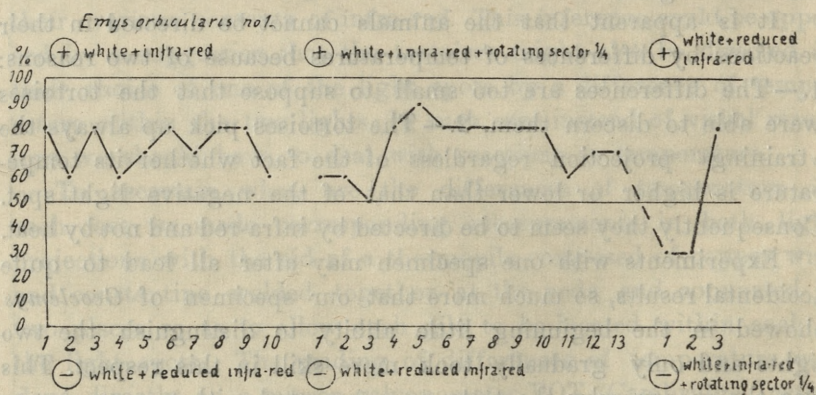
It is apparent that the animals cannot be directed in their reactions by differences of temperatures because of two reasons: 1.—The differences are too small to suppose that the tortoises were able to discern them, 2.—The tortoises pick up always the »training« projection regardless of the fact whether its temperature is higher or lower than that of the negative light spot. Consequently they seem to be directed by infra-red and not by heat.

Experiments with one specimen may after all lead to quite accidental results, so much more that our specimen of *Geoclemys* showed in the beginning little ability to distinguish the two lights and only gradually took more skill in this respect. This was the reason why the tests were repeated with two specimens of *Emys orbicularis*. The results are as followed:

TABLE III.
Differences in temperature in individual series of experiments

Light spots:		Difference of temperature calculated by aid of thermopile and galvanometer
white containing full amount of infra-red without rotating sect.	white containing reduced amount of infra-red	- 0.12°C.
" " with rotating sector 1/2	" "	- 0.04°C.
" " " 1/4	" "	+ 0.04°C.
red containing full amount of infra-red without rotating sect	red containing reduced amount of infra-red	- 0.08°C.
" " with rotating sector 1/2	" "	- 0.06°C.
" " " 1/4	" "	- 0.02°C.

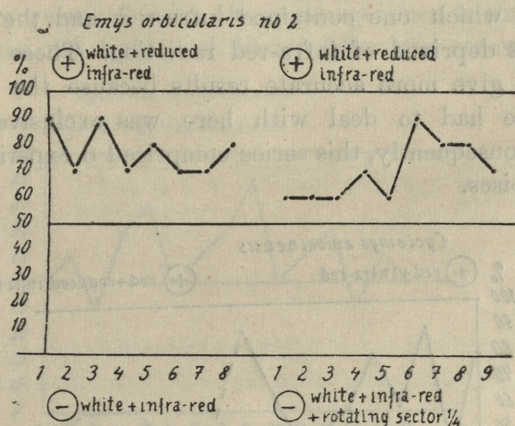
Emys orbicularis no. 1 (diagr. 3) was trained to white light containing infra-red. For distinction the white light was transmitted



Diagr. 3.

through a water filter. Out of 100 tests 72% of reactions were positive. In further experiments the light had no filter and was dimmed by a rotating sector 1/4 through which, as shown in the two tables the amounts of radiation and heat contained in both light spots were quite reverted. In 140 tests with this tortoise 72% of reactions proved positive. The animal discerned the two light spots according to their contents in infra-red.

After the first series of tests the training with this tortoise was changed, the filtered white light being made positive and



Diagr. 4.

the infra-red white light with rotating sector 1/4 negative. In the first 20 tests the reactions to the new training spot showed an immediate and violent decrease to 30%. The tortoise kept on picking up the infra-red as formerly and only gradually learnt to distinguish the two spots.

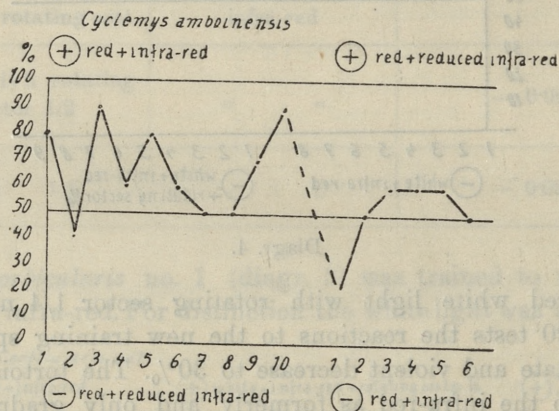
Emys orbicularis no. 2 (diagr. 4) was invertedly to the former specimens trained to white light spot with water filter. Out of 80 tests 62 reactions were positive which makes 77.5%. The tortoise distinguished quite well the two lights. When, to change the amount of radiation and the temperature, a rotating sector 1/4 was put before one of the openings and no filter used, 90 tests gave 70% positive reactions to the »training« spot.

All experiments with tortoises given to discern the two white lights by their contents in infra-red proved unmistakably that the animals picked up in a predominating percentage the

»training« light. Since the reactions to the »training« light are positive with no regard to the amount of general radiation sent to the screen through both openings and are not influenced by the difference of temperature — it is to be inferred that the tortoises are directed here by the presence of infra-red.

3. Experiments with red light

Another main group of experiments consisted in giving the tortoises to discern among two lights transmitted through a ruby glass out of which one contained infra-red and the second was in most part deprived of infra-red radiation. These experiments promised to give more accurate results because the part of the spectrum we had to deal with here was exclusively the long wave one. Consequently, this series comprised 6 experiments made with 5 tortoises.



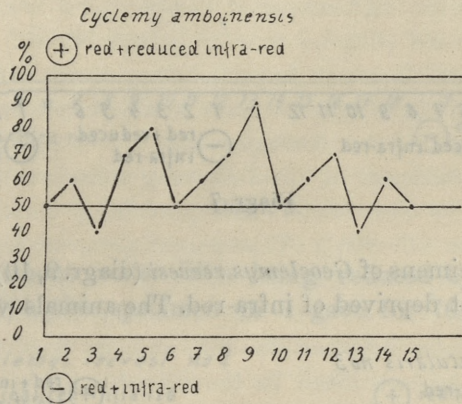
Diagr. 5.

In experiment 1. (diagr.5) *Cyclemys amboinensis* was trained to a ruby glass light with no water filter. As a contrast to the »training« light it was given next the same ruby glass light but transmitted through 1 cm water filter. In 100 tests the animal showed 67% positive reactions.

A supplementary training was made to control whether the animal had actually made difference between those two lights. The former »training« light was used as negative, the positive one red but deprived of great amount of heat radiation. The

value of both lights was at first followed by a violent decrease of reactions to the new training light and the increase of reactions came only gradually. To illustrate this it is enough to note that while the ten last tests of the former training experiment gave us 90% of positive reactions their number was merely 20% in the beginning of the new training cycle. The animals reactions initially referred positively only to the old training light. After attaining the number of 60 the tests had to be interrupted because the animal refusing food.

They were resumed with the same specimen in some 6 weeks. Training to the red light with water filter was renewed and the



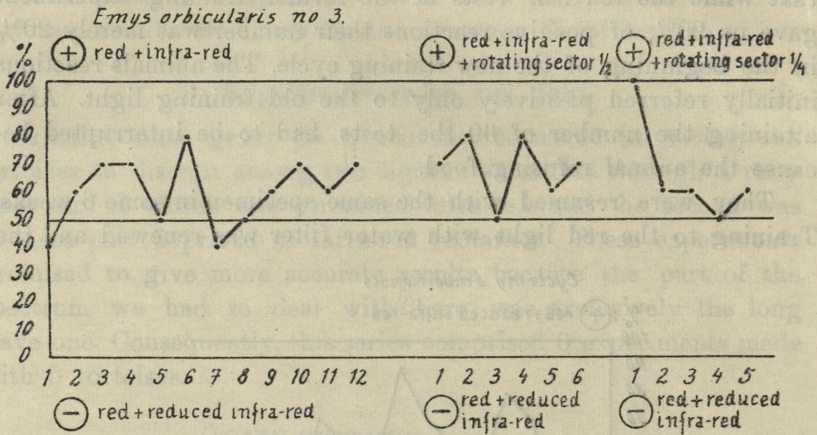
Diagr. 6.

animal given then to discern the training red light from full infra-red. 150 tests showed 60% of positive reactions. The tests were interrupted because of the animal refusing to accept food again.

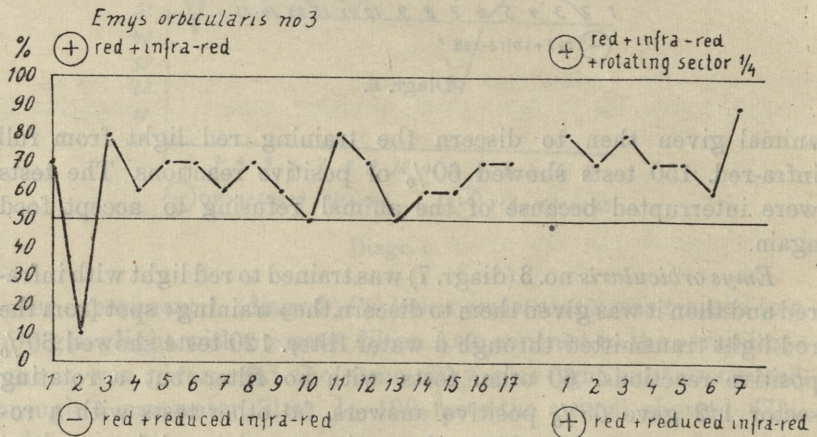
Emys orbicularis no. 3 (diagr. 7) was trained to red light with infra-red and then it was given them to discern the »training« spot from the red light transmitted through a water filter. 120 tests showed 60% positive reactions. 60 other tests with no filter but a rotating sector 1/2 gave 68% positive answers. 50 other tests with a rotating sector 1/4 gave 69% of reactions to the training spot.

Past an interval of one month the same specimen (diagr. 8) of tortoise was used once more for similar experiments. Training to red light with full infra-red was renewed and this light opposed (for the animal to choose) to red light deprived of most infra-

red. The tortoise showed again the faculty of discerning the two lights. 170 tests gave 67% of positive reactions. With a rotating sector 1/4 in 70 tests the animal gave 74% right answers.

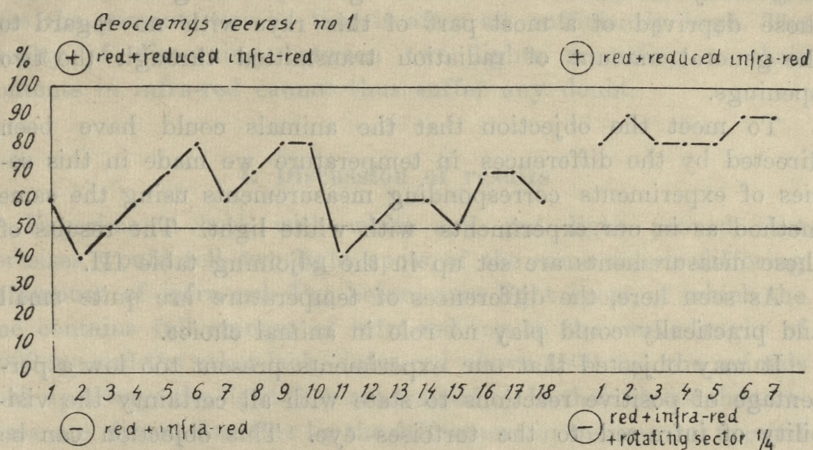


The two specimens of *Geoclemys reevesi* (diagr. 9, 10) were trained also to red light deprived of infra-red. The animals were fed in red

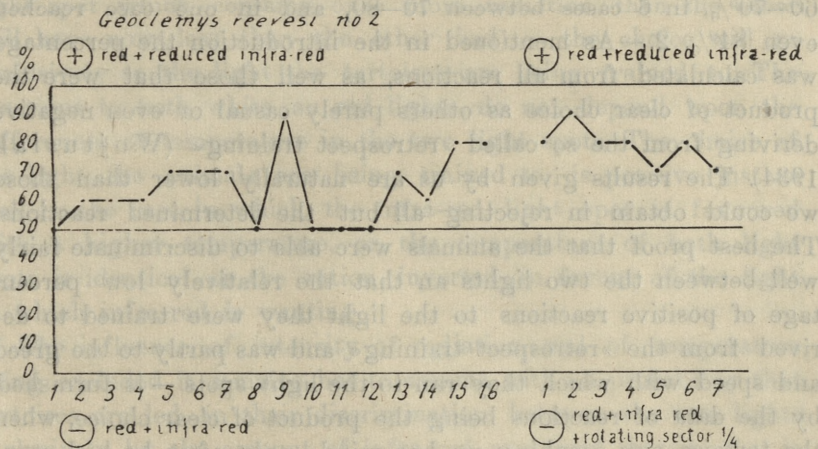


light transmitted through a water filter and then given to discern red light with full amount of infra-red. The specimen nr 1 showed

in 180 tests 61% positive reactions. The specimen nr 2 reacted positively in 63% of 160 tests. The amount of radiation in the



light spot without water filter being reduced by aid of a rotating sector $\frac{1}{4}$, the specimen nr 1 gave for 70 tests 84%, the



specimen no 2 for 70 tests 78% of positive reactions. All the experiments, in which red light radiation (corresponding in wave

lengths for the human eye to yellow colour upwards) was used, showed that tortoises belonging to all the three species used by us actually discriminated between lights containing infra-red and those deprived of a most part of this rays with no regard to the general amount of radiation transmitted through the two openings.

To meet the objection that the animals could have been directed by the differences in temperature we made in this series of experiments corresponding measurements using the same method as in our experiments with white light. The results of these measurements are set up in the adjoining table III.

As seen here, the differences of temperature are quite small and practically could play no role in animal choice.

It may be objected that our experiments present too low a percentage of positive reactions to state with all certainty the visibility of infra-red to the tortoise eye. This objection can be easily removed because of the following reasons: 1.—The percentage of positive reactions in the prevailing number of cases oscillated between 60–80%. This percentage was slightly lower but in three experiments (54, 56, 59%) yet it never came as low as 50% or lower. In 10 cases the obtained data were between 60–70%, in 6 cases between 70–80, and in one case reached even 84%. 2.—As mentioned in the introduction the percentage was calculated from all reactions, as well those that were the product of clear choice as others purely casual or even negative deriving from the so called »retrospect training« (Wojtusiak 1934). The results given by us are naturally lower than those we could obtain in rejecting all but the determined reactions. The best proof that the animals were able to discriminate fairly well between the two lights and that the relatively low percentage of positive reactions to the light they were trained to derive from the »retrospect training« and was partly to the greed and speed with which they ran to the light spots — is furnished by the data of reactions being the product of clear choice, when the tortoise was »making up her mind« only after he had stopped and beheld for some time the two lights. The percent of these reactions is given in our tables in brackets. As initially we did not pay special attention to this sort of reactions or had no time to mark each of them, their number is in some cases rela-

tively low. In some other the number was sufficient to draw conclusions. The adequate data when compared show that the »choice« reactions were positive in 90 odd to 100%. In one single case the percent was 84 that is after all sufficiently high. The faculty of discerning between two lights according to their contents in infra-red cannot thus suffer any doubt.

4. Discussion of results

Experiments both with white and red light proved that tortoises would tell two light spots of the same colour differing in amount of infra-red. Put before two light spots, of which the one contains full amount of infra-red up to the wave-length of 4000 μ and the other lacks infra-red above 1500 μ , the animals pick up always the light they are trained to. In their choice the tortoises are directed neither by the differences in the general amount of radiation sent to the screen, nor by the differences of temperature in the two light spots. Whether one of the spots contains more general radiation than the other or whether both lights have the same amount of radiation, or finally whether the differences in general amount of radiation are inverted (so that the one light spot which contains once more radiation than the other will have now less than the other had) — the choice will go exclusively to the light the tortoises are being trained to. The reactions to both white and red lights do not depend upon the differences of temperature in the two light spots. The choice of the light, the animals are being trained to, is positive just as well in the case in which the infra-red light spot is favoured with a higher temperature, or the temperature of both light spots is identical or the ration inverted in favour of the light in which infra-red is wanting.

The influence of intensity of radiation and of temperature being excluded it remains but to assume with all probability that tortoises are led in their discrimination between the two lights exclusively by the amount of infra-red contained therein, that is to say they show visual sensibility to infra-red radiation, invisible to the human eye. Their sensibility to electromagnetic radiation compared with that of the human eye would thus be prolonged towards the long wave part of the spectrum

similarly as the sensibility in bees (Kühn A. 1927) is prolonged towards the short wave ultra-violet rays invisible to the human eye.

The faculty of seeing the infra-red would serve to solve the much contested problem whether the tortoises are able to see through the fog. Since infra-red radiation penetrates the fog and the clouds we could assume that the tortoises see better in dim and foggy conditions than is the case with man. This faculty would be explained not only by the presence of coloured fat globules in the tortoise's eye. Mere existence of an orange red filter in the retina cannot alone assure the vision through the fog. Such faculty may be due only to the sensibility to infra-red. The colour filter in the retina could cooperate in this faculty by transmitting exclusively long wave radiations and a partial extinguishing the short wave ones (Wojtusiak 1933). The tortoise's eye would then present some analogy with a camera provided with a red filter but allowing to take snapshots in the fog only with the use of a plate or film sensitive to the infra-red.

Sensibility to infra-red would enable also the tortoises to see in the night. All objects emitting or reflecting heat rays would appear bright to her eye in contrast with those that do not emit any heat rays (Stephenson E. M. 1946). The fact would explain us the problem of tortoise migrations described by Ch. Darwin from the Galapagos. (1870). The giant tortoises of these islands eminently diurnal in their habits undertake namely often long distanced day and night migrations in search of fresh water. In their peregrination in the dark the animals could be directed by heat rays. Owing to them their surroundings would present themselves in just as distinct gradation of light intensity as they appear to our eye during the day. Yet, the contrasts of light and shadow in such a picture must be quite different to those we perceive in the day visions of our human eye.

Department of Psychology and Ethology of Animals, Jagellonian University, Cracow.

Bibliography cited

- 1) Darwin Ch.: A naturalist's voyage round the World... 1870. —
- 2) Hecht S. & Pirenne M. H.: The sensibility of the nocturnal Long-Eared Owl in the spectrum. Journ. General Physiol. 23. pp. 709-717, (1940). —
- 3) Henning H.: Optische Versuche an Vögeln und Schildkröten über die Bedeutung den roten Ölkugeln im Auge. Pfügers Arch. 178 (1920) — 4) Honigmann H.: Zur Biologie der Schildkröten. Biol. Zbl. 41 pp. 241-250 (1921). —
- Kühn A.: Über der Farbensinn der Bienen. Ztschr. f. vergl. Physiol. 5. pp. 762-800 (1927). — 5) Matthews L. H. & Matthews B. H.: Owls and infra-red radiation. Nature, 143. p. 983. (1939). — 6) Rawling S. O.: Infra-red Photography. London & Glasgow 1933. — 7) Stephenson E. M.: Animal camouflage. Pelican Books, 1946. — 8) Vanderplank F. L.: The effect of infra-red waves on tawny-owls (*Trix aluco*). Proc. Zool. Soc. London. pp. 505-507, (1934). — 9) Wojtusiak R. J.: Rozróżnianie barw u zwierząt a barwy kwiatów. Kosmos »B« Lwów, 64, pp. 259-284 (1937) — 10) Wojtusiak R. J.: Über den Farbensinn der Schildkröten. Ztschr. f. vergl. Physiol. Berlin, 18. pp. 393-436. (1933). — 11) Wojtusiak R. J.: Über den Formensinn der Schildkröten. Bull. Acad. Polon. Sc. B. II. Cracovie, pp. 349-373 (1934). — 12) Wojtusiak R. J.: Hypothesis of the sensibility to infra-red rays as an attempt to explain some problems of orientation of animals. Comptes Rend. Acad. Polon. Sc. Cracovie. 1946. — 13) Wojtusiak R. J. & Ferens B.: Investigations on the Faculty of Orientation and Velocity of flight in Birds. VII. — Further Observations on the homing velocity and preliminary Experiments on the role of Memory in the Orientation in space of Chimney Swallows (*Hirundo rustica* L.) Bull. Acad. Polon. Sc. B. II. Cracow. 1945.

Unaczynienie błędnika pstrąga tęczowego (Salmo irideus Gibb.) — Vascularisation du labyrinthe de la truite arc en ciel (Salmo irideus Gibb.)

Mémoire

de M. **ST. KOZIOL**,

présenté le 19 mars 1947 par M. Z. Grodziński m. c.

Problème et méthode

Un certain nombre d'anatomistes a mené des investigations détaillées concernant le labyrinthe de différents groupes des vertébrés, en commençant des *Cyclostomata* jusqu'aux *Mammalia*. Dans ces travaux on s'intéressa principalement à la construction macro- et microscopique de l'organe (Retzius — 1881, Plate — 1924, Kolmer — 1927, Burlet — 1931, Kikuchi — 1934) et de son développement embryonnaire (Murayama — 1927). D'une manière spéciale on consacra beaucoup de place à la physiologie des organes sensuels, localisés dans le labyrinthe. Dans la littérature il n'y a aucune mention du système vasculaire sanguin du labyrinthe chez les poissons osseux. Hasse a écrit circonstancié au sujet du système vasculaire sanguin des labyrinthes chez les autres vertébrés (*Rana temporaria*), Francis (1934) *Salamandra salamandra* L.; plus exactement l'a fait Snapp 1924 (pigeon, poule, l'oie, canard), Nabeya 1925, (homme, chien, chat, rat, cobaye, lapin et singe).

En connexion avec les recherches sur les vaisseaux sanguins du labyrinthe de la truite je me suis servi du matériel composé des spécimens longs de 18 à 25 cm.; les vaisseaux de ces derniers étaient remplis d'encre de Chine, délayée dans une solution physiologique de sel et d'une masse rouge de la gomme laque. Aux dits sujets on a injecté la solution colorante dans l'artère de la queue au moyen d'une seringue »Record«. L'encre de Chine

remplissait les veines et les vaisseaux capillaires — la masse rouge les artères. Les spécimens injectés ont été fixés par l'immersion dans la formaline. Les labyrinthes furent préparés sous la loupe binoculaire dans la tête, rendue transparente dans l'huile de cèdre, ou dans l'eau.

Topographie, grandeur et construction du labyrinthe

Le labyrinthe pareillement comme chez tous les *Teleostei* est placé dans le crâne cérébral avoisinant d'un côté avec les méninges du cerveau, de l'autre avec les os du crâne. Dans la partie su-

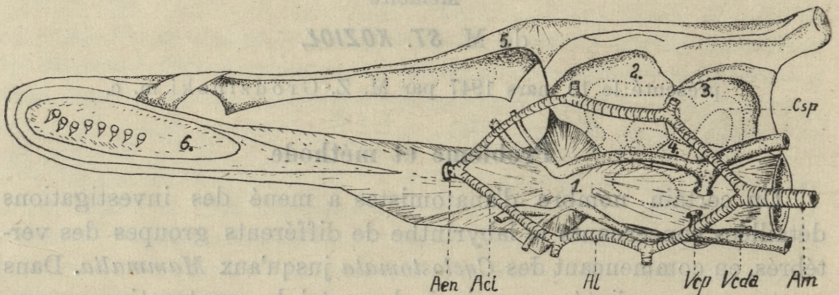


Fig. 1. La ramification des vaisseaux sanguins sur la base du crâne cérébral de la truite. Une ligne pointillée marque le labyrinthe.

périeure il est couvert par l'os frontal, dont la construction présente l'aspect rayonnant. Des côtés latéraux et postérieur il est couvert par: prooticum, exoccipitale, basioccipitale et pteroticum, dans la partie basse par parasphenoid, étant la base du crâne (Fig. 1). Quant au labyrinthe il se tourne dans la direction des os, au moyen de ses deux canaux semicirculaires, et au cerveau par le saccule et par l'utricule. Le labyrinthe est situé sur le territoire de la moelle allongée, uniquement le sommet de l'utricule entre obliquement sur la partie postérieure du cervelet. A peu près la moitié du saccule est placée plus bas que la moelle allongée et s'éloigne d'elle dans la direction centro-postérieure.

