

1
R454
SIN

Tome 70

Fascicule 2 (Nos 10-24)

Juillet 1963

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER

Conservateur des invertébrés

Ce fascicule renferme les travaux présentés à l'Assemblée générale de la Société suisse de Zoologie tenue à Genève les 30 et 31 mars 1963.

GENÈVE

IMPRIMERIE ALBERT KUNDIG

1963



REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 70. En cours de publication.

	Pages
N° 1. Jacques DE BEAUMONT. Les Ammophiles paléarctiques du groupe de <i>nasuta</i> . (<i>Hym. Sphecid.</i>). Avec 65 figures dans le texte	1
N° 2. Bernd HÖRNING. Zur Kenntnis der Endoparasitenfauna des Eichhörnchens (<i>Sciurus vulgaris</i>) in der Schweiz. Mit 1 Textabbildung	25
N° 3. J. L. PERRET. Les <i>Gekkonidae</i> du Cameroun, avec la description de deux sous-espèces nouvelles. Avec 5 figures dans le texte	47
N° 4. Hans-Rudolph HAEFELFINGER. Remarques biologiques et systématiques au sujet de quelques <i>Tritoniidae</i> de la Méditerranée (<i>Moll. Opisthobranchia</i>). Avec 11 figures dans le texte	61
N° 5. Hermann GISIN. Collemboles d'Europe. V. Avec 20 figures dans le texte.	77
N° 6. Georges DUBOIS. Contribution à l'étude des Trématodes de Chiroptères. Révision du genre <i>Allassogonoporus</i> Olivier 1938 et note additionnelle sur le sous-genre <i>Prosthodendrium</i> Dollfus 1931. Avec 4 figures dans le texte	103
N° 7. G. MERMOD et E. BINDER. Les Types de la Collection Lamarck au Muséum de Genève. Mollusques vivants. V. Avec 34 figures dans le texte	127
N° 8. Robert MATTHEY. Polymorphisme chromosomique intraspécifique chez un Mammifère <i>Leggata minutoides</i> Smith (<i>Rodentia-Muridae</i>). Avec 15 figures dans le texte	173
N° 9. H. SAINT GIRONS et E. KRAMER. Le cycle sexuel chez <i>Vipera berus</i> (L.) en montagne	191
N° 10. L. N. RUBEN. Lucké carcinoma implants in regenerating and regressing urodele limbs. With 4 figures	224
N° 11. M. BALLS. Xenoplastic implantation of amphibian lymphoid tumours. With 5 figures	237
N° 12. J. BOVET. Etude, par l'analyse du contenu de pelotes de Chouette Effraie (<i>Tyto alba</i>), de fluctuations dans les populations de Micromammifères. Avec une tablelle et une figure dans le texte	244
N° 13. A. M. DU BOIS et F. GRIESEN. L'activité athrocytaire chez le fœtus de rat et de cobaye. Avec une planche	249
N° 14. H. R. HAEFELFINGER. Bedarf die marine Fauna der mediterranen Küstzone eines Schutzes?	252
N° 15. P. E. HOWSE. Zur Evolution der Erzeugung von Erschütterungen als Benachrichtigungsmittel bei Termiten. Mit 3 Textabbildungen	258
N° 16. W. HUBER und H. SÄGESSER. Verteilung und Wölbung der Frontalia beim Reh (<i>Capreolus capreolus</i>). Mit 7 Textabbildungen	267

(Voir suite page 3 de la couverture)

Prix de l'abonnement :

Suisse Fr. 75.—

Union postale Fr. 80.—

(en francs suisses)

Les demandes d'abonnement doivent être adressées à la rédaction de la *Revue Suisse de Zoologie*, Muséum d'Histoire naturelle, Genève

COMMUNICATIONS

FAITES A L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE DE LA SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE,
TENUE A GENÈVE LES 30 ET 31 MARS 1963

MITGETEILT AN DER GENERALVERSAMMLUNG DER SCHWEIZERISCHEN
ZOOLOGISCHEN GESELLSCHAFT IN GENÈVE DEN 30. UND 31. MÄRZ 1963

Communications publiées ailleurs :

Werden an anderem Orte veröffentlicht :

- R. Matthey.** Un cas de polymorphisme chromosomique intra-spécifique dans une population du Mammifère *Leggada minutoides* Smith (*Rodentia, Muridae*). Rev. suisse Zool. 70: 173-190.
- A. W. Blackler.** Stérilité spontanée et provoquée chez *Xenopus laevis*.
- J. Aubert.** Observations sur des migrations d'Insectes au col de Bretolet. Bull. Soc. entom. suisse.
- R. Weber.** Verhalten und Kennzeichnung der Kathepsine im Schwanz der Xenopuslarve bei spontaner und induzierter Metamorphose *in vitro*.
- R. Salzmann et R. Weber.** Zur Lokalisation der sauren Phosphatase und der Kathepsine im Schwanz der metamorphosierenden Xenopuslarve.

N^o 10. **L. N. Ruben**, Genève. — Lucké carcinoma implants in regenerating and regressing urodele limbs.¹ (With 4 figures)

Station de Zoologie Expérimentale, Université de Genève,² and Reed College, Portland, Oregon, U.S.A.

INTRODUCTION

I suppose that those of us who work with Amphibian limbs would agree that one of the features of vertebrate regenerating systems that attracted us was the hope that such systems hold for elucidation of the properties inherent in the phenomenon of cellular differentiation. How stabile should we consider the differentiated state of cells to be? We know for instance, that many differentiated cells possess the ability to perform at least one specialization over and above their normal adult speciality; they can become neoplastic. It would be interesting to know if they can, under unique circumstances, also become metaplastic. The question of the stability or plasticity of differentiated cells is, therefore, of interest to students of both normal and abnormal developmental processes. By virtue of its unique nature, the vertebrate limb regenerating system may someday supply us with this kind of information.

It is my purpose here to review attempts on my part to distinguish between what might be called morphological dedifferentiation and cellular or functional dedifferentiation. Because of the broad and varied usage of the term dedifferentiation in the literature, it is always necessary to define what one means by the term. By morphological dedifferentiation, I mean change in the observable

¹ Experiments reported herein were supported in part by Fellowships (C — 4167) and grants (C — 2913) from the National Cancer Institute of the National Institute of Health, Bethesda, Maryland, U.S.A.

² The author wishes to express his sincere appreciation to Professor M. Fischberg for offering the hospitality and facilities of his laboratory so that this work may be extended