Un puissant nerf acoustique-équilibré (VIII — *Nervus stato-acusticus*) retient le labyrinthe auprès de la moelle épinière allongée. L'utricule dans toute la longueur est planté dans les méninges du cerveau. Les canaux semicirculaires du côté extérieur sont embrassés par le cartilage du crâne. Du côté médian ils sont entourés d'un abondant tissu graisseux des méninges. Le

sacculé a la forme ovoïde, fortement aplatie; par la partie basse il réside librement dans le crâne et est couvert par parasphenoid. Le rapport de la dimension de l'axe longitudinal du labyrinthe à la verticale est 2:1. La longueur du labyrinthe est égale à la moitié de la longueur du cerveau.

Chose caractéristique par rapport au sacculé — c'est qu'on trouve dans son intérieur suspendu un grand statolithe (Fig. 3) de forme ellipsoïdale mal proportionnée, de couleur blanche luisante. Sur le statolithe on voit distinctement les lignes concentriques de la croissance, sur lesquelles se basant, on peut déterminer l'âge du poisson. Le deuxième statolithe est petit de forme haricot et d'apparence peu visible, il a sa place dans le lagena. Le lagena se trouve dans la partie postérieure et dorsale du sacculé, toutefois il ne se découpe pas de la partie qui reste. Sa présence est trahie par un petit statolithe suspendu dans son intérieure et une paroi construite de façon à ce qu'elle présente une pochette. Du côté du sacculé contigu au cerveau se trouve *Macula sacculi*, très riche en nerfs et vaisseaux sanguins. Sur l'utricule entre la ramification de la branche antérieure du VIII nerf, pénétrant de ses rameaux deux ampoules antérieures, se trouve *Macula utriculi*, qui présente une petite convexité dirigée vers le cerveau.

Le labyrinthe entier est construit d'un tissu conjonctif fort et bien comprimé, couvert à la surface par un tissu conjonctif lâche. Des cellules fusiformes spéciales (Retzius) caractérisent le tissu conjonctif serré qui se rapproche du cartilage. Du côté cranial le sacculé est construit d'une autre manière que du côté du cerveau, ce qui est en relation avec la présence de la *Macula sacculi* et du corps sensoriel du lagena. Particulièrement l'épithélium à couche unique, rembourrant son intérieur, devient dans ces centres l'épithélium stratifié. A ces segments de l'épithélium, de même qu'aux autres centres sensoriels (*Crista ampulae*) aboutit la terminaison du nerf VIII-ème.

Vaisseaux sanguins

Artères principales se rendant au labyrinthe

En se glissant sur le prooticum *A. carotis int.* (Fig. 1. Aci) sort à angle obtus du côté extérieur de la base du crâne cérébral. *Aa. carotis int.* la droite et la gauche, courent en convergeant

vers le même point, pour aboutir au même vaisseau (Fig. 1. Aen. Aci). Elles percent une ouverture dans le milieu de la base du crâne. Entre le parasphenoid et prooticum elles entrent et comme *A. encephalica*, elles arrivent dans l'intérieur du crâne cérébral et aboutissent à la surface verticale et antérieure de l'hypophyse. A la base du croisement des nerfs optiques l'unique tronc se divise en quatre artères du cerveau, se dirigeant vers des directions opposées. Deux entre elles *Aa. cerebri posteriores* (Fig. 2 Aen. Acp.), la droite et la gauche, passent sur le côté extérieur de la base du cerveau — à la moelle allongée; pendant leur parcours chacune d'elles rejette deux vaisseaux: *A. cerebelli centralis* et *A. mesencephali centralis* (Fig. 2 Acc. Amc.). Sur la base de la moelle allongée, les deux artères la droite et la gauche, se joignent et se fondent en un tronc impair *A. basialis* (Fig. 2. Ab.); ce dernier passe par la partie médiane et se termine par quelques rameaux dans le crâne. *A. basialis* rejette de nombreux rameaux formant les vaisseaux sanguins à l'intérieur de la moelle allongée (*Aa. rhombencephali centrales*) et deux artères qui se dirigent vers les deux labyrinthes; la droite et la gauche *Aa. labyrinthi* (Grodziński).

Les artères du labyrinthe

Aa. labyrinthi, la droite et la gauche (Fig. 2. Al.) conduisent le sang artériel aux labyrinthes. Chacune d'elles s'élève en forme d'arc brisé de l'*A. basialis*, en conservant le caractère d'un tronc unique, à peu près à la hauteur médiane du saccule et finalement se recourbe sur le côté et s'achemine par un court segment vers le haut. Encore sous la moelle allongée elles se divisent en deux branches: l'antérieure et la postérieure qui courent dans deux directions opposées, le long des parois du saccule: la première vers la moitié antérieure, la seconde vers la moitié postérieure du labyrinthe.

La branche antérieure se dirige entre la moelle allongée et le saccule vers la partie frontale. Après avoir abouti à la branche antérieure du nerf huitième, elle passe sur son côté médian. De là elle atteint avec ses rameaux les deux ampoules antérieures et les segments correspondants à elles, des canaux semicirculaires. L'artère décrite ci-dessus envoie une série des rameaux aux pa-

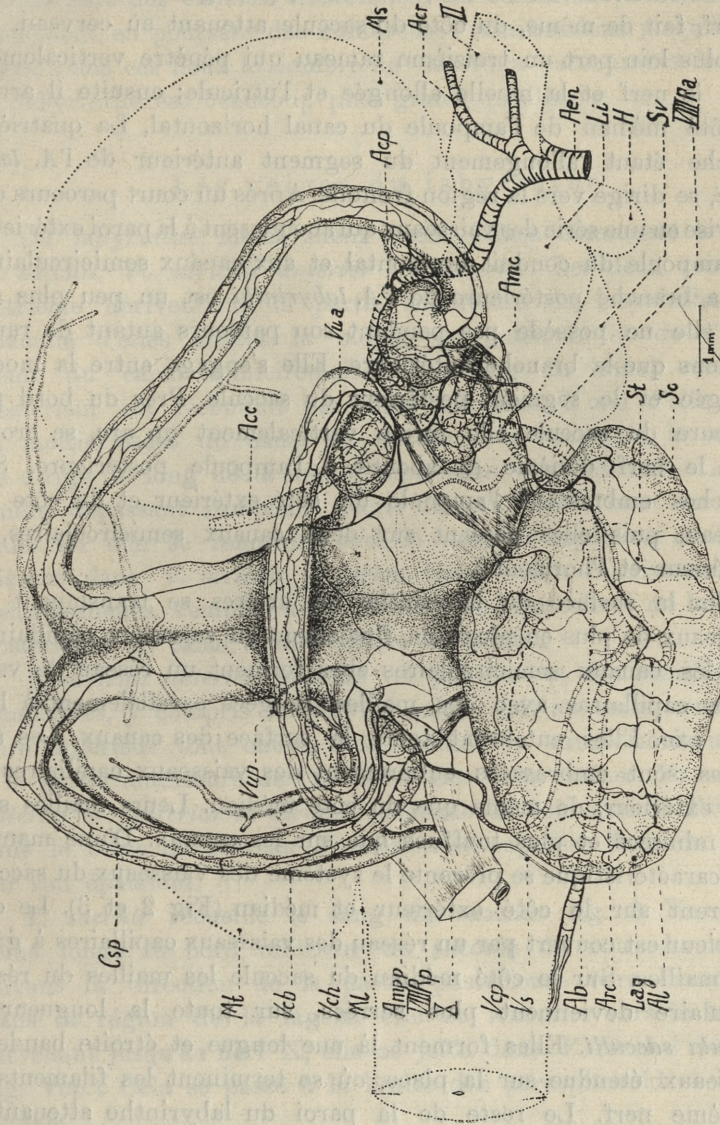


Fig. 2. Les vaisseaux sanguins sur le labyrinthe droit de la truite vus du côté extérieur. Le contour du cerveau est marqué par la ligne pointillée. Les vaisseaux sanguins du cerveau sont dessinés d'après Grodziński.

rois du labyrinthe. Les deux premiers vaisseaux se dirigent sur le saccule et le huitième nerf. L'un d'eux, le plus petit, passe sur

le côté extérieur du saccule, le second, plus grand, en dépassant le nerf, fait de même, du côté du saccule attenant au cerveau. Un peu plus loin part un troisième rameau qui pénètre verticalement entre le nerf et la moelle allongée et l'utricule; ensuite il arrive au côté médian de l'ampoule du canal horizontal. La quatrième branche étant l'allongement du segment antérieur de l'*A. labyrinthi*, se dirige vers la région frontale. Après un court parcours elle se divise en une série des vaisseaux qui aboutissent à la paroi extérieure de l'ampoule du conduit horizontal et aux canaux semicirculaires.

La branche postérieure de l'*A. labyrinthi* est un peu plus débile; elle ne possède pas pendant son parcours autant de ramifications que la branche antérieure. Elle s'engage entre la moelle allongée et le segment postérieur du saccule. Près du bord postérieure du saccule elle forme verticalement un arc, se croise avec le nerf dixième et aboutit à l'ampoule postérieure. Ses branches embrassent l'ampoule du côté extérieur et du côté du cerveau, puis elles passent sur deux canaux semicirculaires, le postérieur et l'horizontal.

Sur la surface du labyrinthe les artères se transmutent en vaisseaux de plus en plus fins, finalement en vaisseaux capillaires. Sur les canaux semicirculaires elles forment un réseau de vaisseaux capillaires avec des mailles rangées parallèlement à leur long axe. Elles entourent toute la surface des canaux. Les ampoules sont embrassées entièrement des vaisseaux capillaires du côté extérieur, de même que du côté médian. Leurs mailles sont plus minimales et plus touffues que sur les canaux. D'une manière très caractéristique se présente le système des vaisseaux du saccule, différent sur le côté extérieur et médian (Fig 2 et 3). Le côté extérieur est couvert par un réseau des vaisseaux capillaires à grandes mailles. Sur le côté médian du saccule les mailles du réseau vasculaire deviennent plus serrées, sur toute la longueur de *Macula sacculli*. Elles forment là une longue et étroite bande de vaisseaux étendue sur la place, où se terminent les filaments du huitième nerf. Le reste de la paroi du labyrinthe attenant au cerveau est couvert par un réseau des vaisseaux à grandes mailles. L'utricule c'est la place où l'on trouve le moins des vaisseaux du labyrinthe entier.

Les vaisseaux sur les canaux semicirculaires et sur le côté médian du saccule pénètrent à une très petite profondeur, dans

leur paroi. Aux places sensorielles du labyrinthe, où se trouvent la plus part des cellules sensorielles, les vaisseaux pénètrent profondément, en poussant des nombreuses ramifications jusqu'à leurs bases. Dans ces lieux le nombre de vaisseaux parcourants la paroi du labyrinthe est beaucoup plus grand qu'ailleurs.

Les veines du labyrinthe

Du labyrinthe membraneux trois veines emmènent le sang: *V. sacculi*, *Vv. utriculi anterior* et *posterior*. Les deux veines de l'utricule dérivent de la partie supérieure du labyrinthe, puis chacune d'elles atteint la moitié de l'utricule et de l'un et demi du canal semicirculaire. Le sang du canal circulaire postérieur est réconduit par deux branches. L'une d'elle longe la moitié basse du canal en passant sur l'ampoule, la seconde se dirige le long de la moitié supérieure vers l'utricule. La première dépassant l'ampoule, décrit un arc vers le haut sur l'utricule. Ici elle se rencontre avec le vaisseau supérieur et ils s'unissent dans *V. utriculi posterior*. Cette veine, relativement ses deux branches, s'empare aussi du sang de l'utricule et de la moitié postérieure du canal semicirculaire horizontal.

V. utriculi anterior possède un parcours et des ramifications semblables, y compris le service qu'elle fait au canal semicirculaire antérieur tout entier, à la moitié du canal horizontal et à la partie antérieure de l'utricule. Les deux veines *Vv. utriculi anterior* et *posterior* se dirigent chacune de son côté de l'utricule dans la veine du cerveau *V. chorioidea*, séparées l'une de l'autre par son épaisseur.

V. sacculi recueille le sang du saccule (fig. 3 Vs.). Cette veine longe le bord inférieur du saccule du côté du cerveau, suivant la direction de la partie postérieure vers l'antérieure. Dans la région de la lagena elle se retourne vers le haut, et parvenant jusqu'au nerf X, elle se jette dans *V. cerebri posterior* (fig. Vep.). Cela se passe à la limite des parasphenoid et basioccipitale.

Vu que *V. chorioidea* se jette aussi dans la *V. cerebri posterior*, cette veine emmène le sang de tout le labyrinthe. La veine commune avec le nerf X se trouve, débouchant par la base du crâne, entre parasphenoid et basioccipitale, toutefois le plus souvent par

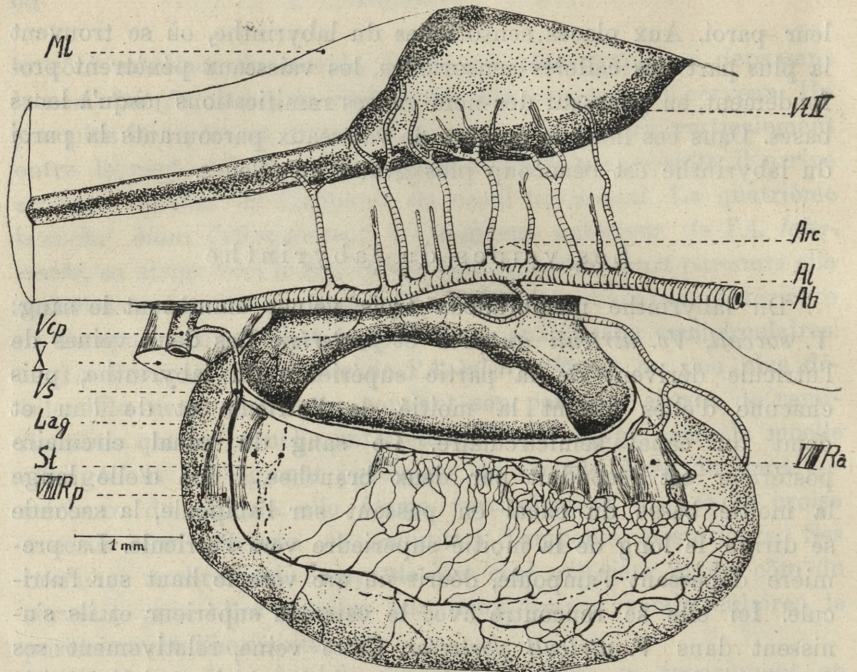


Fig. 3. Les vaisseaux vus du côté médian. La partie supérieure du labyrinthe est masqué par le cerveau. Un fragment de la paroi du saccule a été découpé, afin que l'otolithe devienne visible. Le cerveau fut découpé suivant la ligne médiane, et enlevé avec le labyrinthe droit. Les vaisseaux du cerveau ont été dessinés d'après Grodziński.

le parasphenoid par même. Au delà du crâne *V. cerebri post.* pénètre dans le grand tronc veineux *V. cardinalis anterior* (Fig. 1. Ved.) droit ou gauche.

Anatomie comparée des vaisseaux du labyrinthe

Les vaisseaux du labyrinthe de la truite prennent et rendent le sang aux vaisseaux du cerveau. *A. basialis* et *V. cerebri posterior* se mettent ici en jeu. C'est la conséquence des relations topographiques, car le labyrinthe de la truite est situé à l'intérieur du crâne cérébral et se repose directement sur ses méninges. Chez les oiseaux et chez les mammifères, le labyrinthe se trouve dans le canal osseux et n'a pas de contact pareillement immédiat avec le cerveau. *A. cerebelli inferior anterior* livre le sang.

Dans le système des vaisseaux du labyrinthe de la truite on voit distinctement la séparation en vaisseaux de sa partie antérieure et sa partie postérieure. A la première appartiennent: *V. utriculi ant.* et la branche antérieure de l'*A. labyrinthi*; aux secondes: *V. utriculi post.* et la branche postérieure de l'*A. labyrinthi*. Le saccule occupe une position à part. Il possède donc la veine, *V. sacculi*, avec l'embouchure à la veine du cerveau, et l'artère, qui est le rameau de la branche antérieure de l'*A. labyrinthi*. Chez les oiseaux (Snapp) et chez les mammifères (Nabeja) on ne peut pas adopter la division des vaisseaux en partie antérieure et partie postérieure, plutôt on peut les diviser en partie auditive et en partie équilibrée. Ici le saccule et l'utricule occupent une partie minime du labyrinthe, pendant que la place décisive est occupée par le limaçon très développé et les canaux semicirculaires. En relation avec cela il s'ensuit un fort développement de deux branches amenant le sang, et de deux veines qui le renvoient, l'une du limaçon et l'autre des canaux.

Les vaisseaux superficiels du labyrinthe de la truite démontrent un assemblage distinct de vaisseaux les plus fins sur le territoire de petits corps sensoriels. Ils reproduisent leurs position et leurs formes. Cela s'aperçoit le mieux dans la région *Macula sacculi*, *Crista ampulae*; plus mal sur le territoire *Macula utriculi* et *Lagena*. Plus le centre sensoriel se développe, plus les vaisseaux s'assemblent. De pareils rapports se voient chez les oiseaux (Snapp) et chez les mammifères. Les différences sont en relation avec le développement intense des centres donnés chez les vertébrés supérieurs. La plus grande quantité d'organes sensoriels se trouve sur le limaçon, ou dans son voisinage immédiat. Par conséquent il y a beaucoup plus de vaisseaux sur le limaçon que chez la truite. Un riche réseau de vaisseaux se présente également sur les ampoules, développé d'une manière ressemblante à celui que l'on trouve chez la truite.

Résumé

On a décrit les vaisseaux du labyrinthe de la truite, en se basant sur les préparations, dans lesquelles les artères ont été injectées d'une masse rouge de la gomme laque — les veines et les vaisseaux capillaires d'encre de Chine.

Au labyrinthe passe *A. labyrinthi*, comme branche d'un vaisseau du cerveau *A. basialis*. Au moyen de deux rameaux antérieur et postérieur elle fournit du sang à la partie antérieure et postérieure du labyrinthe, et au saccule entier.

Une veine à part *V. sacculi*, emmène le sang du saccule, *V. utriculi ant.* et *post.* des autres parties du labyrinthe. Les veines se dirigent par l'intermédiaire de *V. choroidea* à la veine postérieure du cerveau, et avec elle à *V. cardinalis anterior*.

Les segments du labyrinthe, approvisionnés par les centres sensories, possèdent un système des vaisseaux plus riches, que ses parties restantes. En se basant sur le système des vaisseaux on peut diviser le labyrinthe entier en partie antérieure et postérieure (Burllet). Le canal antérieur et la partie antérieure de l'utricule sont pourvus par un groupe de vaisseaux, tandis qu'un groupe postérieur pourvoit le canal postérieur et la partie postérieure de l'utricule. Le canal horizontal appartient en moitié à l'antérieure, en moitié à la postérieure partie de vaisseaux du labyrinthe; tandis que le saccule se distingue par ce fait, qu'il reçoit une artère d'un groupe artériel antérieur, et envoie des veines à la partie postérieure du labyrinthe.

Bibliographie

1. Burllet H. M. de, Über die Gliederung des häutigen Labyrinthes, Z. Anat. 1931. 2. Burllet H. M. Vergleichende Anatomie des stato-akustischen Organes. Hand. d. vergl. Anat. der Wirb. Bd. II. Hft. 2. 1934.
3. Francis E. T. B. The Anatomy of the Salamander. Oxford. 1934.
4. Grodziński Z. The main vessels of the brain of the Rainbow trout. Bul. Acad. Cracovie 1946.
5. Kikuchi. Über den histologischen Bau des Gehörorgans von *Eptatretus burgeri* (Girard), insbesondere seiner Otolithen. Fol. Anat. Japon. Tokyo, 1934.
6. Kolmer. Gehörorgan. W. v. Möllendorff, Hand. d. mikr. Anat. d. Menschen Bd. III. I. Berlin 1927.
7. Murayama. Die Entwicklung des häutigen Labyrinthes des Knochenfisches *Oryzias lapides*. Fol. Anat. jap. 5. 1927.
8. Nabeya. Vergleichende Studien über die Gefäße des häutigen Labyrinthes. Jap. I. med. sc. Abstr. 2. 1925.
9. Plate L. Sinnesorgane. Allg. Zoologie. II. Jena 1924.
10. Retzius G. Das Gehörorgan der Fische und Amphibien. Stockholm. Das Gehörorgan der Reptilien, der Vögel und der Säugetiere. Stockholm 1884.
11. Snapp F. A comparative study of the blood supply of labyrinth. Anat. Rec. v. 27. 1927.
12. Steinhausen, Über die Funktion der Cupula in den Bogengangampullen des Labyrinthes: Z. Hals-Nasen-Ohren-Krankh. —, 34. 1934.

Explication des figures

Les figures des préparations de la truite ont été faites à l'aide de l'appareil d'Abbé; les spécimens furent examinés sous la loupe binoculaire.

Les artères — transversalement vergées

Les veines — pointillées

Les anneaux noirs sur les vaisseaux indiquent les places dans lesquelles les vaisseaux passent à travers les os du crâne.

Signification des abréviations sur les figures

A	— Arteria
Ab	— „ basialis
Acc	— „ cerebelli centralis
Aci	— „ carotis interna
Acp	— „ cerebri posterior
Acr	— „ centralis retinae
Aen	— „ encephalica
Amc	— „ mesencephali centralis
Am	— Aorta medialis
Al	— Arteria labyrinthi
Alr	— Aorta lateralis
Arc	— Arteria rhombencephali centralis
Csp	— Canalis semicircularis posterior
H	— Hypophysis cerebri
Lag	— Lagena
Li	— Lobus inferior
Ml	— Myelencephalon
Ms	— Mesencephalon
Mt	— Metencephalon
Sc	— Sacculus
St	— Statoconia
Veb	— Vena cerebelli
Vch	— „ chorioidea
Vcda	— „ cardinalis anterior
Vcp	— „ cerebri posterior
Vs	— „ sacculi
Vua	— „ utriculi anterior
Vup	— „ „ posterior
X	— Nervus vagus
II	— „ opticus
VIII Ra	— Ramus anterior nervi stato-acustici
VIII Rp	— „ posterior „ „
1	— parasphenoid
2	— prooticum
3	— exoccipitale
4	— bassioccipitale
5	— frontale
6	— vomer

Les figures des vaccinations de la ville ont été faites à l'échelle de 1:100000. Les figures des vaccinations de la ville ont été faites à l'échelle de 1:100000. Les figures des vaccinations de la ville ont été faites à l'échelle de 1:100000.

1	1895	1895
2	1896	1896
3	1897	1897
4	1898	1898
5	1899	1899
6	1900	1900
7	1901	1901
8	1902	1902
9	1903	1903
10	1904	1904
11	1905	1905
12	1906	1906
13	1907	1907
14	1908	1908
15	1909	1909
16	1910	1910
17	1911	1911
18	1912	1912
19	1913	1913
20	1914	1914
21	1915	1915
22	1916	1916
23	1917	1917
24	1918	1918
25	1919	1919
26	1920	1920
27	1921	1921
28	1922	1922
29	1923	1923
30	1924	1924
31	1925	1925
32	1926	1926
33	1927	1927
34	1928	1928
35	1929	1929
36	1930	1930
37	1931	1931
38	1932	1932
39	1933	1933
40	1934	1934
41	1935	1935
42	1936	1936
43	1937	1937
44	1938	1938
45	1939	1939
46	1940	1940
47	1941	1941
48	1942	1942
49	1943	1943
50	1944	1944
51	1945	1945
52	1946	1946
53	1947	1947
54	1948	1948
55	1949	1949
56	1950	1950
57	1951	1951
58	1952	1952
59	1953	1953
60	1954	1954
61	1955	1955
62	1956	1956
63	1957	1957
64	1958	1958
65	1959	1959
66	1960	1960
67	1961	1961
68	1962	1962
69	1963	1963
70	1964	1964
71	1965	1965
72	1966	1966
73	1967	1967
74	1968	1968
75	1969	1969
76	1970	1970
77	1971	1971
78	1972	1972
79	1973	1973
80	1974	1974
81	1975	1975
82	1976	1976
83	1977	1977
84	1978	1978
85	1979	1979
86	1980	1980
87	1981	1981
88	1982	1982
89	1983	1983
90	1984	1984
91	1985	1985
92	1986	1986
93	1987	1987
94	1988	1988
95	1989	1989
96	1990	1990
97	1991	1991
98	1992	1992
99	1993	1993
100	1994	1994
101	1995	1995
102	1996	1996
103	1997	1997
104	1998	1998
105	1999	1999
106	2000	2000
107	2001	2001
108	2002	2002
109	2003	2003
110	2004	2004
111	2005	2005
112	2006	2006
113	2007	2007
114	2008	2008
115	2009	2009
116	2010	2010
117	2011	2011
118	2012	2012
119	2013	2013
120	2014	2014
121	2015	2015
122	2016	2016
123	2017	2017
124	2018	2018
125	2019	2019
126	2020	2020
127	2021	2021
128	2022	2022
129	2023	2023
130	2024	2024
131	2025	2025
132	2026	2026
133	2027	2027
134	2028	2028
135	2029	2029
136	2030	2030
137	2031	2031
138	2032	2032
139	2033	2033
140	2034	2034
141	2035	2035
142	2036	2036
143	2037	2037
144	2038	2038
145	2039	2039
146	2040	2040
147	2041	2041
148	2042	2042
149	2043	2043
150	2044	2044
151	2045	2045
152	2046	2046
153	2047	2047
154	2048	2048
155	2049	2049
156	2050	2050
157	2051	2051
158	2052	2052
159	2053	2053
160	2054	2054
161	2055	2055
162	2056	2056
163	2057	2057
164	2058	2058
165	2059	2059
166	2060	2060
167	2061	2061
168	2062	2062
169	2063	2063
170	2064	2064
171	2065	2065
172	2066	2066
173	2067	2067
174	2068	2068
175	2069	2069
176	2070	2070
177	2071	2071
178	2072	2072
179	2073	2073
180	2074	2074
181	2075	2075
182	2076	2076
183	2077	2077
184	2078	2078
185	2079	2079
186	2080	2080
187	2081	2081
188	2082	2082
189	2083	2083
190	2084	2084
191	2085	2085
192	2086	2086
193	2087	2087
194	2088	2088
195	2089	2089
196	2090	2090
197	2091	2091
198	2092	2092
199	2093	2093
200	2094	2094
201	2095	2095
202	2096	2096
203	2097	2097
204	2098	2098
205	2099	2099
206	2100	2100
207	2101	2101
208	2102	2102
209	2103	2103
210	2104	2104
211	2105	2105
212	2106	2106
213	2107	2107
214	2108	2108
215	2109	2109
216	2110	2110
217	2111	2111
218	2112	2112
219	2113	2113
220	2114	2114
221	2115	2115
222	2116	2116
223	2117	2117
224	2118	2118
225	2119	2119
226	2120	2120
227	2121	2121
228	2122	2122
229	2123	2123
230	2124	2124
231	2125	2125
232	2126	2126
233	2127	2127
234	2128	2128
235	2129	2129
236	2130	2130
237	2131	2131
238	2132	2132
239	2133	2133
240	2134	2134
241	2135	2135
242	2136	2136
243	2137	2137
244	2138	2138
245	2139	2139
246	2140	2140
247	2141	2141
248	2142	2142
249	2143	2143
250	2144	2144
251	2145	2145
252	2146	2146
253	2147	2147
254	2148	2148
255	2149	2149
256	2150	2150
257	2151	2151
258	2152	2152
259	2153	2153
260	2154	2154
261	2155	2155
262	2156	2156
263	2157	2157
264	2158	2158
265	2159	2159
266	2160	2160
267	2161	2161
268	2162	2162
269	2163	2163
270	2164	2164
271	2165	2165
272	2166	2166
273	2167	2167
274	2168	2168
275	2169	2169
276	2170	2170
277	2171	2171
278	2172	2172
279	2173	2173
280	2174	2174
281	2175	2175
282	2176	2176
283	2177	2177
284	2178	2178
285	2179	2179
286	2180	2180
287	2181	2181
288	2182	2182
289	2183	2183
290	2184	2184
291	2185	2185
292	2186	2186
293	2187	2187
294	2188	2188
295	2189	2189
296	2190	2190
297	2191	2191
298	2192	2192
299	2193	2193
300	2194	2194
301	2195	2195
302	2196	2196
303	2197	2197
304	2198	2198
305	2199	2199
306	2200	2200
307	2201	2201
308	2202	2202
309	2203	2203
310	2204	2204
311	2205	2205
312	2206	2206
313	2207	2207
314	2208	2208
315	2209	2209
316	2210	2210
317	2211	2211
318	2212	2212
319	2213	2213
320	2214	2214
321	2215	2215
322	2216	2216
323	2217	2217
324	2218	2218
325	2219	2219
326	2220	2220
327	2221	2221
328	2222	2222
329	2223	2223
330	2224	2224
331	2225	2225
332	2226	2226
333	2227	2227
334	2228	2228
335	2229	2229
336	2230	2230
337	2231	2231
338	2232	2232
339	2233	2233
340	2234	2234
341	2235	2235
342	2236	2236
343	2237	2237
344	2238	2238
345	2239	2239
346	2240	2240
347	2241	2241
348	2242	2242
349	2243	2243
350	2244	2244
351	2245	2245
352	2246	2246
353	2247	2247
354	2248	2248
355	2249	2249
356	2250	2250
357	2251	2251
358	2252	2252
359	2253	2253
360	2254	2254
361	2255	2255
362	2256	2256
363	2257	2257
364	2258	2258
365	2259	2259
366	2260	2260
367	2261	2261
368	2262	2262
369	2263	2263
370	2264	2264
371	2265	2265
372	2266	2266
373	2267	2267
374	2268	2268
375	2269	2269
376	2270	2270
377	2271	2271
378	2272	2272
379	2273	2273
380	2274	2274
381	2275	2275
382	2276	2276
383	2277	2277
384	2278	2278
385	2279	2279
386	2280	2280
387	2281	2281
388	2282	2282
389	2283	2283
390	2284	2284
391	2285	2285
392	2286	2286
393	2287	2287
394	2288	2288
395	2289	2289
396	2290	2290
397	2291	2291</

Niektóre właściwości fizyko-chemiczne wodniczek w makrofagach żaby wodnej (Rana esculenta L.). — Some physico-chemical properties of the vacuoles in the macrophages of the frog (Rana esculenta L.).

Mémoire

de M. **A. PIGOŃ**,

présenté le 13 Octobre 1947 par M. Z. Grodziński m. c.

I. Problem

The vacuoles are found in different kinds of cells, in all stages of the development of the organisms. They are found both in protozoan cells and in those of the vertebrates, in the cells of embryos and in those of full-grown organisms. They are found also in plant cells. Because of their common occurrence they are believed to be the usual structural element of the cell.

The structure of the vacuoles has often been investigated, both on dead material after fixing and staining, and *in vivo*, staining the vacuoles with basic vital dyes. These investigations have led to the well-known discussion whether the vacuoles stained *in vivo* are identical with the osmium-impregnated Golgi apparatus. Publications on this question are very numerous but they do not solve the problem. The literature of this subject is given by Hirsch ('39) and Kirkman & Severinghaus ('38).

In spite of several investigations the structure of the vacuoles has hitherto not been sufficiently known. It is commonly believed that a membrane is present on the surface of the vacuoles (Beams '29, '30, Grodziński '30, Kredel '27, Nassonow '24, Rumiantzew '28, Schouten '35, Zweibaum & Elkner '26). The chemical composition and properties of this have not been investigated. In some instances the membrane can be impregnated with osmic acid (Beams '29, '30,

Dawson '29, Grodziński '30, Nassonow '24, Zweibaum & Elkner '26). This shows that the membrane is composed of lipids. Inside the membrane there is an aqueous fluid in which the proteins are dissolved. Because of the aqueous consistency of this fluid Brownian movements in the vacuoles can easily be observed.

The vacuoles can be dissected out of the cell (Kredel '27). I propose to investigate the properties of the vacuole membrane and compare it with the membrane of the erythrocytes and that of yolk spheres. The structure of these membranes is relatively well known, so that some conclusions on the structure of the vacuole membrane can be drawn from its similarity to those mentioned. I also propose to investigate the cause of the disappearance of the vacuoles in pricked cells (Péterfi '27, Péterfi & Olivo '27), the influence of vital dyes, and the way the vacuoles are formed in the cell.

II. Material

The experiments were performed on tissue cultures of the macrophages of the frog (*R. esculenta* L.). The cultures were grown in Tyrode's solution isotonic with the blood of amphibians. Such a Tyrode's solution contains only 6 g of sodium chloride in 1000 cm³ but the quantity of other salts is unchanged. Similarly, Locke's solutions for amphibians and birds differ only in the quantities of sodium chloride (Erdmann '26).

The cultures were prepared in sitting drops, on cover slides. The slides were cleansed with sulphuric and chromic acid, then washed thoroughly with distilled water and kept in alcohol. The bits of heart ventricles were explants. The cultures were kept at room temperature (13–18° C). After 2–3 days the explant was taken off. On the cover slide only the macrophages remained, because the other cells had not begun to grow. Using adult frogs for preparing the cultures, the growth of other cells was very slow.

About 1000 cultures were prepared in this way, and only in 4 instances were cells other than macrophages found growing. The experiments were performed on 3–5 day-old cultures. These can be kept alive much longer (without changing the medium): 2–4 weeks, depending on the temperature.

III. Vacuoles in cell

Macrophages in culture in a fluid medium spread very flat on the slide, taking comet- fan- and canoe-like forms. They are $50\ \mu$ long and cover an area of $1443\ \mu^2$ on the average; about $1/2$ of the surface is formed by pseudopods (20 measurements). Vacuoles are found in many cells, on the average 4—5 vacuoles in 1 cell. About 25% of cells have no vacuoles. Vacuoles are of different size, about $3\text{--}4\ \mu$ in diameter on the average, but there are also much larger ones ($10\ \mu$ in diameter or even more).

a) Pinocytosis

Pinocytosis («drinking by cells» i. e. taking in the fluid from the medium into the vacuoles) was discovered by Lewis on cultures of the macrophages of the rat and mouse.

Pinocytosis is to be observed in almost every culture of the macrophages of the frog. Usually, the macrophage has one or more flat pseudopods with an undulated margin. This margin is active in pinocytosis. Using high-power lenses one can see that the formation of vacuoles consists in «gulping» small amounts of fluid from the medium. The newly-formed vacuole passes from the pseudopod to the centre of the cell (Fig. 1). When growing in a medium containing neutral red the newly-formed vacuoles do not stain. Neutral red stains only those vacuoles which have passed to the centre of the cell. This confirms the observations of Lewis. Later in the cell the vacuoles diminish finally producing little grains which disappear in the protoplasm. Inside the cell the vacuoles can fuse together or divide into two. Usually, however, two or more even very closely touching vacuoles do not fuse. The cell pinocytoses usually during 15—25 min., then it rests for about 30 min. and pinocytosis begins anew. During 10 min. of pinocytosis no more than 20—30 vacuoles are taken into the cell. The speed of pinocytosis and the number of vacuoles produced depend on the state of the cell. In the same culture there are macrophages which pinocytose quickly, others which pinocytose very slowly and still others which do not pinocytose at all. In winter, the cultures being kept at a low temperature, pinocytosis (as probably all life processes) was found to be very slow.

b) Phagocytosis of Indian ink

In cultures of the macrophages Tyrode's solution was replaced by one with Indian ink added. The bacteriological ink of Burri (made by the »Pelikan« firm) and dry Indian ink were used. The cultures with Indian ink were turned upside down with the cover glass underneath, so that the granules of ink should fall on the growing cells.

The grain of ink, when touching the cell, becomes surrounded by the pseudopods and engulfed (phagocytosis). The granule

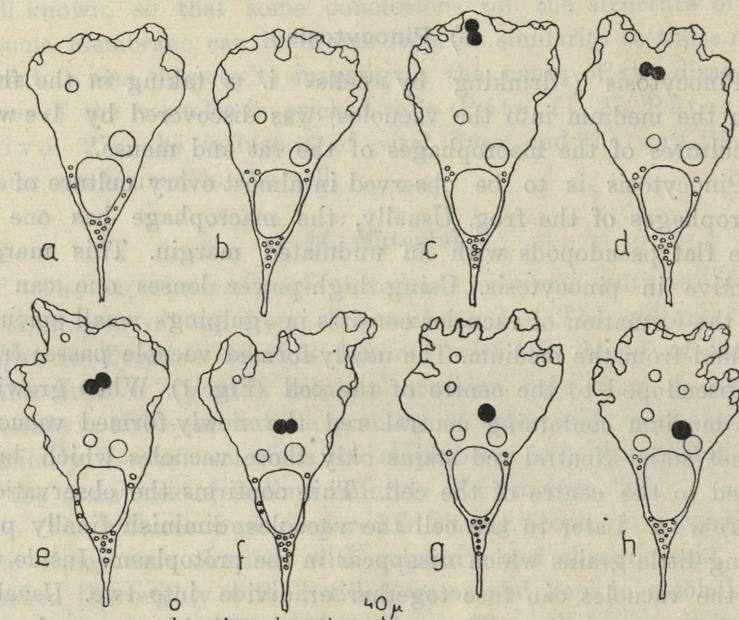


Fig 1. *Pinocytosis*. The pictures (drawn from the photographs) show the same cell at the time intervals of 2 min. Black spots indicate the observed vacuoles.

of ink in the protoplasm, in the time of 1—5 hours, becomes surrounded by a thin membrane; in this way the granule lies in a little vacuole. Sometimes some fluid is to be seen in this vacuole, besides the Indian ink. Vacuoles arise round the larger Indian ink grains, but the little ones remain in the protoplasm. The formation of vacuoles round ink granules was observed 10 times.

Ink granules penetrating the existing vacuoles were never observed. The ink granule, even when closely touching the surface of the vacuole, does not penetrate to its interior, but is shifted off and eventually surrounded by a newly-formed vacuole (16 observations). Counting the vacuoles in cells after ink phagocytosis shows that the number of ink-containing vacuoles is the same after 6, 24 and 48 hours. This would mean that the Indian ink granules do not penetrate the vacuoles actually existing. Many vacuoles contained ink when the cells were phagocytosing coarse ink granules; but only about 3% when phagocytosing fine ink granules. In both cases the vacuoles are tightly packed with ink; such vacuoles are formed in the protoplasm round the Indian ink particles.

c) Formation of vacuoles

Vacuoles in a cell can form round foreign bodies (Indian ink) and by pinocytosis. Cells stained *in vivo* with neutral red show more vacuoles than unstained ones. The vacuoles are larger after a long staining than after a short one (21 observations). These vacuoles are arranged radially in an area near the nucleus. »Injury vacuoles« are arranged in the same manner in old, degenerating cells (23 observations). The observations mentioned seem to show that the vacuoles result from neutral red staining. This is however not sufficiently proved.

d) The effect of pricking the cell on the vacuoles

Culture-bearing slides were placed in the moist chamber of the micromanipulator. The cells were pricked with fine glass needles. For microdissections Chambers' apparatus was used. Most of the operations were performed at a magnification of 400 diameters.

In a cell of the macrophage there are large pseudopods (lobopodia); the protoplasm is here quite clear and homogeneous. The pricking of a pseudopodium does not cause any disturbance in the life of the cell (Fig. 2). Even the cautious cutting off of a pseudopodium does not injure the cell seriously (12 observations).

Pricking a cell, the needle reaching the endoplasm, if it is strong enough, causes the coagulation of the nucleus (so that it

becomes clearly visible) and the disappearance of the vacuoles. The vacuoles seem to dissolve in the protoplasm (Fig. 3). They

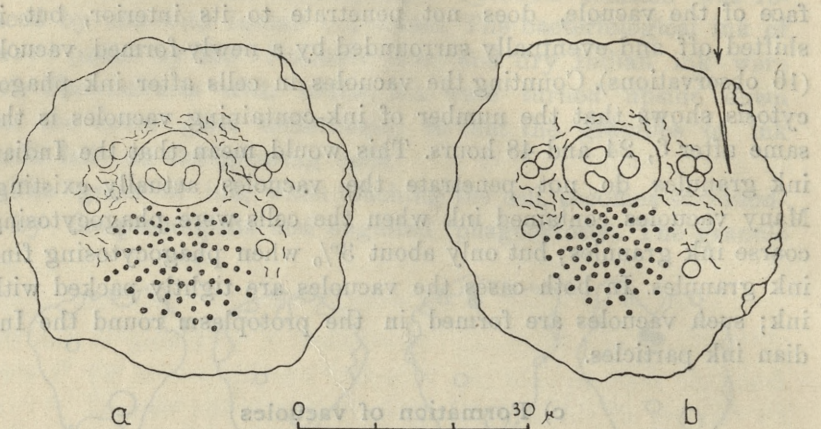


Fig. 2. Tearing the pseudopod of the macrophage. a) The cell at the beginning of the experiment. b) The same cell after tearing the pseudopod. Arrow indicates the place of tearing. Drawn from the photograph.

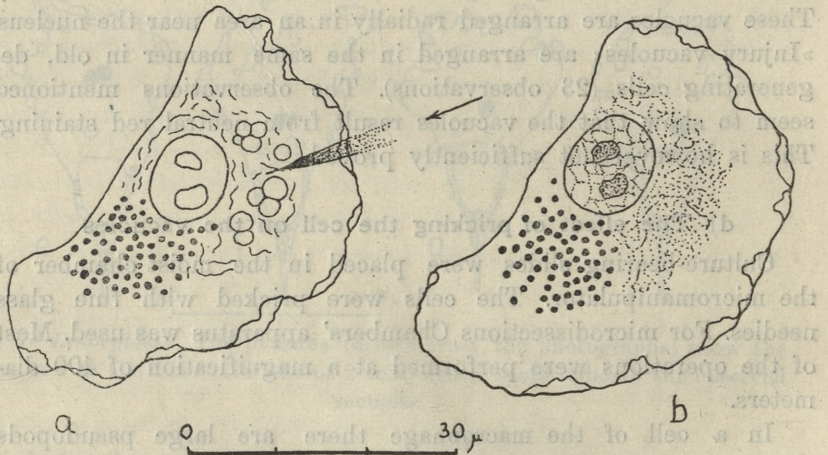


Fig. 3. Pricking of the cell. a) The macrophage before pricking. b) The same cell after pricking. Arrow indicates the place of pricking. Drawn from the photograph.

disappear in 30–60 sec. after pricking. After feeble pricking only few vacuoles disappear, in the nearest vicinity of the pricked place. After stronger pricking all the vacuoles in the cell disap-

pear. When it is not too strong, the changes mentioned are reversible: during 5—10 min. vacuoles form again; they appear instantly in their full size. The vacuoles lying far from the place of pricking appear first, then in a short time (1—2 min.) also the vacuoles lying near this place (15 observations). During this time pronounced changes in the physical state of the protoplasm can be observed (liquefaction, partial gelation), which can be recognized by the changes in the Brownian movement of the protoplasmic granules. They have been described by some authors (Chambers & Fell '31—'32, Chambers & Ludford '31—'32, Kredel '27, Péterfi '27, Péterfi & Olivo '27), so that I have not paid attention to them.

Pressing a cell (without damaging it) does not cause any of the changes mentioned. It is possible to displace the vacuoles within the cell when cautiously pressing (about 400 observations).

e) Pricking of cells stained *in vivo*

Neutral red, brilliant cresyl blue, Ehrlich's methylene blue, Nile blue sulphate and Sudan III were used for staining *in vivo*. All dyes, except Sudan III were used in solution 1:10.000 — 1:20.000 in Tyrode's fluid. A drop of dye solution was added to the culture medium on the cover slide. The cells were stained from 6 to 24 hours, during which time the cultures were kept in darkness. The operation of pricking was repeated at least 10 times in the case of each dye.

Neutral red. The vacuoles stained very intensively. The pricking of a cell caused changes in the nucleus and, when strong enough, the death of the cell. The disappearance of the vacuoles was never observed; it was not difficult to take the stained vacuoles out of the cell. When the cells were stained briefly (about 30 min.) the vacuoles burst very easily when taking them out of the cell. In almost every cell there were some vacuoles which did not stain with neutral red. These vacuoles disappeared relatively easily when pricking the cell (10 times in 12 observations).

Brilliant cresyl blue. Acts like neutral red.

Ehrlich's methylene blue. Acts like neutral red.

Nile blue sulphate. Acts like neutral red.

Sudan III. For staining cells *in vivo* with Sudan III the method of Szantroch ('32) was used. On the clean and sterile

cover slide a drop of sudan solution in 95% alcohol was given. After the dessication of the alcohol the culture was prepared on this cover slide. The pricking of cells stained with sudan was repeated 9 times.

Only the fat drops in the cells are stained pale pink, the vacuoles do not stain. However, the vacuoles do not disappear after pricking a stained cell. Vacuoles can be taken out of stained cells without difficulty. The vacuole disappeared when being taken out only in one case.

IV. Vacuoles outside the cell

a) Dissecting out of vacuoles, physical properties of the membrane of the vacuoles, staining of dissected vacuoles

As the vacuoles disappear in the pricked unstained cell, it is very difficult to cut them out. The following method, based on the above mentioned observations was used:

The vacuole in a cell is pushed with a needle towards a great pseudopodium (without injuring the cell). If possible, the vacuole should be put into the pseudopodium. The pseudopodium is then cut off with a second needle and the vacuole quickly pressed out of it. The result depends on the speed of operation. About 350 vacuoles were dissected out in this manner.

Stained vacuoles are easy to take out of a cell. When cutting the cell with needles, vacuoles are freed from the protoplasm. Such vacuoles swim in the culture medium, falling to the bottom of the drop. For this reason some plasm was left on a little area of the surface of the vacuole, it was possible by means of this plasm to stick the vacuole to the cover slide. About 600 stained vacuoles (mostly with neutral red) were dissected out. The dissected vacuoles are elastic; when pressed with a needle they behave like little rubber balls. When pressed with a needle they change noticeably in shape, but when the needle is removed they return to their previous spherical form (about 60 observations, both on stained and unstained vacuoles). It is possible to cut the vacuoles with a needle into two or more parts. The resulting parts become spherical, and are often connected with fine filaments which recall myelin figures. When the vacuole was stained before the operation these filaments were also stained. This cutting of vacuoles was repeated 12 times (4 un-

stained and 8 stained ones). In the same manner it is possible to cut the erythrocytes of the frog (5 observations). When dissecting the vacuole out of the cell it is possible to squeeze out some of its content so that it forms a stained filament (8 observations only on stained vacuoles (Fig. 4). When pricking the

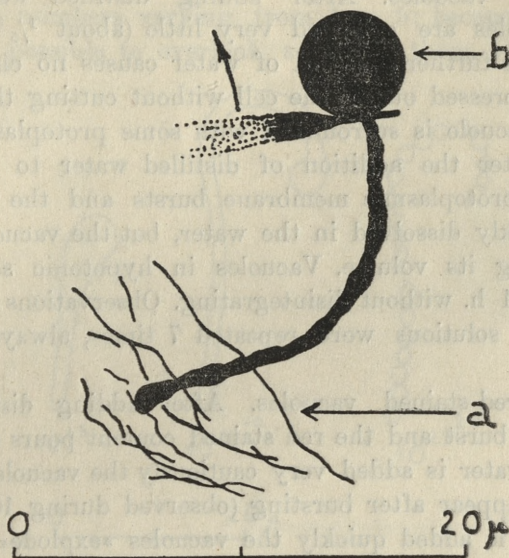


Fig 4. The vacuole, stained with neutral red, deformed through being out of the cell. a) Rest of the cell. b) The vacuole caught with a needle. Drawn from the photograph.

dissected vacuole it bursts and loses its stained content rapidly (about 50 observations, only on stained vacuoles).

Vacuoles dissected out of the cell never stain with neutral red, although the same vacuoles in the cell stain readily. Soon after transferring the culture to the medium containing neutral red the slightly stained vacuole was dissected out of the cell. After 1 h. all previously slightly stained vacuoles were deep red, except that, which had been dissected out. The experiment was repeated 8 times, always with the same result.

b) Change of osmotic conditions

After dissecting the vacuoles out of the cell, distilled water, 1M NaCl solution or 1M glucose solution were added with a mi-

cropipette to the culture medium. When adding the solution the vacuoles were continuously observed. After reaching double the volume of the previous culture medium, the adding was stopped.

1. Hypotonic solutions

Unstained vacuoles. After adding distilled water, the unstained vacuoles are enlarged very little (about $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$ of the diameter). The further addition of water causes no change. If the vacuole was pressed out of the cell without cutting the cell wall, i. e. if the vacuole is surrounded with some protoplasm and cell membrane, after the addition of distilled water to the culture medium the protoplasmic membrane bursts and the protoplasm becomes quickly dissolved in the water, but the vacuole remains, only enlarging its volume. Vacuoles in hypotonic solution can remain over 1 h. without disintegrating. Observations on vacuoles in hypotonic solutions were repeated 7 times, always with the same result.

Neutral red-stained vacuoles. After adding distilled water the vacuoles burst and the red stained content pours out quickly. If distilled water is added very cautiously the vacuole membrane does not disappear after bursting (observed during 10 h.). If distilled water is added quickly the vacuoles »explode«, the membrane disintegrates and shrinks, giving a minute unstained granule. The enlargement of the vacuole before bursting is not observed. Vacuoles are more sensitive to hypotonic solutions than erythrocytes (probably because of their shape). Bursting of vacuoles stained with neutral red was observed 12 times; all the vacuoles observed burst in hypotonic solution.

2. Hypertonic solution (NaCl)

Unstained vacuoles. After adding the hypertonic solution of natrium chloride the dissected vacuoles shrink; their surface commonly shows violent movements (undulating); sometimes it is possible to observe after 5—10 min. the formation of myelin figures (6 cases out of 12 observations). After a further 5—15 min. the vacuoles become spherical in shape, only their diameter is less. The myelin figures formed are of various shapes. The division of the vacuole into two greater and several little ones was observed; all resulting vacuoles were connected by fine threads.

In another case the vacuole moved, leaving on its way a thick filament which disintegrated forming many little vacuoles; these were all connected together but soon they became freed or fused into larger ones (Fig. 5). Very often fine filaments were formed, which spread in different directions from the surface of the vacuole. These filaments showed trembling movements. They appeared in numbers varying from 1 to 5; because of their delicacy it is possible to overlook some of them. Sometimes the

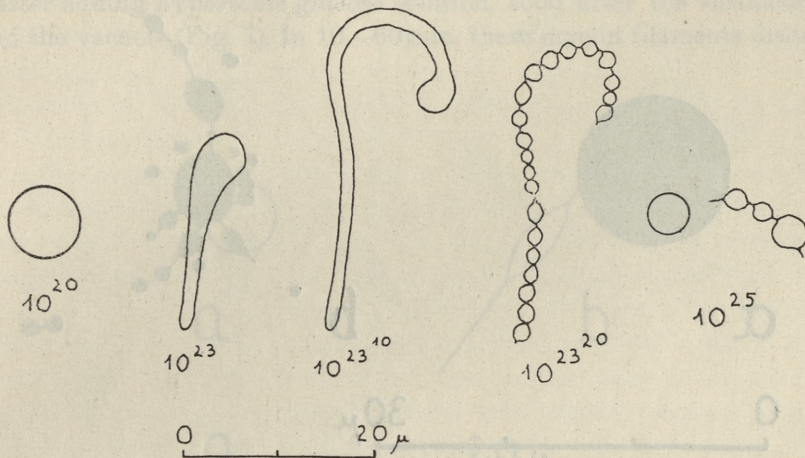


Fig. 5. The vacuole dissected out of the cell, at the beginning of the experiment and after addition of hypertonic sodium chloride solution. Drawn during the observation.

vacuoles after shrinking do not form myelin figures at all; they return slowly (in 5—15 min.) to their previous spherical shape (4 cases in 12 observations). When the vacuole has been rounded off, a second addition of hypertonic sodium chloride solution causes a second shrinking or even the formation of myelin figures (independently of whether the vacuole showed myelin figures after the first addition of hypertonic solution or not). This was observed twice; in one case the second addition of hypertonic solution caused no shrinkage. In 2 cases (out of 12 observed), the addition of hypertonic solution had no effect upon the dissected vacuoles.

Vacuoles stained with neutral red. When adding the hypertonic sodium chloride solution to the culture medium, the surface of

the dissected vacuoles shows an undulating movement. This movement becomes still stronger, finally either 1. the vacuole shrinks; the movements of its membrane stop; it has a surface like a raspberry, but a rather spherical shape (3 observations); or 2. the surface of the vacuole forms very fine threads (which are to be seen only under immersion lenses) showing trembling movements. After 3—5 min. the threads disintegrated, producing several little granules. The number of filaments formed by a single vacuole

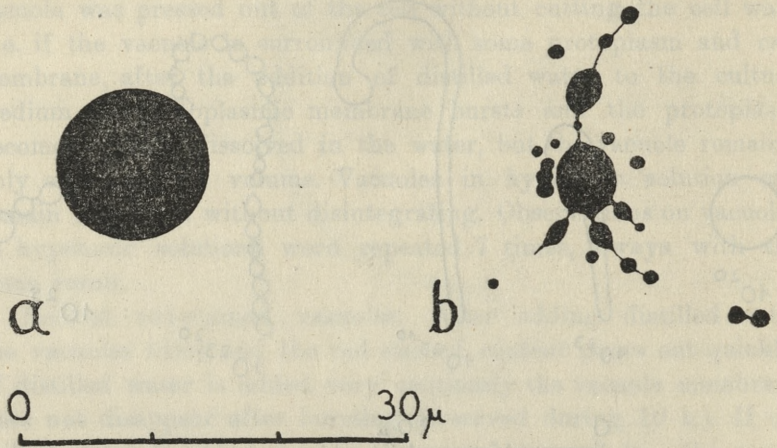


Fig. 6. a) The stained and dissected vacuole. b) The same vacuole in hypertonic sodium chloride solution; myelin figures are formed. Drawn from the photograph.

was variable (1—8); their length was also variable, often 2 to 4 times greater than the diameter of the vacuole (4 observations). When forming the filaments, the vacuole often become divided into two or more parts, which are connected by fine threads. The resulting parts round off instantly (Fig. 6). In all cases the myelin figures formed are stained red, as is the content of the vacuoles. The effect of hypertonic sodium chloride solution on stained and dissected vacuoles was observed 7 times.

3. Hypertonic solution (glucose)

Unstained vacuoles. The effect of hypertonic glucose solution on unstained and dissected vacuoles was observed 10 times. In 5 cases the vacuoles shrank quickly (in 1—2 sec.), they re-

mained shrunk during 15—60 min., then they became slowly rounded off. A rounded vacuole was less in diameter than before the experiment; during rounding off a part of the membrane of the vacuole was thrown off. In 4 cases, vacuoles when shrinking, formed myelin figures, i. e. very fine threads spreading from the surface of the vacuole in various directions. These threads are to be seen only when using high-power immersion lenses; they show trembling movements. The myelin filaments were formed 2—8 min. after adding hypertonic glucose solution, soon after the shrinkage of the vacuole (Fig. 7). In 10—60 min. these myelin filaments dis-

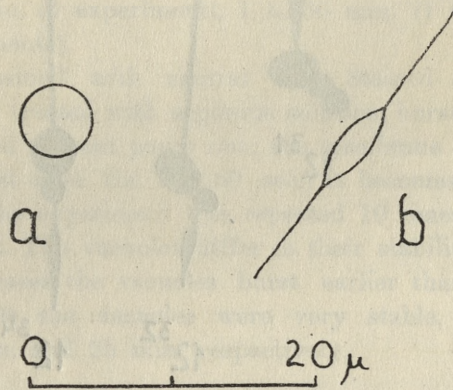


Fig. 7. a) The unstained vacuole dissected out of the cell. b) The same vacuole after addition of hypertonic glucose solution: myelin figures are formed. Drawn from the photograph.

tegrated into fine granules. During this time the vacuole became rounded off. The second addition of hypertonic glucose solution had no effect on the vacuoles. In 1 case after the first addition of hypertonic solution no shrinkage or formation of myelin figures was observed. The surface of the vacuole showed only violent movements (undulating), which stopped in 3 min. after the addition of glucose solution.

Vacuoles stained with neutral red. The stained and dissected vacuole shrinks quickly after the addition of hypertonic glucose solution. When shrinking, it usually divides into two or more parts. The resultant vacuoles are connected by fine filaments (myelin figures). Sometimes fine threads are formed on the surface of the vacuole; these spread in all directions and show trem-

bling movements. The number of these filaments is variable, but usually not great (1-3). The filaments are always stained red, as is the content of the vacuoles (Fig. 8). In 3 cases (out of 11 observations) no myelin figures were observed. The vacuoles shrank and showed no further changes.

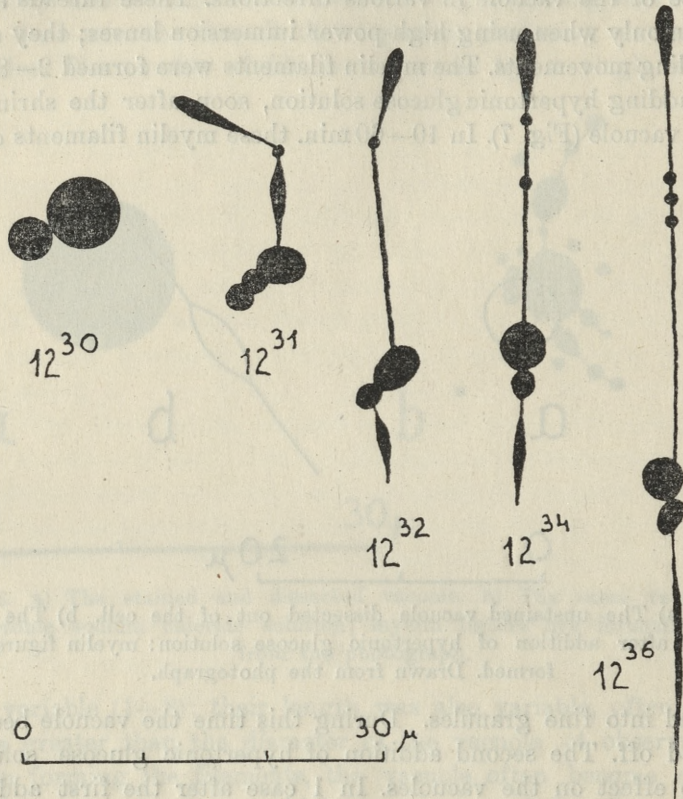


Fig. 8. 2 vacuoles stained with neutral red and then dissected out (12^{30}). After addition of hypertonic glucose solution myelin figures are formed (12^{31} — 12^{36}). Drawn from the photograph.

c) Effect of chemicals

1. Saponine

Saponine¹⁾ was used in 2% solution in Tyrode's fluid. This solution was added with a micropipette to the culture medium

¹⁾ For the gift of saponine I am greatly indebted to Prof. J. Hano.

(after dissecting out the vacuoles) in such quantity, that when mixed together a 1% solution resulted. The saponine used in 1% solution hemolyses the frog's erythrocytes easily; if the hemolysed blood is stirred, the erythrocytes disintegrate very quickly. In the moist chamber of the micromanipulator no stirring occurs and the hemolysed erythrocytes are clearly visible even after long treatment (1—3 h.) with saponine solution.

Unstained vacuoles. The unstained dissected vacuoles do not change in any appreciable way when treated with 1% saponine solution. The experiment was repeated 5 times, always with the same result. The dissected vacuoles in saponine solution were observed 30 min. (1 experiment), 1 h. 30 min. (1 experiment) or 2 h. (3 experiments).

Vacuoles stained with neutral red. Stained and dissected vacuoles, when treated with saponine solution, burst in 30 sec. — 25 min., the red content pours out; the membrane of the vacuole can be seen, but soon (in 30—60 sec.) it becomes dissolved in the medium. The experiment was repeated 10 times, always with the same result. The vacuoles differ in their stability in saponine solution. In 8 cases the vacuoles burst earlier than in 5 min.; in 2 experiments the vacuoles were very stable, because they burst in 20 min. and 25 min. respectively.

2. Ethyl ether

Ether was used as a saturated solution in Tyrode's fluid. This solution was added to the culture medium with a micropipette, after dissecting out the vacuoles. The addition of ether was stopped when a half-saturated solution had been obtained.

Ether solutions destroy the unstained vacuoles in 30—60 sec. Only one or more little grains remain as a remnant of the membrane of the vacuole. The effect of ether on unstained vacuoles was observed only 2 times.

Vacuoles stained with neutral red. After 1—2 min. of treatment with ether solution the dissected vacuoles lose their stain very quickly. Loss of stain occurs in 1—3 sec. The membrane of the vacuole disintegrates, producing several little grains; these are formed from the membrane and not from the content

of the vacuole. This result was obtained in 10 experiments; in 1 case the vacuole lost its stain but was not destroyed till the end of the observation i. e. 15 min.

3. Dioxane

Dioxane was used as 10% solution in Tyrode's fluid. This solution was added to the culture medium after dissecting out the vacuoles. The changes were instantly observed; the addition of dioxane was stopped when the first changes had been noticed, i. e. when the dioxane concentration in the culture medium had amounted to 3—5%.

Vacuoles stained with neutral red burst quickly when treated with dioxane. The red-stained content pours out and the membrane disintegrates. If the dioxane solution is added very cautiously the membrane of the vacuole does not disintegrate. Such a membrane is very sensitive to mechanical damage; stirring or mixing of the culture medium destroys it easily. The experiment was repeated 5 times, in 3 cases the membrane did not disintegrate, in 2 cases it did.

4. Wetting of the surface of the vacuole with oil

The vacuole was dissected out of the cell and then touched with a clean oil surface. By means of Chambers' microinjection apparatus, oil was pressed out of a fine micropipette (about 2μ in diameter) in such a manner that it was not detached from the pipette. Moving the pipette it could then be noticed, whether the vacuole was attached to the surface of the oil or not. When repeating the experiment, the same pipette was used, but after each experiment a little drop of oil was pressed out of the pipette. In this manner a clean surface of oil (without adsorbed protein molecules) was obtained. The culture being washed thoroughly with Tyrode's solution, there were no proteins dissolved in the culture medium, which could be adsorbed at the surface of the oil. Pure train-oil was used in the experiments.

Unstained vacuoles. The dissected vacuole, if touched with a drop of oil becomes attached to its surface and bursts in 20—30 sec. After bursting no traces of the membrane of the vacuole are visible. It is impossible to notice the place, where the bursting

begins. The experiment was repeated 10 times. In 9 cases the result mentioned was obtained; in 1 case only the vacuole did not become attached to the oil and did not burst in spite of repeatedly touching the oil surface. I suppose that this experiment was not correctly performed: the culture was not washed with Tyrode's solution; that is why in the culture medium proteins could be dissolved (from the explant). Proteins adsorbed at the oil surface change its properties profoundly.

Vacuoles stained with neutral red. Stained and dissected vacuoles touched with a clean oil surface become attached to it; that is why they move together with the pipette when it is displaced. These vacuoles burst in 5—20 sec. on the side touching the oil; this can be recognized from the direction of the outflow of the stained content. Bursting is very quick: the vacuoles seem to explode. After bursting no remains of the membrane of the vacuole are to be observed. The experiment was repeated 10 times, always with the same result.

5. Lipolytic enzyme (lipase)

The lipase (steapsin) of Schuchardt was used in saturated solution in Tyrode's fluid. This solution was added to the culture medium in such a quantity that when mixed with culture medium a half-saturated solution resulted. Digesting with lipase was carried through at room temperature.

Unstained vacuoles. The dissected vacuoles do not change appreciably when treated with lipase solution. If the dissected vacuole is not clean i. e. if little bits of protoplasm adhere to the membrane of the vacuole, in the lipase solution these remains of protoplasm are dissolved in 5—10 min. That is why the vacuole becomes freed, if it has been previously attached to the cover slide. The membrane of the vacuole itself is not destroyed by the lipase solution. The experiment was performed 10 times; the vacuoles were observed during 15 min. (2 cases), 30 min. (3 cases), 45 min. (3 cases) or during 1 h. (2 cases).

Vacuoles stained with neutral red. The stained and dissected vacuole when treated with lipase solution does not change at first. After 3—18 min. the vacuole bursts all at once and the red stained content pours out; the membrane is soon dissolved.

The experiment was repeated 9 times, always with the same result. In 8 cases the vacuoles burst earlier than in 5 min., in 1 case only the vacuole was destroyed after 18 min.

6. Proteolytic enzyme (trypsin)

Trypsin was used as 2% solution in isotonic sodium chloride solution (6.5 g NaCl/1000 cm³ H₂O) alkalinized to pH = 8.0 by the addition of kalium hydroxide. Before the operation the culture medium was replaced by isotonic sodium chloride solution (6.5 g NaCl/1000 cm³ H₂O). To this medium trypsin solution was added with a micropipette, in the proportion 1:1. In this way a concentration of trypsin about 1% and pH = about 7.9 were obtained. Digestion with trypsin was carried through at room temperature.

Unstained vacuoles. The dissected vacuole when treated with trypsin solution is not destroyed; may be, its membrane becomes thinner but the difference in thickness is hardly to be noticed. The effect of trypsin solution on dissected vacuoles was observed during 40 min. (4 cases) or during 30 min. (2 cases). In no experiment was the membrane destroyed.

Vacuoles stained with neutral red. The stained and dissected vacuoles do not change in trypsin solution at first, but after 1–10 min. the vacuoles become discoloured. Loss of stain occurs in 10–30 sec. The membrane of the vacuole is visible and does not disintegrate. The effect of trypsin solution was observed on 5 prepared vacuoles; in all cases the membrane persisted till the end of the observation, i. e. 1 h. (3 experiments), 2 h. (1 experiment) or 2 h. 40 min. (1 experiment).

V. Discussion

The experiments described show the existence of a membrane on the surface of the vacuoles. This membrane has the osmotic properties of the cell membrane; it has low permeability for sodium chloride and still lower for glucose. In its physical properties the membrane of the vacuole differs intimately from the protoplasm. The existence of the vacuole membrane was formerly proved by means of microdissection (Kredel '27, Schouten '35).

The structure of the semi-permeable cell membranes is now relatively well known. The membrane is supposed to be a continuous film of lipid molecules, of which the two outermost layers are so orientated that the hydrated polar groups are at the oil/water interfaces, with a layer of protein molecules adsorbed on both of these interfaces (Danielli '42). The surface tension of this membrane is greatly lowered by adsorbed proteins (Danielli & Harvey '35). A membrane with the same structure is supposed to surround yolk spheres also (Grodziński '38).

The permeability of the vacuole membrane recalls that of the cell membrane. Usually the cell membrane is more permeable to sodium chloride than to sugars (e. g. glucose). The same is true of the vacuole membrane.

The chemical composition of the cell membrane and that of the vacuole is probably similar. The presence of proteins in the vacuole membrane is to be supposed from its elastic properties. Harvey and Danielli ('36) have shown that only surfaces containing proteins have elastic properties. The vacuole membrane is only partially dissolved in ether or dioxane, although they are excellent fat solvents. This also proves the presence of proteins in the vacuole membrane. The effect of the influence of ether on the vacuoles recalls that on yolk spheres (Grodziński '38).

The membrane being destroyed by a fat solvent and wetted with the oil, the presence of lipoids in it may be supposed. The same was shown on *Arbacia* eggs (Chambers & Kopac '37, Kopac & Chambers '37), on *Amoeba* cells (Dawson & Belkin '29, Marsland '33, Stefanelli '37) and on erythrocytes (Mudd & Mudd '26, '31).

The presence of lipoids is proved also by other investigations. In some cases it was possible to impregnate the vacuole membrane with osmium: Dawson impregnated the membranes of vacuoles in the muscle cells of *Necturus* ('29), Grodziński in the cells of the *area vitellina* of the chick embryo ('30), Nassonow the membrane of the contractile vacuoles in the infusorian cells ('24), Zweibaum & Elkner in the fibroblasts of rabbit embryos.

The unstained vacuoles and the stained ones differ in certain properties. The stained vacuole is more sensitive to factors which

destroy the lipid component of the membrane (e. g. saponine and lipase). It is possible that the stain »binds« the protein compound of the membrane and in this way changes its properties. Similarly, on the artificial protein layer some chemicals (e. g. tannic acid) can be adsorbed, changing its properties profoundly (Schulman & Rideal '37). In some cases the membrane of the stained vacuoles can be impregnated with osmium, whereas that of the unstained ones cannot (Beams '29, '30). I suppose that this is why some authors have identified the Golgi apparatus and the vacuome (e. g. Tanaka '32).

When stained with neutral red the content of the vacuole becomes coagulated; this is proved by the stopping of the Brownian movement (Grodziński '30). The change of the fluid to the more solid state in the content of the vacuole may be the cause of the resistance of stained vacuoles in pricked cells. In my experiments, however, the content of the vacuole was fluid also after staining, because when the vacuole burst, it poured out. It is possible also, that the changes in the membrane arising from the effect of the stain, are responsible for the greater resistance of the stained vacuoles.

Saponine causes hemolysis but does not disperse artificial protein film (Schulman & Rideal '37). Saponine is supposed to act only on certain areas of the membrane of the erythrocytes, causing hemolysis (Ponder & Marsland '35). The membrane of the unstained vacuole is resistant to saponine, that of the stained one bursts. This is caused by the change in the protein compound of the membrane, due to the action of neutral red.

The similarity of vacuoles, erythrocytes and yolk spheres is noticeable. The membrane of vacuoles, yolk spheres (Grodziński '38) and erythrocytes (Seifriz '26) shows distinct elasticity. It is possible to cut vacuoles like erythrocytes and the roots of the plant *Hydrocharis* (quoted from Davson & Danielli '43). In hypertonic solutions myelin figures and undulating movements of the surface may be observed on the vacuoles. The same has been seen on yolk spheres (Grodziński '38, '46). Vacuoles, erythrocytes and yolk spheres are destroyed by hemolytic agents. The surface of the vacuoles shows affinity to oil, like that of erythrocytes (Mudd & Mudd '26, '31) and of other cells (Chambers & Kopac '37, Dawson & Bel-

kin '29, Kopac & Chambers '37, Marsland '33, Stefanelli '37). That is why I suppose the membrane of the vacuoles to be built up of lipoids and proteins, as was suggested by Danielli of the cell membrane.

The dissected vacuoles do not stain with basic vital dyes. When the cells are kept in a medium containing neutral red, the vacuoles become larger, often very markedly larger. This is supposed to be caused by the deposition of the stain inside the vacuoles. The stainability of the vacuoles with basic vital dyes is probably caused not only by the chemical affinity of the content of the vacuoles to the dye, but also by the active deposition of the dye inside the vacuoles (Koehring '30). The experiments of Brooks ('35, '38) show also the important role of the protoplasm in the deposition of various chemicals inside the vacuoles.

The vacuoles in the macrophages arise in the plasm and by pinocytosis. My observations of pinocytosis agree wholly with those of Lewis on the macrophages of the chick. The formation of vacuoles inside the cell (round the phagocytosed Indian ink granules) was observed in the cells of the *area vitellina* of the chick blastoderm by Grodziński ('30). The same process also takes place in the macrophages of the frog. Grodziński was able to see the Indian ink granules penetrating the pre-existing vacuoles. My observations were carried out on different material, so that the disagreement is not surprising. Proteins and lipoids are needed to built up the vacuole membrane. These are present both in cell membrane and in protoplasm. That is why formation of the vacuoles inside the cell and from its membrane is chemically possible and really occurs.

VI. Summary

The vacuoles in the macrophages of the frog (*R. esculenta* L.) are surrounded by a thin, semi-permeable membrane, which recalls that of the erythrocytes and yolk spheres. This membrane, like the cell membrane, is composed of lipoids and proteins. Basic vital stains change its properties. Staining of the vacuoles is caused by the deposition of the dyes in them. The membrane of the vacuoles arises from the cell membrane or from the protoplasm.

I am greatly indebted to Professor Z. Grodziński for his kind guidance during my work and for introducing me to the methods of tissue culture.

Institute of Comparative Anatomy, Jagellonian University, Kraków.

VII. References

- 1) Beams H. W., Studies on the vacuome and the Golgi apparatus in the acinar cells of the pancreas of the rat. *Anat. Rec.* 45. 137. 1930. —
- 2) Beams H. W., The so-called vacuome and the Golgi apparatus in the acinous cells of the pancreas of the rat. *Anat. Rec.* 44. 236. 1929. —
- 3) Beams H. W., The vacuome of cardiac and smooth muscle of the rat. *Anat. Rec.* 44. 237. 1929. —
- 4) Bourne G., Mitochondria and Golgi apparatus. *Cytology and cell physiology* ed. by G. Bourne. Oxford 1942. p. 99—136. —
- 5) Brooks S. C., The accumulation of ions: Relation between protoplasm and sap in *Valonia*. *Journ. Cell. Comp. Physiol.* 6. 169. 1935. —
- 6) Brooks S. C., Penetration of radioactive ions, their accumulation by protoplasm of living cells (*Nitella coronata*). *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* 38. 856. 1938. —
- 7) Brooks S. C., The penetration of radioactive potassium chloride into living cells. *Journ. Cell. Comp. Physiol.* 11. 247. 1938. —
- 8) Chambers R. and Fell H. B., Micro-operation on cells in tissue cultures. *Proc. Roy. Soc. London. Ser. B.* 109. 380. 1931—32. —
- 9) Chambers R. and Kopac M. J., The coalescence of living cells with oil drops. I. *Arbacia* eggs immersed in sea water. *Journ. Cell. Comp. Physiol.* 9. 331. 1937. —
- 10) Chambers R. and Ludford R., Microdissection studies on malignant and non-malignant tissue cells. *Arch. exp. Zellforsch.* 12. 555. 1931—32. —
- 11) Danielli J. F., The cell surface and cell physiology. *Cytology and cell physiology* ed. by G. Bourne. Oxford 1942. p. 68—98. —
- 12) Danielli J. F. and Harvey E. N., The tension at the surface of mackerel egg oil with remarks on the nature of the cell surface. *Journ. Cell. Comp. Physiol.* 5. 483. 1935. —
- 13) Davson H. and Danielli J. F., Permeability of natural membranes. Cambridge 1943. —
- 14) Davson A. B., The vacuome of skeletal muscle in *Necturus maculosus*. *Anat. Rec.* 44. 1. 1929. —
- 15) Dawson J. A. and Belkin M., The digestion of oils by *Amoeba proteus*. *Biol. Bul. Marine Biol. Lab.* 56. 80. 1929. —
- 16) Erdmann R., Gewebepflege und Gewebezüchtung bei Tieren. *Enzyklopädie d. mikr. Technik* herausgegeben von R. Krause. 1926. p. 860—880. —
- 17) Grodziński Z., *Area vitellina* of chick blastoderm in tissue cultures. *Contrib. Embryol.* 132. Publication 414 of Carnegie Inst. of Washington. 155. 1930. —
- 18) Grodziński Z., Zur Morphologie des Hühnereidotter unter normalen und experimentellen Bedingungen. *Bul. Int. Acad. Pol. Sci. Let.* BII. 1938. 317. —
- 19) Grodziński Z., Influence of the increase in the osmotic pressure upon the white yolk spheres of the hen's egg. *Bul. Int. Acad. Pol. Sci. Let.* BII. 1946. 87. —
- 20) Grodziński Z., The digestion of the yolk of the hen's egg. *Bull. Int. Acad. Pol. Sci. Let.* BII. 1946. 169. —
- 21) Harvey E. N. and Danielli J. F., The elasticity of thin films in relation to the

cell surface. Journ. Cell. Comp. Physiol. 8. 31. 1936. — 22) Hirsch G. G., Form und Stoffwechsel der Golgi Körper. Protoplasma-Monographien. Berlin 1939. — 23) Koehring V., The neutral-red reaction. Journ. Morph. Physiol. 49. 45. 1930. — 24) Kopac M. J. and Chambers R., The coalescence of living cells with oil drops. II. *Arbacia* eggs immersed in acid or alkaline calcium solutions. Journ. Cell. Comp. Physiol. 9. 345. 1937. — 25) Kirkman H. and Severinghaus A. E., A review of the Golgi apparatus. I, II, III. Anat. Rec. 70. 413, 577; 71. 72. 1938. — 26) Kredel F. E., The physical relation of cells in tissue cultures. Bul. J. Hopkins Hosp. XL. 4. 216. 1927. — 27) Lewis W. H., Pinocytosis. Bul. J. Hopkins Hosp. 49. 17. 1931. — 28) Lewis W. H., Pinocytosis by malignant cells. Amer. Journ. Cancer XXXIX. 4. 666. 1937. — 29) Marsland D., The site of narcosis in a cell: The action of a series of paraffin oils on *Amoeba dubia*. Journ. Cell. Comp. Physiol. 4. 9. 1933. — 30) Mudd S. and Mudd E. B. H., On the surface composition of normal and sensitized mammalian blood cells. Journ. Exper. Med. 43. 127. 1926. — 31) Mudd S. and Mudd E. B. H., The deformability and the wetting properties of leucocytes and erythrocytes. Journ. Gen. Physiol. 14. 733. 1931. — 32) Nassonow D., Der Exkretionsapparat (kontraktile Vakuole) der Protozoa als Homologon des Golgischen Apparates der Metazoenzelle. Arch. mikr. Anat. 103. 437. 1924. — 33) Péterfi T., Die Wirkung des Anstechens auf das Protoplasma lebender Zellen. II. Anstichversuche an in vitro gezüchteten Vogelmonozyten. Arch. exp. Zellforsch. 4. 155. 1927. — 34) Péterfi T. und Olivo O., Die Wirkung des Anstechens auf das Protoplasma lebender Zellen. I. Anstichversuche an in vitro gezüchteten Myoblasten. Arch. exp. Zellforsch. 4. 149. 1927. — 35) Ponder E. and Marsland D., The escape of haemoglobin from the red cell during haemolysis. Journ. Gen. Physiol. 19. 35. 1935. — 36) Rumiantzew A., Cytologische Studien an Gewebekulturen in vitro. 3. Über einige gleichartige morphologische Erscheinungen bei Speicherung von Tusche, Farbe und Osmiumsäure in den Gewebszellen. Z. Zellf. mikr. Anat. 6. 726. 1928. — 37) Rumiantzew A., Cytologische Studien an den Gewebekulturen. 4. Über den Golgischen Apparat in den mesenchymatösen Zellen, nebst Bemerkungen über den »Golgischen Apparat« im allgemeinen. Arch. exp. Zellforsch. 7. 107. 1928. — 38) Schouten S. L., Untersuchungen mit dem Mikromanipulator. Arch. exp. Zellforsch. 17. 429. 1935. — 39) Schulman J. H., Monolayer technique. Cytology and cell physiology ed. by G. Bourne. Oxford 1942. p. 51. — 40) Schulman J. H. and Rideal E. K., Molecular interaction in monolayers. 11. The action of haemolytic and agglutinating agents in lipo-protein monolayers. Proc. Roy. Soc. London. Ser. B. 122. 46. 1937. — 41) Seifriz W., The physical properties of erythrocytes. Protoplasma. 1. 345. 1926. — 42) Stefanelli A., Alcune osservazioni su microiniezioni di olii diversi in *Amoeba proteus*. Bol. Zool. Torino. 8. 117. 1937. — 43) Szantroch Z., Zur Methodik der Fettfärbung in Gewebekulturen. Virchow's Arch. 286. 675. 1932. — 44) Tanaka H., Golgi apparatus vitally stained with Nile-blue sulphate. Arch. exp. Zellforsch. 13. 47. 1932. — 45) Zweibaum J. et Elkner A., Sur l'appareil de Golgi (vacuome) dans les fibroblastes cultivés in vitro. Bull. Hist. 3. 219. 1926.

Rozwój naczyń krwionośnych w mózgu pstrąga tęczowego (Salmo irideus Gibb) — Le développement des vaisseaux sanguins dans le cerveau de la truite arc-en-ciel (Salmo irideus Gibb)

Mémoire

de M. Z. **GRODZIŃSKI** m. c.

présenté le 13 Octobre 1947

1. Problème et méthode	99
2. Vaisseaux principaux de la tête et du cerveau	102
3. Vaisseaux du mésencéphale	105
4. „ „ myélocéphale	111
5. „ „ cervelet	114
6. „ „ de la vésicule cérébrale antérieure	117
7. Le mécanisme du développement des vaisseaux sanguins	121
8. Migration des vaisseaux	125
9. Bibliographie	131
10. Explication des figures	132

Problème et méthode

Jusqu' à présent on ne s'occupa d'une manière détaillée du développement des vaisseaux cérébraux chez les poissons osseux. Seulement de temps en temps on trouve dans les publications de certains auteurs des mentions se rapportant aux artères et aux veines des alevins. Ces mentions se rencontrent au courant de la description de différents organes céphaliques (Agassiz et Vogt, Léréboullet, Dohrn, Hoyer, Anthony, Shearer, McCallum, Kindred, Goodrich, de Beer).

Uniquement Geldern s'occupa systématiquement des veines principales chez les alevins Téléostéens, particulièrement chez les *Lophius* et *Salmo*. Il a vu les vaisseaux veineux longitudinaux de la tête *Vv. cardinales anteriores*, parcourant medio-basiquement aux nerfs céphaliques (*Vena capitis medialis* — autorum). Chez les

7*

alevins plus avancés, les segments situés dans la région des nerfs VIII et IX disparaissent et sont remplacés par les vaisseaux dont le parcours s'effectue latéro-dorsalement à ces nerfs (*V. capititis lateralis* — *autorum*). Lors du développement du crâne, la veine se trouvera au dehors de ces derniers, à l'exception de la région du nerf trijumeau et facial. Ici elle se trouve, ensemble avec les nerfs mentionnés ci-dessus, dans la cavité (trigemino-facialis chamber) séparée uniquement par la dure-mère (Goodrich de Beer) du cerveau.

Je me suis mis à étudier les matériaux ramassés avant la guerre vers la fin de l'année 1940, pendant l'occupation allemande et après la clôture de l'université. Ce travail a duré presque l'an entier, parce que les occupations indispensables pour pouvoir subsister, m'ont laissé seulement quelques heures du soir pour travail scientifique.

Des veines du cerveau dérive d'abord d'après Gelderen *V. cerebri anterior*, qui s'avance au-dessus de l'oeil depuis le bord extérieur du prosencéphale jusqu'à sa réunion avec la veine cardinale. *V. cerebri post.* accompagnant le nerf vague, apparaît comme veine cérébrale deuxième de suite. Chez les alevins longs de 30 mm s'établit la troisième veine, *V. cerebri media spuria*. Gelderen la nomme ainsi pour la distinguer de la *V. cerebri vera* du grand nombre des vertébrés supérieurs, chez lesquels elle aboutit dans la *V. cardinalis* aboralement au *Nervus trigeminus*, pendant que chez les Teleostei elle s'échappe oralement vers elle.

Pour Gelderen il s'agissait de déterminer l'homologie de ces vaisseaux chez tous les groupes des vertébrés. C'est pour cela, qu'il s'occupait de leur rapport au crâne et aux nerfs correspondants de la tête; il n'étudiait pas leur distribution au cerveau ni les transformations qui suivirent leur développement. Contrairement aux veines on ne trouve pas jusqu'à présent une description plus exacte du développement des artères cérébrales d'un représentant quelconque des Teleostei.

Dans le travail présent on trouvera la constatation des résultats des investigations sur le développement des vaisseaux cérébraux chez la truite arc-en-ciel. Les spécimens donnés provenaient de l'établissement, d'Institut d'Ichtyologie et Pêcherie de l'Université à Mydlniki, collectés durant les années 1938, 1939 et 1941. Dans les vaisseaux des alevins on injecta l'encre de Chine au petit grain au moyen d'un tube de verre étiré dans

la flamme en fine aiguille injectrice. L'encre de Chine au grand grain bouchant la lumière empêchait le passage de la couleur dans les vaisseaux. De même on ne put se servir de l'encre de Chine bacteriologique (d'après Dr. Burri, Günther Wagner). Cette dernière se répandant parfaitement dans les vaisseaux, colorait après quelques jours l'alevin tout entier, à cause de la pénétration dans les tissus environnants. L'encre de Chine soufflée par la bouche dans l'artère caudale atteint le cerveau à condition, que l'alevin soit convenablement saigné. Dans ce but on coupa avec ciseaux oculistiques l'extrémité de la queue à l'alevin plongé dans l'eau et on laissa le sang s'écouler des artères tranchées. Un léger massage au moyen d'une baguette de verre, fait depuis la tête jusqu'à la queue, écarta le reste du sang. Pendant l'injection on ne peut pas compter sur les contractions du coeur, qui pomperait le sang mélangé d'encre de Chine, dans les vaisseaux cérébraux, comme cela se passe chez les embryons du poulet. Les alevins ont été fixés dans le liquide de Perenyj or dans la formaline et on les a examinés sous la loupe binoculaire, après les avoir rendu transparents dans l'huile de cèdre. Les stades particuliers ont été dessinés au moyen de la chambre claire d'Abbé et les observations sur les matériaux fixés furent complétées et contrôlées sur les alevins vivants.

Les matériaux ramassés peuvent être divisés en stades du développement en connexion avec les changements sensibles du système des vaisseaux:

Stade I. Les alevins, à peu près 9 mm longs, encore enfermés dans l'enveloppe de l'oeuf. Les cellules pigmentaires sont en petite quantité et seulement dans cupules optiques. Le champ vasculaire passe du corps de l'alevin dans la paroi du sac vitellin et son bord inférieur se glisse au delà de son équateur (Fig. 1, 2).

Stade II. Les alevins à peu près de 11 mm longs, bien visibles au travers de l'enveloppe de l'oeuf. Les yeux fortement imprégnés de pigment. Le champ vasculaire s'accrût en couvrant le sac vitellin tout entier. Les vaisseaux des arcs branchiaux sont encore simples. Le prosencéphale est plié sous la base du cerveau (Fig. 3, 4, 5).

Stade III. Les alevins à peu près 12 mm longs, à peine éclos de l'oeuf. Les cellules pigmentaires éparses une à une sur la surface de la tête. Le sac vitellin grand et rond. Les bourgeons des

lames branchiales sont indiqués par les petites anses vasculaires, situées perpendiculairement aux doubles vaisseaux des arcs branchiaux (Fig. 6).

Stade IV. Alevins à peu près 14 mm longs; ils nagent à peine, appesantis par le sac vitellin allongé. Les cellules dorées pigmentaires sur le sommet de la tête voilent les vaisseaux sanguins du cerveau. Le bourgeon d'opercule branchial passe vers le postérieur et emporte les vaisseaux de deux premiers arcs branchiaux: le mandibulaire et l'hyoïdien. Le cerveau se redresse, en même temps le prosencéphale se plie vers le haut et partiellement sort du mésencéphale (Fig. 7).

Stade V. Petits poissons 17 mm longs, nagent lentement. Bien pigmentés. Le reste du sac vitellin est rétiré dans la cavité abdominale et rendu invisible de l'extérieur. Prosencéphale est étendu en avant du mésencéphale. L'opercule couvre les branchies entièrement (Fig. 8, 9).

Les vaisseaux cardinaux de la tête et du cerveau

Chez les alevins les plus jeunes (Stad. I) le sang est amené à la tête par des paires aortes latérales (*Aorta lateralis*) ainsi que par leur allongements immédiats *Aa. carotides int.* Les vaisseaux mentionnés ci-dessus constituent l'anastomose dorsale de six vaisseaux des arcs branchiaux et parcourent la surface du palais futur s'en dirigeant en avant, considérablement éloignés d'eux. Les segments antérieurs des *Aa. carotides int.* s'approchent graduellement l'un vers l'autre (Stad. II, III) et pendant le passage du stade IV au V, ils s'unissent finalement et forment *A. encephalica*. Cette artère présente, pareillement come chez les adultes, l'anastomose entre *Aa. carotis int.*, qui reste à l'extérieur du chondrocranium en cours de son développement, et les vaisseaux cérébrales proprement dits.

Médialement de la cupule optique chaque *A. carotis int.* ou *A. encephalica*, qui naquit de leur jonction, se séparent en deux artères, relativement en quatre. Les unes les plus faibles, *Aa. cerebri ant.* (Fig. 1. 4. Aca), maintiennent à peu près la direction du parcours des artères cardinales et s'acheminant tout droit en avant elles passent sur la paroi latérale de la vésicule cérébrale antérieure, non différenciée encore distinctement sur télencéphale

et diencéphale. Vu que cette vésicule cérébrale est pliée sous le reste du cerveau et puisque son segment antérieur se dirige vers le bas et la portion postérieure, *A. cerebri ant.* passe en premier lieu sur la région antérieure du télencéphale. Ici elle forme une série de rameaux superficiels, en plus une artère, qui se rend au cupule optique.

La deuxième branche des artères longitudinales de la tête *A. cerebri posterior* (Fig. 1, 2, 4 Acp), se tourne en angle aigu vers

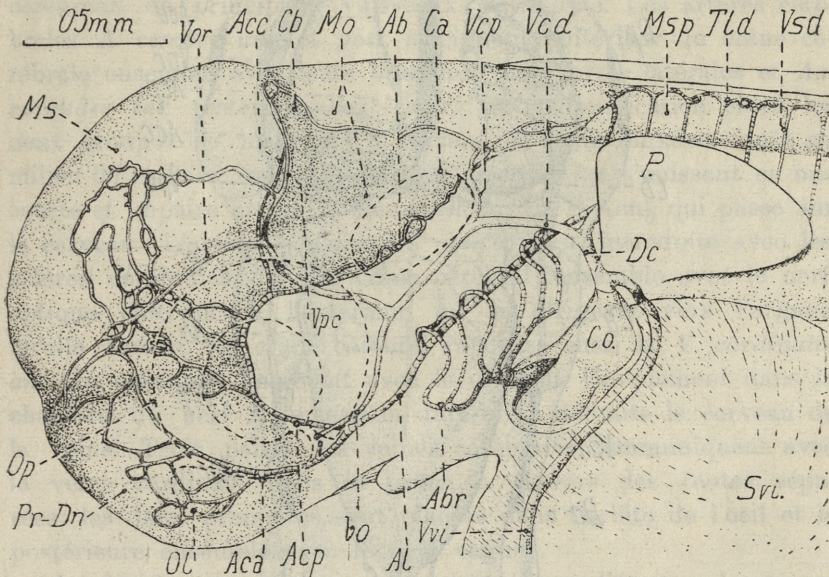


Fig. 1. L'alevin 9 mm long. Stade I. Partie antérieure du corps embryonnaire vue de côté.

le haut dans le voisinage de la cupule optique, puis se rend sur la base du cerveau. Ici elle s'engage sous le télencéphale et mésencéphale en arrière; en se dirigeant ensuite obliquement vers la ligne médiane de la base du cerveau elle rencontre dans la région du myélocéphale un vaisseau portant le même nom et appartenant à l'autre côté. Elle s'unit avec lui en une artère impaire *A. basialis* (Fig. 1, 2, 4 Ab); cette dernière aboutit à la moelle épinière, devenant de plus en plus fine. *A. cerebri post.* fournit le sang aux trois vésicules cérébrales postérieures, c'est-à-dire més-, mét- et myélocéphale, et en plus au labyrinthe. Les ramifications cérébrales de cette artère sont dans les premiers stades

peu nombreuses et rétifformes. Graduellement et d'une manière compliquée, elles font place aux troncs vasculaires.

V. cardinalis ant. (Fig. 1, 2, 4 Ved) forme le vaisseau capital emmenant le sang de la tête et du télencéphale. Elle débute dans

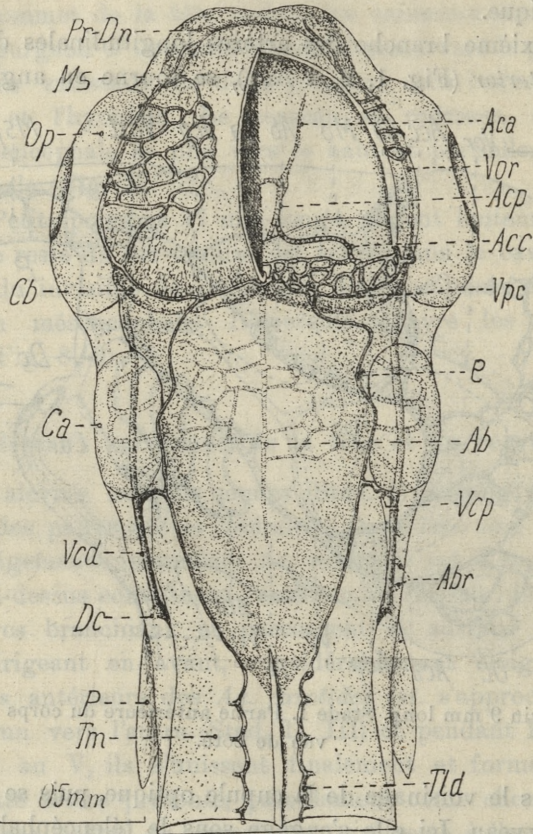


Fig. 2. Le même alevin vu de sa partie supérieure. La moitié droite du mésencéphale est enlevé. C'est la cause que l'intérieur du III. ventriculé est devenu ouvert.

la partie céphalique antérieure par un vaisseau fin *V. orbito-nasalis* (Fig. 1. 2 Vor), dans le réseau vasculaire de la vésicule cérébrale antérieure. Elle s'achemine en arrière entre le globe oculaire et la saillie latérale du mésencéphale. Plus loin elle se plie vers le bas, passe sous la vésicule auriculaire et s'ouvre dans le *Ductus Cuvieri* dans la région au delà des vaisseaux

branchiaux. Depuis le commencement (St. I) *V. cardinalis ant.* recueille le sang du globe oculaire, *V. optica* (Fig. 1, Vo), et du cerveau au moyen de deux vaisseaux *V. cerebelli primitiva* et *V. cerebri post.* (Fig. 1. C. Vpc, Vcp). *V. cerebri post.* reste après quelques transformations stable, *V. primitiva cerebelli* disparaît déjà au deuxième stade; dans sa région se développe *V. cerebri media* (St. II—IV) et en avant d'elle *V. cerebri ant.* (St. II).

Le crâne en se développant sépare les vaisseaux purement cérébraux de principaux vaisseaux de la tête. Les artères cérébrales *A. cerebri ant.* et *post.* atteignent l'intérieur du crâne cérébrale ensemble avec leurs branches. Les aortes latérales et *Aa. carotides int.* restent à l'extérieur. La communication entre les deux groupes se maintient à travers la fente impaire située au milieu de la base crânienne, où *Aa. carotides int.* s'unissent en une courte et impaire artère *A. encephalica* (Fig. 8 Acn), qui passe sur le cerveau. L'artère oculaire (*A. optica*) s'est introduite avec les artères cérébrales dans le crâne cérébral; ensemble avec le nerf optique elle sort à l'extérieur, en se dirigeant vers l'organe qu'elle dessert. Le crâne cérébral repousse aussi la *V. cardinalis ant.* du voisinage immédiat avec le cerveau. Uniquement dans la chambre du nerf trijumeau la dure-mère délimite le cerveau de la veine. Trois paires des veines cérébrales communiquent avec la veine cardinale dans le crâne à travers des fentes séparées: les deux premières sont placées dans l'orbite de l'œil et la postérieure ensemble avec le nerf vague.

Le développement des vaisseaux cérébraux liés avec les troncs céphaliques se passe d'une manière très compliquée. Examinons le ici pour chaque vésicule à part, ce qui facilitera la compréhension du développement. Mais il faut dire d'avance, les vaisseaux des vésicules cérébrales se trouvent dans une certaine dépendance les uns des autres. Car il y a des troncs artériels et veineux, qui irriguent deux vésicules avoisinantes. En plus, les vésicules cérébrales ne se développent pas avec la même vitesse et puissance. Les vaisseaux des vésicules plus forts peuvent irriguer passagèrement ou constamment les segments voisins du cerveau.

Les vaisseaux du mésencéphale

Chez les plus jeunes alevins étudiés, le mésencéphale (Fig. 1, 2 Ms) présente la forme d'une vésicule sphérique aux parois

d'épaisseur inégale. La base et les portions des côtés latéraux, contigus à lui, sont beaucoup plus épais, que le toit presque membraneux et la partie supérieure des côtés. La vésicule grandit vite, puis sa forme sphérique change en une figure ovale étendue longitudinalement dans l'axe du corps (Fig. 3, 7, 8 Ms), avec un sillon allongé et légèrement marqué, qui parcourt le milieu du dos. En même temps ses parois s'épaississent, mais à l'intérieur un ample

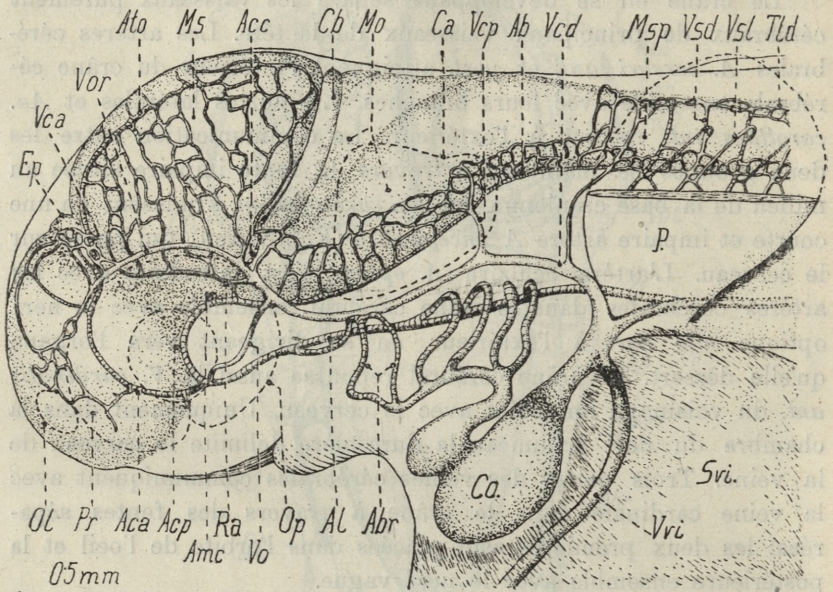


Fig. 3. Alevin 11 mm long. Stade II. Vu de côté.

ventricule persiste toujours. Dans sa lumière pénètrent d'arrière la valvule du cervelet, en remplissant son segment inférieur. Les parties antérieures et supérieures du ventricule restent toujours libres.

Les premiers vaisseaux qui apparaissent sur le mésencéphale proviennent de *Aa. cerebri post.* Ce sont quelques rameaux, qui sur les parois latérales de ce segment cérébral, forment le réseau vasculaire à mailles irrégulières (Fig. 1, 2 Ms). Le bord supérieur du réseau ne se lève pas très haut, laissant le dessus du mésencéphale non vascularisé. On ne peut distinguer dans ce réseau des troncs artériels ou veineux plus forts, ce qui indique, qu'il est un produit encore non-différencié. Dans cette phase de déve-

loppement le sang est emporté par la veine embryonnaire *V. primitiva cerebelli*, à laquelle aboutit une des branches du réseau vasculaire.

Au fure et à mesure du développement des alevins le réseau vasculaire couvre toute la surface du mésencéphale (St. II) et se transforme en un système artério-veineux, composé de distincts troncs artériels et veineux et des tubes plus fins étendus entre eux, ayant le caractère de vaisseaux capillaires sinusoides (Minot). En même temps on voit au fond et sur les parois latérales du troisième ventricule, le développement des intérieurs vaisseaux artériels. A travers le tissu cérébral les vaisseaux unissent les deux systèmes vasculaires superficiel et intérieur.

Le premier et le plus fort tronc vasculaire du mésencéphale est *A. tecti optici* (Fig. 3, 5, 6, 7 Ato), exactement visible, même sous un faible grossissement. On y voit distinctement le courant sanguin dirigé du devant du cerveau vers sa partie postérieure. A gassiz et Vogt l'on vu, il y a longtemps et ils l'ont décrit et dessiné. *A. tecti optici* provient de *A. cerebri ant.* (Fig. 3. 4 Aca) dans l'orbite de l'oeil au territoire de la 2-me et 3-me vésicule cérébrale. Par un enfoncement entre ces deux dernières elle se tourne vers le haut et passe à travers la surface du mésencéphale pour aboutir sur son sommet. Ici sans atteindre la ligne médiane, elle se dirige vers la partie postérieure du mésencéphale. Sur le dessus de ce segment on trouve alors deux artères fortes et symétriquement placées, avec le parcours légèrement ondoyant (Fig. 5, 6, Ato). Elles sont unies par quelques anastomoses et envoient de nombreux rameaux sur les côtés, formant un réseau vasculaire.

Des veinules ramassent le sang des vaisseaux superficiels du mésencéphale et se dirigent à la *V. cerebri media*. Durant ce stade, cette veine est formée, comme chez les adultes, de deux branches *Ramus anterior* et *posterior* (Fig. 3 Ra). Les embouchures de deux branches à *V. cardinalis. ant.* sont encore séparées chez cet alevin. La branche antérieure court horizontalement au-dessous du mésencéphale, la branche postérieure fait de même presque verticalement le long de son bord postérieur. Les deux embouchures s'approchent graduellement (St. III, IV), s'unissent et finalement (St. V) elles s'ouvrent dans la *V. cardinalis ant.* par l'intermédiaire d'un court conduit impair (Fig. 9. Ra, Rp).

Le système artériel intérieur se forme indépendamment de cet appareil artéro-veineux superficiel du mésencéphale. De chaque *A. cerebri post.* naît dans la partie médiane de la vésicule cérébrale *A. mesencephali centralis* (Fig. 4, 5, 7, 9 Amc), qui perce

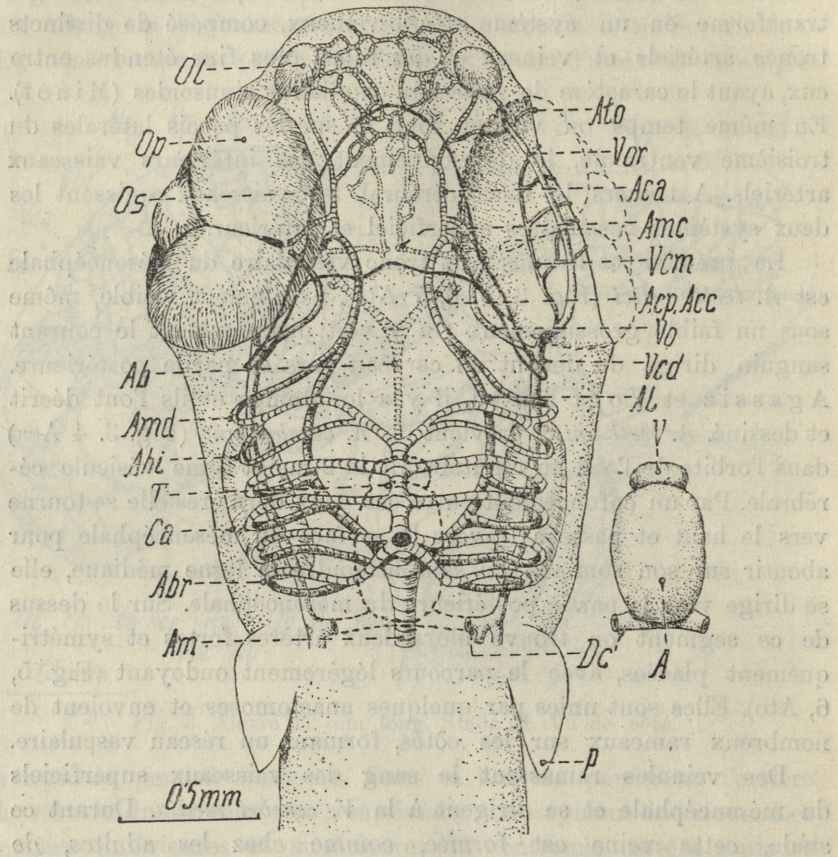


Fig. 4. Le même alevin vu de sa base. Dans le segment branchial on voit les vaisseaux dans trois plans. Les plus profonds sont les artères cérébrales (Ab), intermédiaires — l'aorte et la veine céphalique (Al, Vcd) et superficiels — le *Truncus arteriosus* (T).

la base épaisse du cerveau et se rend au troisième ventricule. Dans la substance du cerveau les vaisseaux courent parallèlement et à proximité les uns des autres. En bas du troisième ventricule, en s'écartant les uns des autres, ils s'avancent sur les côtés et couvrent son fond de nombreux rameaux (St. II-IV).

Chez les alevins plus âgés le système artériel intérieur du mésencéphale se développe puissamment. Les branches de deux *Aa. mesencephali centrales* s'allongent de plus en plus, et montent sur les parois du ventricule vers le haut, pour couvrir finalement toute sa surface; elles ne passent pas cependant sur la valvule du cervelet. Les segments centraux de *A. mesencephali cent.*, spécialement ceux qui percent la substance de la base du mésencéphale s'unissent en un tronc impair relativement tôt pendant son développement (Stade II - III). Cependant les segments intraventriculaires de ces artères ainsi que les segments initiaux séparés des *Aa. cerebri post.* restent constamment pairs.

Des branches couvrantes la paroi du ventricule émettent à la surface de nombreux conduits, qui s'unissent là avec des veines ici développées. Le sang au fur et à mesure de l'épaississement des parois aboutit en quantité de plus en plus grande du centre vers la surface du mésencéphale. Parallèlement à cela diminue l'étendue et l'importance d'*A. tecti optici* (Fig. 7, 8 Ato), qui dès le commencement fournissait le sang au tissu du mésencéphale. Le tronc artériel s'amincit graduellement et disparaît à la fin, devenant indistinct entre les vaisseaux étendus sur la surface du *Tectum opticum*. Néanmoins le segment initial de l'*A. tecti optici* reste au service de la glande pinéale même chez les poissons adultes.

A mesure de la disparition des artères sur la surface du mésencéphale, les troncs veineux croissent de plus en plus; entre eux la nouvelle veine *V. tecti media* mérite notre attention spéciale. On peut suivre facilement son développement sur les jeunes truites (St. III, IV), ayant les vaisseaux injectés avec l'encre de Chine. Sur le *Tectum opticum* dans la zone entre les deux *Aa. tecti optici* (Fig. 5 Ato) apparaissent dès le commencement des anastomoses transversales peu nombreuses, qui unissent ces deux artères. Leur nombre augmente lentement; des vaisseaux longitudinaux apparaissent, spécialement dans le sillon médian séparant la moitié droite du mésencéphale de la moitié gauche; ces vaisseaux forment avec les anastomoses un réseau vasculaire très irrégulier. Les segments postérieurs du réseau avoisinant au myélencéphale s'unissent avec les branches terminales de deux *Vv. cerebri posteriores*. Les segments antérieurs font de même

avec les vaisseaux de la glande pinéale ou intermédiairement avec *V. cerebri ant.* (Fig. 6 *Vcp*, *Ep*).

L'impair tronc veineux *V. tecti media* se différencie simultanément dans ce réseau. Ces premiers bourgeons apparaissent dans

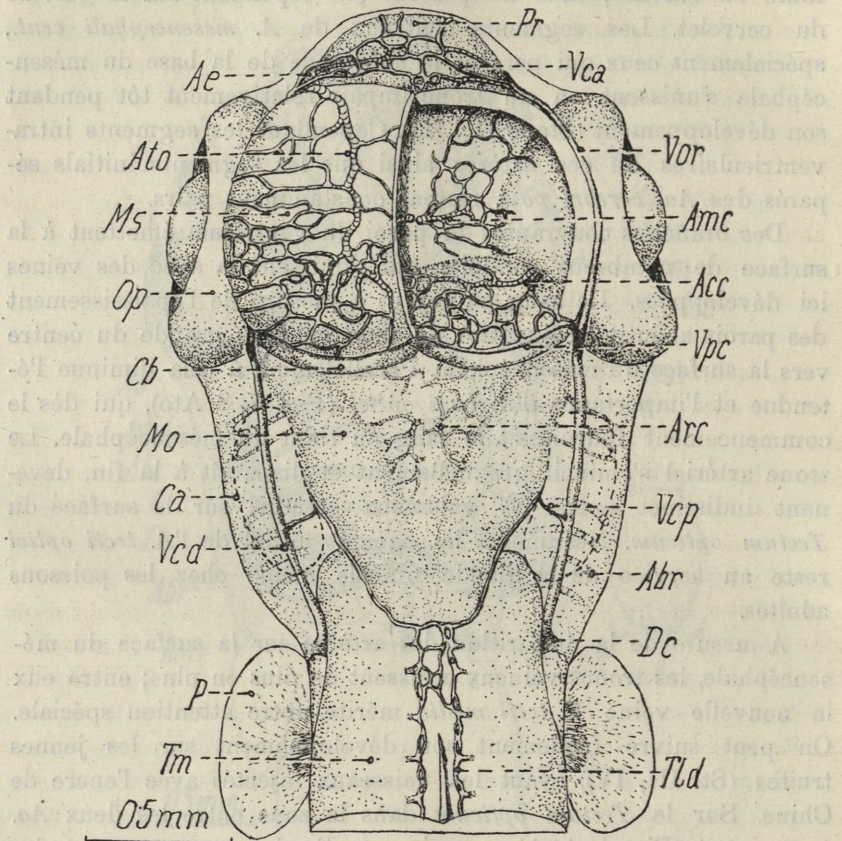


Fig. 5. Le même alevin vu d'au-dessus. Ainsi que sur la Fig. 2, la moitié droite du mésencéphale est enlevée.

la partie postérieure du mésencéphale, en forme de longitudinaux et élargis tubes vasculaires. Au fur et à mesure du développement ultérieur du poisson le tronc veineux s'allonge dans le sillon longitudinal du mésencéphale (Fig. 6, 7, 8, 9 *Vtm*) dès commencement d'une façon continue — aux dépens du réseau vasculaire — et aboutit à la fin à la frontière du télencéphale, où il se joint aux vaisseaux de la glande pinéale.

V. tecti media unit donc le confluent de la veine cérébrale antérieure et postérieure. Le sang coule dans elle du devant en arrière ce qu'indique son diamètre sensiblement plus grand dans l'embouchure postérieure du mésencéphale. Quand la glande pinéale s'éloigne en avant du mésencéphale et par dessus le télencéphale, la jonction disparaît entre ses vaisseaux et ceux de *V. tecti media*. Mais l'union avec *V. cerebri post.* reste permanente le plus souvent avec la droite qu'avec la gauche ou avec les deux. En même temps, avec l'accroissement en longueur *V. tecti media* s'enrichit des branches latérales, au moyen desquelles elle atteint, au-dessus de la surface du mésencéphale, occupée jusqu'alors par la disparaissante *A. tecti optici*. Néanmoins on ne peut, en s'appuyant sur matériel étudié, constater si les segments de l'artère en cas de disparition, sont absorbés par les segments de la veine naissante, ou si les veines se forment spontanément. L'aspect de la veine elle-même se modifie à un degré aussi grand que l'exige la formation d'un tube droit, s'aminçissant par degrés de la partie postérieure à l'antérieure. *V. tecti media*, y compris ses branches, irrigue la partie médiane du *Tectum opticum*.

La portion restante, c'est-à-dire les côtés et la base du mésencéphale alimente *V. cerebri media* au moyen des ses deux branches: *R. anterior* et *posterior* (Fig. 9 Ra, Rp). Dans le réseau vasculaire de cette région du cerveau, naissent de nombreuses venules, qui s'échappent dans les vaisseaux principaux. En même temps la position de deux branches change, l'une par rapport à l'autre (Fig. 3, 9). La branche antérieure, placée plus horizontalement que la postérieure, garde à peu près sa place. La postérieure située en long du bord postérieur du mésencéphale, alors plutôt verticalement, s'abaisse avec lui jusqu'à la ligne horizontale. L'embouchure de deux branches dans *V. cardinalis* au début séparée, s'unit après en une veine commune. *V. cerebri media*, la plus grande veine cérébrale atteint avec ses branches le télencéphale, le cervelet et le myélocéphale.

Les vaisseaux du myélocéphale

Le cerveau postérieur (Fig. 1, 2, 3 Mo) est une vésicule très étendue en longueur dans l'axe du corps, aux contours irréguliers; il est beaucoup plus élevée dans le segment antérieur. En se

dirigeant vers la partie postérieure il s'amincit peu à peu et se transforme insensiblement en moelle épinière. L'inférieure partie du myélocéphale aux parois épaisses, couvre une lame mince et membraneuse. Le corps du cervelet se pose pendant son développement du haut sur le myélocéphale, il exerce une pression sur lui et aplatit sa surface supérieure (Fig. 9 Mo). Les parois entières du myélocéphale s'épaississent graduellement, abandonnant le très mince ventricule quatrième, couvert supérieurement par le cervelet.

L'impaire *A. basialis* (Fig. 1, 2, 3, 4 Ab) court médialement sur la base du myélocéphale et envoie une série de rameaux latéraux, spécialement dans la région des vésicules auditives. Les rameaux en s'unissant prennent l'aspect d'un réseau, qui possède le caractère d'un produit irrégulier. Ils couvrent la surface inférieure du myélocéphale. Dans le réseau vasculaire aucun tronc fort, appartenant autant au cerveau qu'au labyrinthe, ne se distingue nettement. *V. cerebri post.* fonctionne comme un vaisseau efférent (Fig. 1, 3 Vep.).

Cette veine est plantée au moyen d'un bras dans le segment postérieur du réseau. Le deuxième bras (Fig. 1, 2 e) beaucoup plus étendu en longueur, commence sur le sommet du cervelet, court obliquement le long de la paroi latérale du myélocéphale vers le bas et la partie postérieure. Derrière la vésicule auditive il s'unit avec le premier bras en formant la *V. cerebri post.* Le bras plus long, qui est un produit passager, disparaîtra dans le subséquent stade du développement (St. II). Un vaisseau semblable quant au parcours et au sort du développement, se voit chez le poulet (Sabin).

Les vaisseaux d'arrière-cerveau s'assimilent en principe aux transformations semblables à celles du mésencéphale; transformations qui d'une manière plus simple, à vrai dire, mènent au remplacement du superficiel système artério-veineux par interne artériel et superficiel veineux (Fig. 7).

Le réseau vasculaire primaire s'étend (11 mm) sur les côtés du myélocéphale et s'épaissit fortement (Fig. 3 Mg). Simultanément les artères verticales pénètrent de *A. basialis* à travers la substance nerveuse du myélocéphale et s'étendent au moyen de ses rameaux sur le fond du ventricule IV (Fig. 5 Arc). Graduellement augmente le nombre de ces verticales *Aa. rhomben-*

cephali centrales (Fig. 9 Arc) et la place, à laquelle atteignent leurs branches le fond du ventricule, s'étend. Des branches artérielles,

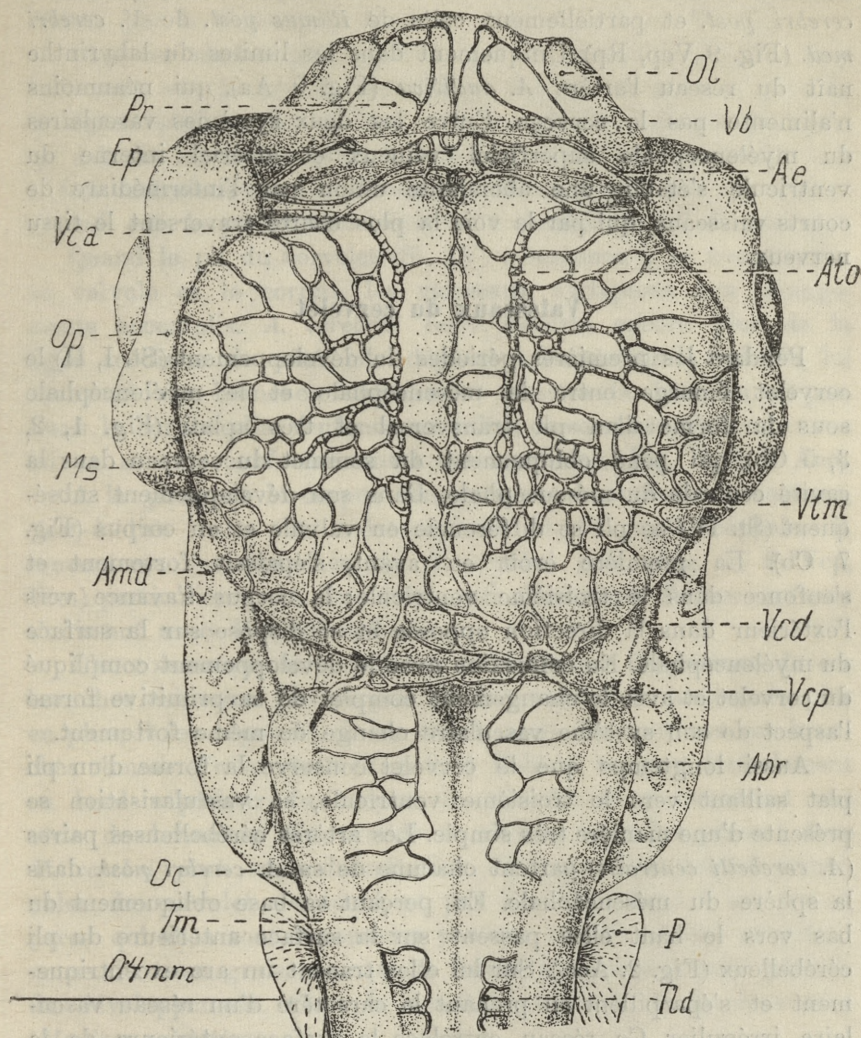


Fig. 6. Alevin 12 mm long. Stade III. La partie supérieure de la tête. formées sur le fond du ventricule passent les petits vaisseaux à travers les parois vers la surface. A mesure que le système artériel interne du myélocéphale se développe, le réseau vasculaire non

différencié sur la surface se change en troncs veineux, qui ramassent le sang, en obtenant de plus en plus abondamment des vaisseaux du ventricule IV. Les veines deviennent les branches de *V. cerebri post.* et partiellement celle de *Ramus post.* de *V. cerebri med.* (Fig. 9 Vcp, Rp). Uniquement dans les limites du labyrinthe naît du réseau l'artère *A. auditiva* (Fig. 9 Aa), qui néanmoins n'alimente pas le cerveau. Entre les deux systèmes vasculaires du myélocéphale superficiel veineux et artériel interne du ventricule s'établit une abondante union par l'intermédiaire de courts vaisseaux, qui par la voie la plus courte traversent le tissu nerveux.

Vaisseaux du cervelet

Pendant les premières périodes du développement (St. I, II) le cervelet émerge entre le mésencéphale et le myélocéphale sous la forme d'un pli transversal et très aplati (Fig. 1, 2, 3, 5 Cb), qui pend obliquement du sommet du cerveau dans la cavité centrale du mésencéphale. Dans son développement subséquent (St. IV) ce pli se différencie en valvule et en corpus (Fig. 7 Cb). La première croît en avant, s'épaissit fortement et s'enfonce dans le troisième ventricule; le corpus s'avance vers l'extérieur dans la direction opposée et se dispose sur la surface du myélocéphale. En connexion avec le développement compliqué du cervelet et avec le changement complet de sa primitive forme l'aspect de son système vasculaire change de même fortement.

Aussi longtemps que le cervelet conserve la forme d'un pli plat saillant vers le troisième ventricule, sa vascularisation se présente d'une manière très simple. Les artères cérébelleuses paires (*A. cerebelli centralis*) partent chacune de sa *A. cerebri post.* dans la sphère du mésencéphale. En perçant sa base obliquement du bas vers le haut elles passent sur la surface antérieure du pli cérébelleux (Fig. 2. Acc.). Sur lui elles tracent un arc excentriquement et s'éparpillent en prenant le caractère d'un réseau vasculaire irrégulier. Ce réseau entrelace la surface antérieure de la portion supérieure du pli du cervelet; dans la partie inférieure on trouve seulement deux vaisseaux afférents. Les vaisseaux du bord extérieur du réseau cérébelleux (Fig. 1, 2, Vpc) forment un tronc veineux (*V. primitiva cerebelli*) plus ou moins distinct, qui conduit le sang du cervelet à la *V. cardinalis*. Son parcours

est légèrement ondoyant. Avec le réseau vasculaire du cervelet s'unit encore l'antérieure branche de la *V. cerebri post.* (Fig. 1, 2 Vcp, a), qui s'échappe de son bord dorsal. Cette union se rompt bientôt par la disparition de la branche antérieure (St. II).

Chez les alevins plus âgés la voie de transition des *Aa. cerebelli cent.* sur le pli du cervelet se déplace de plus en plus de la ligne médiane de sa base vers les globes oculaires de sorte, qu'à la fin les artères (Fig. 3, 5 Acc) montent sur le cervelet tout à fait latéralement. Le réseau vasculaire, formé par ces artères s'étend sur la partie antérieure toute entière du pli du cervelet.

Quand le pli du cervelet (St. IV) commence à se transformer en valvule et le corpus, les vaisseaux s'adaptent aux changements accomplis. *A. cerebelli centr.* s'écarte encore plus de la ligne médiane de côté; elle dépasse à l'extérieur la valvule, lui envoyant ses branches latérales et pénètre la base du corpus. Dans le corpus elle s'enfonce au milieu de son tissu, s'allonge avec lui et se plie conformément à ses courbures (Fig. 7, 8, 9 Acc).

A la place où le corpus émergera sur la surface du cerveau, c'est-à-dire entre le mésencéphale et le myélencéphale, il rencontrera les branches de *V. cerebri post.* (Fig. 7, 8 Vcp, Vtm) particulièrement ces deux, qui alimentant *Tectum opticum* s'unissent avec *V. tecti media.*

L'accroissement du cervelet se réfléchit sur l'apparence de ces branches veineux. Les corpus les fait reculer en arrière de plus en plus; il les repousse, il les étend aussi. En tout cas ces branches comme *Vv. cerebelli* (Fig. 8, 9 Vcb) se rangent latéralement au bord supérieur du corpus du cervelet et y ramassent une série de branches. En arrière et vers le bas elles passent dans *V. cerebri post.* sans délimitation distincte. Les veines principales du cervelet ne touchent pas immédiatement à ses parois, parce qu'elles sont repoussées par une couche épaisse et gélatineuse du tissu graisseux, qui se forme justement à cette période du développement. C'est la couche intérieure de la dure-mère (*Meninx primitiva*).

V. primitiva cerebelli disparaît graduellement, simultanément avec le changement du pli aplati du cervelet en corpus cylindrique et la valvule. A la fin deux systèmes vasculaires se fixent aussi dans le cervelet: le superficiel veineux et intérieur artériel, unis par de petits vaisseaux perçant la substance nerveuse.

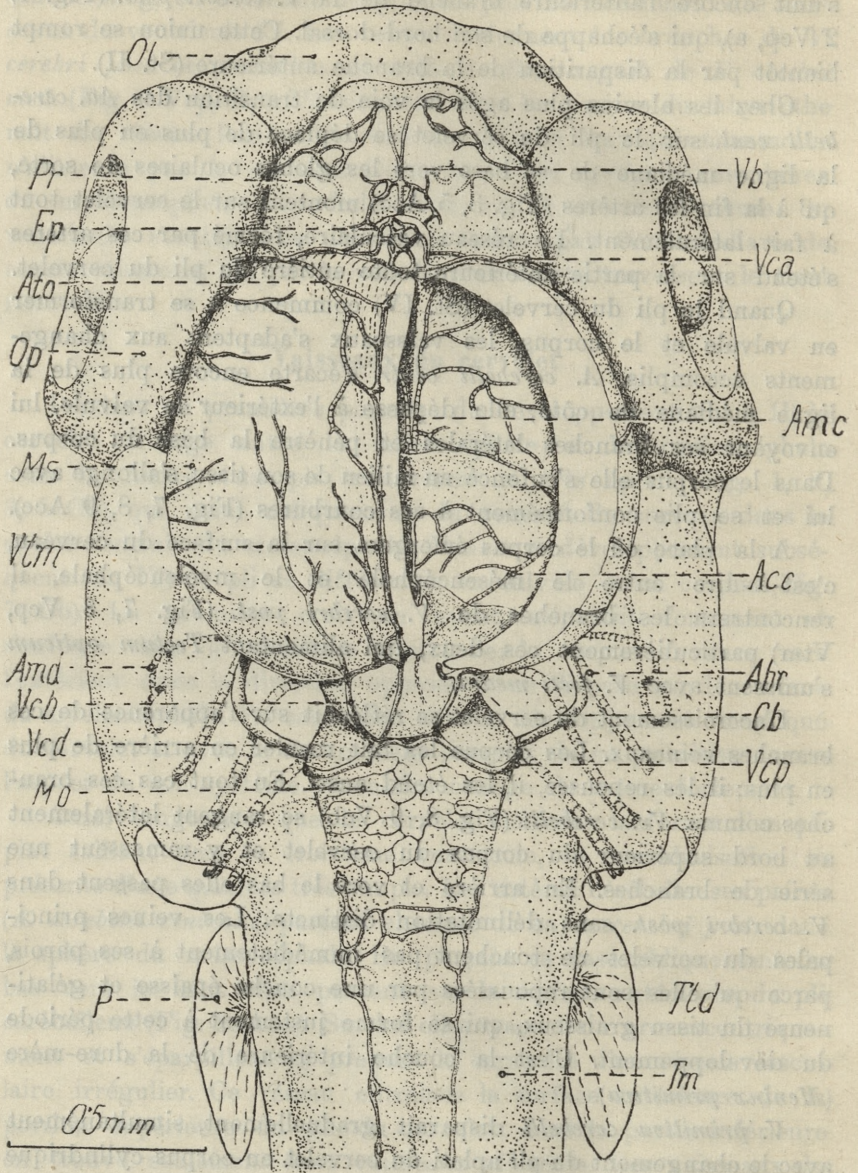


Fig. 7. Alevin 14 mm. long. Stade IV. La partie supérieure de la tête. Pareillement que dans la Fig. 2. la moitié droite du mésencéphale est enlevée.

Vaisseaux de la vésicule cérébrale antérieure

Le futur bourgeon du tél- et di-encéphale se développe avec un certain retard, relativement aux autres segments du cerveau. Au commencement la petite vésicule, presque sphérique (St. I) et aux parois minces, apparaît infléchie au-dessous du cerveau à un tel point (Fig. 1, 2 Pr), que dans sa partie supérieure elle est entièrement voilée par le mésencéphale. Graduellement elle se redresse et s'établit définitivement (St. V) au devant du cerveau, au même niveau que les vésicules consécutives (Fig. 8, 9 Pr). En même temps elle se divise en tél- et -diencéphale. Mais avant tout, le diencéphale se distingue extérieurement par la naissance de la glande pinéale (Fig. 3, 6, 7 Ep) sur le dos, et de l'hypophyse cérébrale et de son entourage sur la base du cerveau. Le telencéphale s'allonge d'une manière considérable: la base de deux hémisphères cérébrales s'épaissit beaucoup, mais les parois, la supérieure et les latérales, restent membraneuses et séparées par vaste fente des ventricules latéraux. Finalement les bulbes olfactifs se distinguent, nettement détachés chez les individus adultes de deux hémisphères.

Chez les alevins les plus jeunes qui ont été examinés, le réseau vasculaire irrégulier et non différencié s'étend sur la paroi latérale de la vésicule. Il s'unit à l'artère *A. cerebri ant.* du côté inférieur du cerveau, du côté supérieur à *V. orbito-nasalis* et avec son allongement terminal à *V. cardinalis ant.* (Fig. 1, 2 Aca, Vot).

Dans le réseau non différencié apparaissent les premiers troncs distincts, en connexion avec la formation de la glande pinéale (St. II—IV). A la saillie de la glande pinéale, légèrement marquée, au-dessus de la surface de la vésicule cérébrale se dirige l'artériole *A. epiphysealis* (Fig. 3 Ep, Vca), ayant le caractère d'une faible branche latérale de l'*A. tecti optici*. Cette artère est située dans un enfoncement entre tél- et mésencéphale. Auprès d'elle, mais plus superficiellement, s'achemine le bourgeon réticulé de *V. cerebri ant.*, qui bientôt se change en un tronc veineux tubuliforme.

L'artère s'accroît en s'enfonçant constamment depuis la base jusqu'au dedans de la substance de la glande pinéale; la veine court parallèlement à la surface extérieure et seulement sur le som-

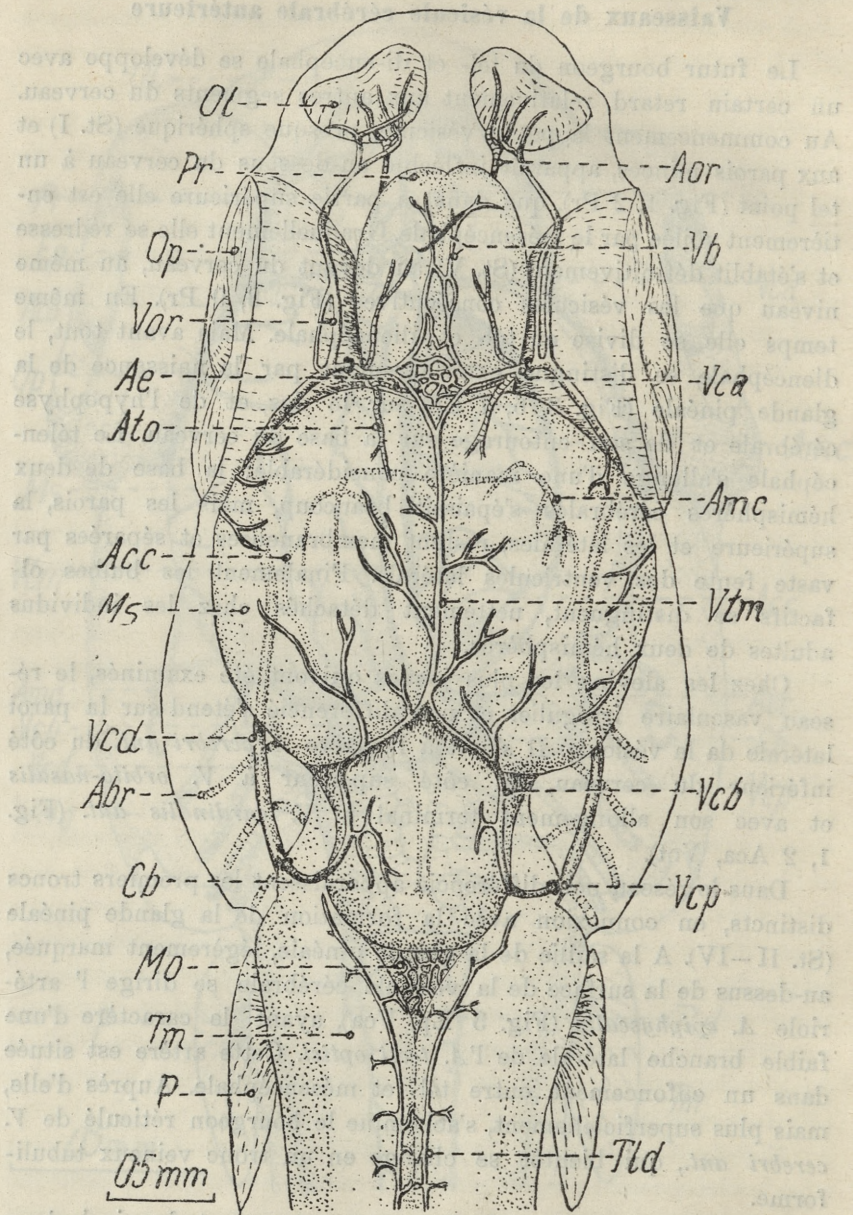


Fig. 8. Alevin 17 mm long. Stade V. Vu d'au-dessus.

met elle s'unit avec les branches de l'artère. Au fur et à mesure de l'augmentation de la glande pinéale s'accroît et s'allonge l'artère, qui demeure dans son intérieur. Simultanément *A. tecti optici*, le tronc maternel de l'*A. epiphysealis* (Fig. 5, 7, 8, 9 Ato, Ae) perd son importance dans la zone de *Tectum opticum*. Ses branches respectives disparaissent lentement, de même que son tronc principal. Sa primitive portion en s'écartant de *A. cerebri ant.* reste cependant avec l'artère qui alimente la glande pinéale; elle conserve le caractère d'un tronc artériel tubuliforme *A. epiphysealis* (5, 7, 8, 9 Ato Ae).

V. cerebri ant. est fixée au moyen de ses branches dans le réseau vasculaire du sommet de la glande pinéale, et s'unit intermédiairement à travers ce réseau avec vaisseaux de la partie apicale du mésencéphale (*V. tecti media*) et du télencéphale (*V. bulbalis* — Fig. 6, 7, 8, 9 Vca, Vtm, Vb). *V. cerebri ant.* change de position relativement aux parties avoisinantes du cerveau, au fur et à mesure que la glande pinéale ainsi que le *Saccus dorsalis* — qui l'entoure — commencent à s'allonger, d'abord verticalement dans la direction dorsale et plus tard horizontalement vers le devant de la tête. Pendant le premier stade elle passe vers le haut, en partie au-dessus même de la surface du prosencéphale; au courant du deuxième stade elle quitte le sillon délimitant le télencéphale du mésencéphale. Ensemble avec le segment terminal de la glande pinéale elle passe vers la partie antérieure de la tête et parvient à la moitié de la longueur de deux hémisphères cérébrales. En relation avec cette migration elle perd l'union avec les veines du sommet du prosencéphale (*Plexus venosus prosencephali*); ces dernières restent étendues dans la partie basale du *Saccus dorsalis* et sur le *Bulbus*.

Les vaisseaux du télencéphale se développent pareillement à ceux dans les autres vésicules cérébrales, c'est-à-dire, que le système artério-veineux superficiel se change en veineux, et que le système intérieur-artériel se constitue secondairement. *V. orbitonasalis* perd son union (St. III—IV) avec le superficiel réseau vasculaire du télencéphale. Les vaisseaux veineux établis en ce réseau s'unissent avec l'antérieure branche de *V. cerebri media* (Fig. 9, Ra), en s'écartant de la *V. cerebri ant.*, par l'effet de la migration de cette dernière veine, décrite ci-dessus.

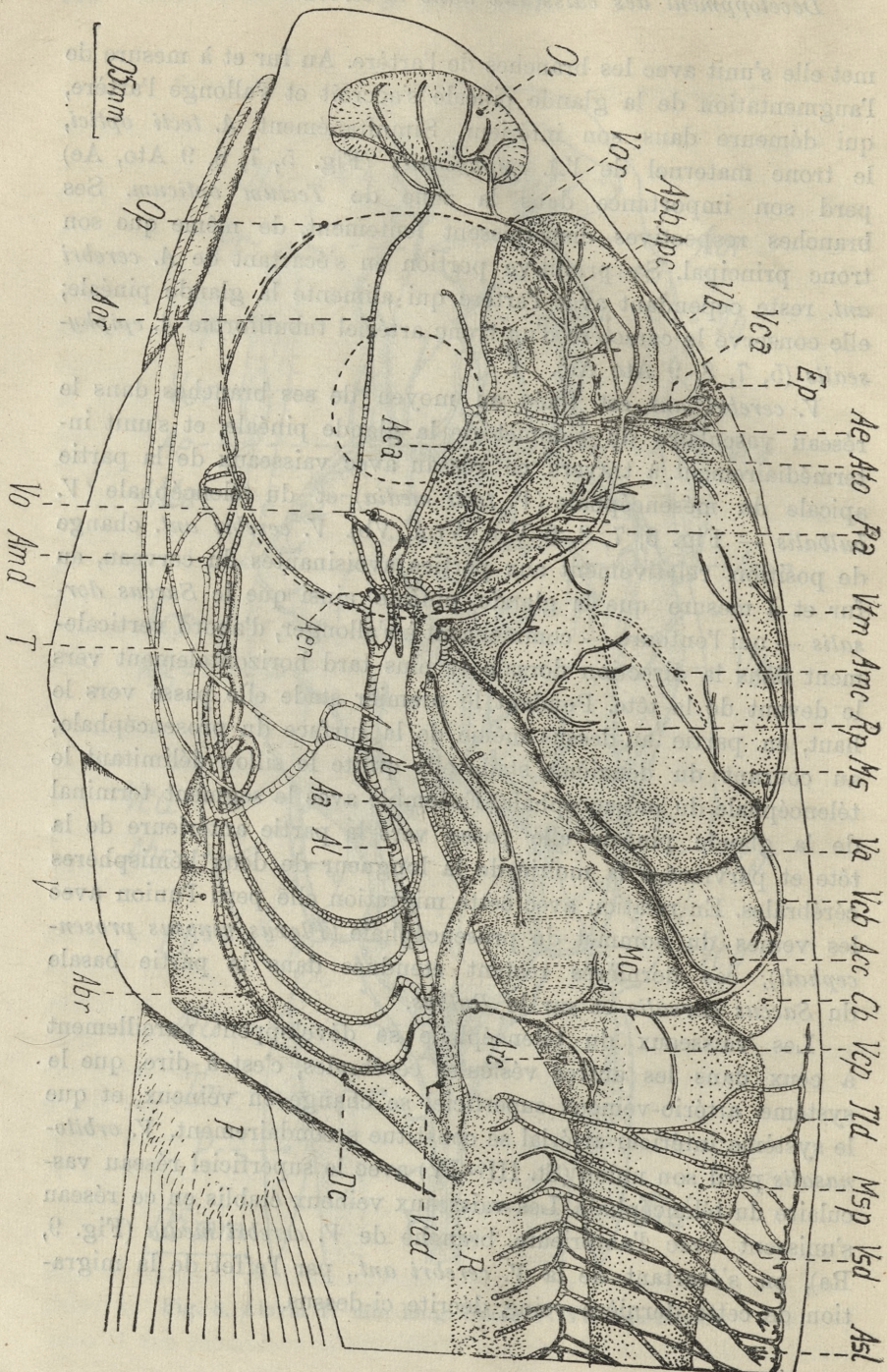


Fig. 9. Le même exemplaire. Vu de côté. Le cerveau fortement pointillé.

Simultanément l'artère du télencéphale *A. cerebri ant.* passe la paroi latérale de l'antérieure vésicule cérébrale vers la base du diencéphale. Une de ces branches latérales court (St. IV. V) au milieu du fond du prosencéphale; les vaisseaux bilatéraux — droit et gauche — forment la plus ou moins impaire *A. prosencephali basilaris*, et ils envoient à l'intérieur du télencéphale les vaisseaux verticaux: *Aa. prosencephali centrales* (Fig. 9, Apb, Apc), qui se ramifient intensivement en ce lieu. Entre cet intérieur système artériel et superficiel veineux, de nombreux petits vaisseaux existent, qui les unissent, en perçant par la voie la plus courte, la substance du cerveau.

Le mécanisme du développement des vaisseaux sanguins

L'angioblaste, c'est-à-dire le matériel producteur du sang et des vaisseaux, se trouve chez les alevins, convenablement jeunes, dans les régions du corps strictement déterminées. Les Teleostei le possèdent primitivement sous la forme de cordons impairs, situés immédiatement sous la corde dorsale. Le cordon s'étend en long chez les poissons pélagiques uniquement dans la queue et dans les environs de l'anus, et chez les autres dans le tronc (Grochmalicki, Senior). Chez la truite il atteint huitième métamère du corps (Sobotta).

Dans le matériel angioblastique une partie de cellules se transforme sur place en globules rouges et en paroi endothéliale des vaisseaux principaux longitudinaux (*Aorta, Vv. cardinales*); une autre partie de cellules se déplace en se dirigeant sur le sac vittellin (*Fundulus*-Stockard) et là elle se transforme en vaisseaux et en cellules sanguines. Probablement les vaisseaux de la tête de la truite ne naissent pas sur place, parce que le matériel angioblastique des alevins ne s'avance pas aussi vers le devant. Ils se forment ici secondairement, mais il nous manque des observations, s'ils ont atteint la tête en ayant le caractère des vaisseaux tubuliformes, ou si on doit les considérer comme des cordons de cellules envoyés par les vaisseaux déjà existants. Enfin on peut se demander, si les cellules séparées du matériel angioblastique non différencié sont peut-être parvenues à la tête et se réunissant sur les places conformes à leur destination, ont formé des tubes vasculaires et se sont jointes encore une fois aux vaisseaux déjà existants.

Les premiers vaisseaux sanguins (Fig. 1, 2) qu'on a pu trouver dans le cerveau de la truite se composent des réseaux vasculaires irréguliers, en plus de quelques troncs artériels et veineux (*A. cerebri ant., post., V. cardinalis ant., V. cerebri post.*). Les réseaux vasculaires s'accroissent sur le cerveau en devenant de plus en plus denses. Ils y tendent à occuper des régions toujours plus vastes. En même temps ils se transforment dans les zones déterminées en troncs vasculaires distincts (*V. cerebri ant., med., V. tecti media, A. tecti optici*). Cela est en accord avec les conceptions établies jusqu'à présent, qui sont en rapport avec la manière, suivant laquelle s'accomplit la formation des troncs vasculaires.

Après une discussion de longue durée et après de nombreuses recherches (on pourrait citer plus d'une vingtaine de noms et un nombre beaucoup plus grand de publications) on admit, que le réseau irrégulier des vaisseaux capillaires à aspect sinusoïde constitue le matériel, qui donne naissance aux troncs artériels et veineux. A savoir particulièrement les portions du réseau, dont se sert le courant sanguin plus intensivement que des autres, s'élargissent fortement et acquièrent progressivement l'apparence d'un tronc droit et continu. Dès le commencement ces élargis vaisseaux du réseau peuvent former un écheveau de tubes plus ou moins parallèles, mais finalement l'un d'eux grandit à un tel point, qu'il dépasse le diamètre des autres et entre dans la domaine de la future artère ou de la veine. Grâce à cette incorporation graduelle des segments du réseau, qui occupent des places de plus en plus éloignées entre les limites du tronc, les contours de ce dernier, d'abord d'apparence faiblement ondoyante, s'égalisent bientôt et désormais deviennent droits, unis et lisses (Evans, Streeter, Thoma, Sabin, Grodziński).

Du point de vue essentiel on observe chez la truite des processus semblables; il n'y a qu'à citer comme exemple *V. tecti media* et *A. tecti optici*. Néanmoins en comparaison avec la formation des troncs chez les amniotes on voit certaines différences dans le développement. Si avant tout autre nous prenons en considération le seul réseau vasculaire sur le cerveau du serpent (Grodziński) nous arrivons à la conclusion, que dès l'origine il est beaucoup plus dense que chez la truite et que ses petits vaisseaux respectifs se répandent en sinusoïdes un peu

plus accentués. Les mêmes différences se voient aussi dans les premiers vaisseaux de la nageoire de la truite (Grodziński) et de l'aile d'oiseau (Evans). En connexion avec la grandeur des mailles du réseau chez la truite, l'écheveau de tubes vasculaires élargis n'occupe pas la place du parcours du tronc futur, mais pendant la formation du tronc un vaisseaux s'élargit uniquement. Ce genre de processus du développement se réfléchit sur l'apparence du tronc en train de sa formation. Chez la truite son parcours est moins ondoyant. Les différences du développement entre les vaisseaux de la truite et des amniotes mentionnées ci-dessus ont le caractère quantitatif et non qualitatif.

Streeter en étudiant le développement des vaisseaux cérébraux de l'homme appela l'attention sur le phénomène suivant: les vaisseaux sanguins en se développant s'adaptent à la structure de l'organe alimenté par eux. Si l'organe change, il en est de même avec les vaisseaux. Mais dans les vaisseaux de tels changements n'arrivent jamais qui eussent été des préparatifs aux changements dans la structure de l'organe. En prenant comme exemple le cerveau de la truite, on peut approuver entièrement les thèses de Streeter.

Les premiers vaisseaux d'un type réticulé apparaissent sur la surface latéro-inférieure du myélocéphale et de l'antérieure vésicule cérébrale. La surface occupée par ces primitifs réseau vasculaires n'atteint pas sûrement la moitié de la surface du cerveau. Les segments cérébraux privés de vaisseaux sont beaucoup plus minces que les vascularisés et présentent le caractère membraneux. Chez les alevins vivants ils sont complètement transparents, mais chez ceux fixés au moyen de la formaline ils possèdent l'apparence trouble. A mesure que les parois de vésicules cérébrales s'épaississent, les vaisseaux en s'accroissant s'enfoncent dans les terrains jusqu'alors inoccupés. Il existe une relation entre l'épaisseur du tissu cérébral et la présence ou le manque de vaisseaux. Quantitativement je n'ai pas essayé d'étudier ce phénomène.

Les réseaux vasculaires attachés aux artères et les veines se transforment en leurs branches latérales, c'est-à-dire, qu'un système artère-veineux existe primitivement sur la surface du cerveau. Le système artériel se forme dans l'intérieur des vésicules pendant les stades assez précoces du développement, et alors

que le système superficiel artéro-veineux se change en veineux. Le sang coule dans le tissu cérébral de l'intérieur à l'extérieur, des artères aux veines. Sur la surface du cerveau (Fig. 9) restent seulement les artères, qui courent le long de la base du cerveau: *A. prosencephali basilaris*, *A. cerebri post.*, *A. basialis* et envoient leurs branches uniquement à l'intérieur du cerveau.

Cette vascularisation inusitée du cerveau chez les vertébrés est en connexion avec le mode du développement du cerveau entier. La tête de jeunes alevins des Téléostéens s'attache étroitement au sac vittellin. Cette pression s'opère de l'extérieur aux vésicules cérébrales pourvues de minces parois. Les parois des vésicules ne peuvent s'aceroître vers l'extérieure, mais le tissu en s'augmentant pénètre dans la cavité des vésicules et la remplit hermétiquement. En conséquence de cette pression un fort segment du cercelet pénètre dans la lumière du troisième ventricule au lieu de s'étendre complètement sur les surfaces des portions du cerveau contigues à lui, comme cela se passe chez les requins (Aëriens Kappers). Les artères s'avancent en suivant toujours les épaissements des tissus en train de se former. Dans les premiers stades du développement elles peuvent embrasser toute la surface de la vésicule — (mésencéphale *A. tecti optici*). Dans les phases ultérieures du développement, durant lesquelles se forment les amas du tissu nerveux, qui sont plus forts particulièrement dans la partie de la base des vésicules, les artères alimentaires croissent en s'enfonçant dans l'intérieur du cerveau et depuis là elles se ramifient vers la surface. La situation de nouvelles artères est probablement plus profitable sous le rapport hydrodynamique, parce que dans la position centrale les artères se développent d'une manière de plus en plus puissante, tandis que les superficielles disparaissent.

Le nombre et l'arrangement des artères, qui pénètrent dans les segments respectifs du cerveau dépendent de leur formes; tandis que leurs dimensions de la grandeur du segment, qu'elles alimentent. Le télencéphale et le myélencéphale ont une forme allongée et reposent au moyen de leur base entière sur les artères allongées du cerveau. Les artères alimentaires (*Aa. prosencephali centr.*, *rhombencephali centr.*) apparaissent au nombre de quelques à plusieurs, rangées en files les unes après les autres. Le mésencéphale possède uniquement deux paires d'artères alimentaires,

ce qui est en accord avec la forme sphérique de cette portion du cerveau, appuyée sur la petite étendue des artères allongées. Sur le cervelet formé en plis passent du bas seulement deux artères. Ces vaisseaux enfoncés dans les tissus du cervelet augmentent considérablement de longueur, au fur et à mesure que le pli transversal du tissu nerveux s'allonge en forme de corpus cylindrique du cervelet.

Les veines du cervelet se transforment pendant le développement aussi profondément. Le cervelet formé en plis possède des veines propres à son caractère — *V. cerebelli primitiva*. Le cervelet cylindrique des alevins plus âgés s'incorpore toujours avec plus de précision dans le système de *V. cerebri post.*, à mesure que le corpus avance dans la région de cette veine. En même temps la veine primitive se trouve en voie de régression.

Migrations des vaisseaux

Pendant le développement du cerveau les vaisseaux changent souvent leur position par rapport aux organes contigus. La question des migrations des vaisseaux est un vieux problème, qui a été l'objet de beaucoup de discussions. Relativement à la détermination de la manière du développement des troncs artériels du réseau on mentionne la migration active ou passive. La migration active se présente quand le courant sanguin développe dans le réseau vasculaire un nouveau conduit, tandis que le vieux remplacé par le précédent s'amincit et disparaît. La migration passive des vaisseaux s'appuie sur le changement de la position du vaisseau prêt, sans qu'il se créent de nouveaux tubes conduisant le sang.

V. cerebri media accomplit une très simple migration pendant son développement. Chez les individus adultes il se compose de deux branches (*Ramus anterior* et *posterior*) qui courent le long du bord du mésencéphale, l'une branche du télencéphale en arrière, la seconde du myélocéphale à la partie antérieure. Rangées à peu près horizontalement elles se joignent en formant un tronc impair, à l'angle qui répond à 180° environ. Chez les jeunes alevins au mésencéphale presque sphérique les deux branches se trouvent l'une par rapport à l'autre à peu près à l'angle de 90° . En même temps le *Ramus anterior* reste horizontal et le *Ramus*

posterior prend en conformité avec lui une position presque verticale (Fig. 3, 9 Ra, Rp). Au fur et à mesure de l'accroissement du mésencéphale les deux branches se bifurquent de plus en plus, comme les marges d'un éventail, enfin chez les adultes elles occupent une position horizontale. Les deux veines sont unies avec les bords du tissu cérébral et quand le mésencéphale change de forme, ces bords transportent chacun sur soi les deux vaisseaux et les placent dans une nouvelle position.

Une autre migration accomplit *V. cerebri anterior*. Ce tronc depuis le commencement de son existence — quoique n'ayant encore le caractère d'un produit uniforme — s'unit au moyen de son extrémité distale avec vaisseaux de l'épaississement terminal de la glande pinéale et avec sa gaine formée par *Saccus dorsalis*. Cette jonction se maintient durant tout le stade du développement. Donc quand la glande pinéale croît en se dirigeant vers le haut, elle entraîne derrière lui les veines. Dans les stades qui viennent plus tard, le sommet de la glande pinéale s'incline vers le devant et s'avancant au-dessus des hémisphères cérébraux il les couvre. *V. cerebri ant.* (Fig. 3, 9, Vca) accompagne fidèlement la glande pinéale et longe la paroi latérale du télencéphale. Elle quitte sa position primitive dans le sillon entre le tél- et mésencéphale et s'établit définitivement dans la moitié à peu près de la longueur des hémisphères cérébraux. Dans ce cas la glande pinéale déplace la veine et l'entraîne derrière lui sur une vaste étendue, en l'arrachant par force de sa position primitive. Le tissu graisseux, qui forme la dure-mère, joue un certain rôle dans ce processus, puisqu'il repousse les veines de la paroi du cerveau et les fait avancer plus près du crâne.

Le troisième exemple tout à fait différent de la migration des veines seraient les *Vv. cerebelli* en voie de formation. Le corpus du cervelet émergeant entre le més- et myélocéphale rencontre les branches de *V. cerebri post.* unies avec les veines du *Tectum opticum*. Le cervelet en s'accroissant en arrière les allonge proportionnellement à ses dimensions, puis les incorpore à son système vasculaire. *Vv. cerebelli* dérivent des branches de la *V. cerebri post.* par un fort développement de ces dernières. Comme stimulant de cette croissance il faut accepter l'action mécanique de la pression du cervelet en train de se former. Dans les stades subséquents le tissu graisseux de la dure-mère en s'accroissant

agit accessoirement au moyen de la pression; les tissus ci-dessus écartent les veines du cerveau vers le dessous de la voûte du crâne (Fig. 6, 7, 8 Vcb, Vcp).

Les grandes artères du cerveau de la truite *A. cerebri post.* et *ant.* sont sujettes aux migrations passives. Primitivement *A. cerebri post.* passe sur la surface ventrale de la vésicule cérébrale antérieure non différenciée et *A. cerebri ant.* sur la paroi latérale à travers le segment, qui se trouve le plus en avant. Dans ce stade du développement la vésicule cérébrale antérieure occupe une situation, qui lui permet de pénétrer sous le mésencéphale et de se dresser par rapport à lui à l'angle droit. Pendant le développement subséquent le cerveau de la truite se redresse de cette manière, que la vésicule antérieure — actuellement tél- et diencéphale — se retire du dessous du mésencéphale et se range au devant de lui sur la ligne de son niveau. En conséquence de ces translocations de différents segments du cerveau par rapport des uns aux autres, *A. cerebri post.* se sépare par degrés de la base du mésencéphale, qui tend à se redresser. Son segment antérieur se maintient finalement à la limite de l'hypophyse et de la racine du nerf optique, c'est-à-dire au-dessous du mésencéphale, dans les limites des appendices du diencéphale comprimés sous lui. L'artère reste en place et seulement certains segments du cerveau s'éloignent d'elle (Fig. 1, 3, 9 Acp, Aca).

D'une autre façon se déplace *A. cerebri ant.* Primitivement elle passe sur la paroi latérale du télencéphale. On peut admettre que ses deux points sont fixés, à voir: le point de la ramification de l'*A. cerebri post.* et la place où s'attache *A. tecti optici* dans le sillon entre le tél- et mésencéphale. Entre ces deux points passe primitivement *A. cerebri ant.* en forme d'arc, qui parcourt la paroi latérale de la vésicule cérébrale antérieure. Pendant le redressement du cerveau *A. tecti optici* ne quitte pas son sillon; elle entretient ici son artère maternelle dans la situation primitive. *A. cerebri posterior* en perdant son contact avec télencéphale entraîne à sa suite *A. cerebri ant.*, qui descend le long de la paroi latérale de la vésicule cérébrale sur la base. Ici elle s'établira d'une manière permanente entre le point d'émergence de *A. tecti optici* (en ce stade déjà — *A. epiphysealis*) et le début de *A. cerebri post.*, c'est-à-dire entre la racine du nerf optique et la frontière postérieure des hémisphères (Fig. 1, 2, 9 Aca). Ce

serait en ce cas la migration de l'artère le long d'une certaine partie du cerveau, qui ressemble à la façon de la migration de *A. cerebri ant.* le long des hémisphères cérébraux.

Les deux *Aa. cerebri ant.* en descendant passivement vers la base du cerveau, s'approchent de très près l'une de l'autre. Leurs branches antérieures parcourant le dessous des hémisphères cérébraux s'unissent en un tronc impair (*A. prosencephali basilaris*) sur un espace plus ou moins long. Chez les individus adultes apparaît dans le long sillon de la base un tronc artériel ou deux unis par des anastomoses, ou enfin deux troncs indépendants, dont le diamètre de l'un est beaucoup plus grand que celui de l'autre. Les images rappellent les relations observées pendant la formation des veines impaires dans la tache embryonnaire du poulet (Grodziński). On a affirmé à cette occasion, que *V. vitellina ant.* peut naître de la veine droite ou gauche, ou que les segments de deux troncs paires peuvent entrer dans le tronc de la veine impaire. Les veines ou leurs segments qui n'ont servi à aucun usage, sont semblables aux autres vaisseaux de cette région à ce point, qu'on ne peut plus les discerner. *A. prosencephali basilaris* a pu se constituer en même manière chez les différents individus. Cependant le processus relatif à la formation du tronc impair n'atteint pas souvent son point ultime et dans la majorité de cas on peut retrouver dans les préparations injectées de couleur chez la truite adulte les deux troncs de dimension égale ou différente. Les phénomènes, qui se produisent pendant ces transformations, peuvent être élucidés par l'opinion de la migration des vaisseaux. Du moment que les branches antérieures de *A. cerebri ant.* joindront les courtes anastomoses, le courant sanguin décide, quelles artères ou leurs segments vont garder le rôle de troncs cardinaux, c'est-à-dire quel déplacement actif des vaisseaux s'effectue ainsi.

Aa. mesencephali centrales prennent naissance en forme de deux artères, complètement indépendantes l'une de l'autre. Dans les stades postérieures (St. IV) elles constituent un tronc impair dans leur segment, qui perce la base du mésencéphale. Evidemment la migration des vaisseaux apparaît même ici, mais on manque de données permettant une analyse plus étroite de ce phénomène.

Les vaisseaux artériels cardinaux apportant le sang au cerveau, *Aortae laterales* et *Aa. carotides internae*, se déplacent aussi sur la base du crâne (St. IV) en se transportant de l'extérieur à la ligne médiane. En même temps leurs portions terminales s'unissent en un tronc impair (St. V), qui désigné par le nom de *A. encephalica* entre par un orifice impair dans la boîte craniale. Parce qu'après un très court trajet elle se sépare sur le cerveau en vaisseaux d'abord pairs, on peut admettre l'hypothèse ayant une certaine dose de vraisemblance, que la base du crâne en train de se former a poussé contre eux, la droite et la gauche artère chargées d'alimenter le cerveau de sang et qu'elle les a amenées à la jonction en un tronc impair. Le déplacement des artères sur la base du crâne est une migration passive, la formation d'un tronc impair de ses deux troncs — la migration active.

Des observations de Goodrich et de Beer il résulte, que *Trabeculae cranii* ensemble avec l'antérieure partie de *Prae-chordalia* forment un anneau cartilagineux dans la base du crâne à travers duquel pénètrent sur le cerveau *Aa. carotides int.* Malgré que l'espace délimité par ces cartilages reste encore spacieux les artères sont déjà jointes. On devrait admettre que pas les cartilages poussent les artères mais les amas de cellules mésenchymatiques qui le précèdent dans le développement.

Chez l'homme le labyrinthe joue un rôle important dans la migration des veines cérébrales (Streeter). A savoir que la veine *V. capitis prima* court ventralement au labyrinthe et qu'avec lui s'unit l'écheveau de vaisseaux étendus sur le cerveau. Quand le limaçon se développe ainsi que les parties constitutives de l'oreille moyenne, *V. capitis prima* — en se soumettant à leur pression mécanique — commence à disparaître. Comme vaisseau remplaçant, le *Sinus transversus* naît dans le réseau vasculaire, au-dessus de la vésicule auditive. Chez la truite les relations se façonnent d'une manière tout à fait différente. Le labyrinthe reste constamment dans le voisinage immédiat du cerveau, il n'est pas séparé de lui par la paroi du crâne. L'oreille moyenne et le limaçon n'existent pas chez la truite. De forts canaux semicirculaires se développent dans la partie dorsale de la vésicule auditive, alors dans la région inverse à la veine principale de la tête. Le bord abdominal du labyrinthe

s'appuie contre la veine uniquement dans les premiers stades du développement, plus tard le cartilage sépare les deux produits. Grâce à ces conditions anatomo-topographiques la disparition des uns segments veineux de *V. cardinalis* n'arrive pas, ainsi que la formation des autres ne s'effectue pas dans les limites du labyrinthe.

Résumé

On a injecté les vaisseaux de la truite de 9—14 mm longue avec de l'encre de Chine. Après avoir rendu transparent les préparations dans l'huile de cèdre, on les a examinés sous la loupe binoculaire.

On a décrit le développement des vaisseaux des vésicules cérébrales respectives, en appelant l'attention sur le système vasculaire des individus adultes, sur la structure du cerveau dans le stade donné, ainsi que sur le mécanisme du développement des vaisseaux.

Le réseau vasculaire surgissant sur les parois suffisamment épaisses des vésicules cérébrales, constitue le matériel d'issue dans la formation des troncs artériels et veineux.

Primitivement il existe sur la surface des vésicules cérébrales un système artéro-veineux. Secondairement ce système artériel apparaît dans l'intérieur des vésicules au fur et à mesure de l'épaississement des parois. Parallèlement à ce processus le système extérieur devient proprement veineux.

Les troncs vasculaires changent souvent leur position par rapport à leur entourage. Les migrations peuvent se faire passivement: 1. par le décalage le long de la surface d'un certain segment cérébral — *V. cerebri ant.*, *A. cerebri ant.* 2. par l'écartement du vaisseau de la vésicule cérébrale — *A. cerebri post.* 3. par l'extension du vaisseau sur le segment du cerveau en voie de croissance — *V. cerebelli*, 4. par l'inflexion du vaisseau uni avec le tissu de ce segment, qui justement vient de changer sa forme — *V. cerebri media*.

La migration active des vaisseaux arrive en cas de la formation des troncs impairs — *A. proencephali basilaris* de deux branches paires et probablement dans les conditions semblables en cas de l' *A. mesencephali centr.* et *A. encephalica*.

Institut d'anatomie comparée. Université des Jagellons, Kraków.

Bibliographie

- 1) Anthony R., Recherches sur le développement de la circulation chez épineche (*Gasterosteus gymmnurus* Cuv.). Arch. Zool. Exp. Génér. 57. 1918. — 2) de Beer G. R., The development of the vertebrate skull. Oxford 1937. — 3) Dohrn A., Studien zur Urgeschichte des Wirbeltierkörpers. XI. Spritzlochkieme der Selachier, Kiemendeckelkieme der Ganoiden, Pseudobranchie der Teleosteer. Mitt. Zool. St. Neapel 7. 1886. — 4) Evans H. M., On the earliest blood vessels in the anterior limb buds of birds and their relation to the primary subclavian artery. A. J. Anat. 9. 1909. — 5) Figge F. H. J., Blood vascular reactions to O₂ and CO₂ as a factor in morphogenesis. Anat. Rec. 58. Supl. 1934. — 6) Gelderen Ch., Die Morphologie der Sinus durae matris. I. Die vergleichende Ontogenie der neurokraniellen Venen der Anamnier und Reptilien. Z. ges. Anat. I. 73. 1924. — 7) Gelderen Ch., III. Vergleichendes, ergänzendes, phyletisches und zusammenfassendes über die neurokraniellen Venen der Vertebraten. Zeitschr. Anat. Ent. Gesch. 75. 1925. — 8) Goodrich E. S., Studies on the structure and development of vertebrates. London 1930. — 9) Grochmalicki J., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Gefäßsystems bei den Knochenfischen. Bul. Acad. Sc. Cracovie 1910. Verh. I. Zool. Kongr. 1912. — 10) Grodziński Z., Die Blutgefässentwicklung bei der Natter *Tropidonotus natrix* L. Mém. Acad. Sc. Cracovie Nr. 1. 1928. — 11) Grodziński Z., Die Blutgefässentwicklung in der Brustflosse der Gattung *Salmo*. Bul. Acad. Sc. Cracovie 1931. — 12) Grodziński Z., Vergleichende Entwicklungsgeschichte und Anatomie der axialen Blutgefäße in den vorderen Extremitäten der Wirbeltiere. ibidem. 1933. — 13) Grodziński Z., Die Entwicklung der Venen in der Keimscheibe des Hühnchens. ibidem 1935. — 14) Grodziński Z., Das Blutgefäßsystem der Fische. Bronn's Klassen u. Ordnung. Fische Bd. 6. 1938. — 15) Grodziński Z., The blood vessels of the brain in the rainbow trout *Salmo irideus* Gibb., Bul. Acad. Cracovie 1946. — 16) Hoyer H. & Michalski L., Das Lymphgefäßsystem von Forellenembryonen nebst Bemerkungen über die Verteilung der Blutgefäße. Morph. Jahrb. 51. 1920. — 17) Kindred J. E., The chondrocranium of *Syngnathus fuscus*. J. Morph. 5. 1921. — 18) Léréboullet. Recherches sur le développement de la truite. Ann. Sc. Nat. Zool. 16. 1861. Mém. Sav. Etr. Sc. 1862. — 19) McClure C. F. W., The development of the lymphatic system in fishes with special reference to its development in the trout. Mem. Wistar Instit. 1915. — 20) Minot C. S., On a hitherto unrecognized form of the blood circulation without capillaries in the organs of vertebrates. Proc. Boston Soc. Nat. Hist. 29. 1900. — 21) Moore J. S., The growth of the vascular system as it is correlated with the development of function in the embryos of *Abystoma*. Anat. Rec. 9. 1915. — 22) Sabin F. R., Origin and development of the primitive vessels of the chick and of the pig. Contrib. Embryol. Nr. 226. 1917. — 23) Senior H. D., The development of the heart in shad *Alosa sapidissima* Wil. (With a note on the classification of Teleostean embryos from the morphological standpoint). A. J. Anat. 9. 1909. — 24) Scheerer E. M.

Studies on the embryology of circulation in fishes. 2. Development of the arteries. A. J. Anat. 46. 1930. — 26) Sobotta J., Über die Entwicklung des Blutes, des Herzens und der grossen Gefässstämme der Salmoniden, nebst Mitteilungen über die Ausbildung der Herzform. Anat. Heft. 19. 1902. — 27) Streeter G. L., The developmental alterations in the vascular system of the brain of the human embryo. Contr. Embryol. 1918. — 28) Thoma R., Untersuchungen über die Histogenese und Histomechanik des Gefässsystems. Stuttgart 1893. — 29) Vogt C., Embryologie des Salmones. Neufchatel 1842.

Explication des figures

Les contours du cerveau et des vaisseaux ont été dessinés à l'aide d'un appareil Abbé des préparations de *Salmo irideus* Gibb. avec les vaisseaux injectés de l'encre de Chine et rendus transparent dans l'huile de cèdre. Un trait ajouté à chaque figure montre l'agrandissement linéaire de la préparation. Les artères sont transversalement végées, les veines pointillées.

Les abréviations:

A	— Atrium	Msp	— Medulla spinalis
Aa	— A auditiva	Ol	— L'organe de l'olfaction
Ab	— „ basialis	Op	— Le globe oculaire
Abr	— „ branchialis	Os	— La bouche
Acc	— „ cerebelli centralis	P	— Pinna
Acp	— „ cerebri posterior	Pr	— Prosencephalon
Ae	— „ epiphysealis	R	— Renes
Aen	— „ encephalica	Ra	— Ramus ant. (V. cerebri media)
Ahi	— „ hyoidea	Rp	— „ posterior
Al	— Aorta lateralis	Svi	— Saccus vitellinus
Am	— „ medialis	T	— Truncus arteriosus
Amc	— A. mesencephali centralis	Tld	— Tractus longitudinalis dors.
Amd	— „ mandibularis	V	— Ventriculus
Aor	— „ orbitonasalis	Va	— V. auditiva
Apb	— „ prosencephali basilaris	Vb	— „ bulbi
Apc	— „ „ centralis	Vca	— „ cerebri ant.
Arc	— „ rhombencephali centralis	Vcb	— „ cerebelli
Asd	— „ segmentalis dorsalis	Vcd	— „ cardinalis anterior
Asl	— „ „ lateralis	Vcm	— „ cerebri media
Ato	— „ tecti optici	Vpc	— „ „ posterior
Ca	— Capsula auditiva	Vo	— „ optica
Cb	— Cerebellum	Vor	— „ orbito-nasalis
Co	— Cor	Vpc	— „ primitiva cerebelli
De	— Ductus Cuvieri	Vsd	— „ segmentalis dorsalis
Dn	— Diencephalon	Vsl	— „ „ lateralis
Ep	— Epiphysis	Vtm	— „ tecti media
Mo	— Medulla oblongata	Vvi	— „ vitellina
Ms	— Mesencephalon		

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—10 B I, 1946.

- Szymkiewicz D.**: Cinquième contribution statistique à la géographie floristique.
- Krzemieniewska H. and Krzemieniewski S.**: Myxobacteria of the species *Chondromyces Berkeley* and *Curtis* (Plate 1).
- Szymkiewicz D.**: Sixième contribution statistique à la géographie floristique.
- Szymkiewicz D.**: Études phytogéographiques. I. Flores arctiques.
- Pawłowski B.**: Caractéristique géobotanique générale des Monts de Czywczyn (Planches 2—5).
- Kozłowska A.**: The changes caused by ammonium molybdate and virus diseases of plants.
- Środoń A.**: The upper limit of forest in the Czarnohora Mountains and the Czywczyn Mountains (*Eastern Carpathians*) (Plates 6—15).

N° 1—10 B II, 1946.

- Grodziński Z.** The main vessels of the brain in Rainbow trout (*Salmo irideus* Gibb.).
- Grodziński Z.** The blood-vessels in the brain of Elasmobranches.
- Grodziński Z.** Influence of the increase in the osmotic pressure upon the white yolk spheres of the hen's egg (Plate 1).
- Wojtusiak R. J., Wojtusiak H. and Ferens B.** Homing experiments on birds. VI. Investigations on the tree and house sparrows (*Passer arbo-reus* Bewick and *P. domesticus* L.).
- Marchlewski T.** Studies on the evolution of dominance in Mammals.
- Pigoń A.** On the pellicle of *Euglena viridis* Ehrbg. (Plate 2).
- Wilburg J.** A study of the mineral structure of incinerated kidneys in the white mouse (Plates 3—4).
- Wojtusiak R. J. and Ferens B.** Homing experiments on Birds. VII. — Further Investigations on the Velocity of Swallows (*Hirundo rustica* L.) and on the Role of Memory in their Orientation in space.
- Wojtusiak R. J. and Ferens B.** Homing experiments on birds. VIII. — Observations on the nest, the age and the faculty of orientation in space of chimney swallows (*Hirundo rustica* L.).
- Grodziński Z.** The digestion of the yolk of the hen's egg (Plates 5—8).
- Rymar J.** Experiments about the changes in colouring of the wings of *Lymantria dispar* L. by the method of Zaćwilichowski (Plate 9).

TABLE DES MATIÈRES

Janvier—Octobre 1947.

	Page
T. VETCLANI. Premières observations sur la régénération du Tarpan sylvestre européen dans la forêt vierge de Białowieża	1
Z. MALACZYŃSKA-SUCHCITZ. Glycogen in the tegumental tissues of the crayfish (<i>Potamobius Astacus</i> L.)	23
J. WOJTUSIAK. Investigations on the vision of infra-red in Animals. I. Investigations on water tortoises	43
St. KOZIOL. Vascularisation du labyrinthe de la truite arc-en-ciel (<i>Salmo irideus</i> Gibb.)	63
A. PIŁOŃ. Some physico-chemical properties of the vacuoles in the macrophages of the frog (<i>Rana esculenta</i> L.)	75
Z. GRODZIŃSKI. Le développement des vaisseaux sanguins dans le cerveau de la truite arc-en-ciel (<i>Salmo irideus</i> Gibb.)	99

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

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

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

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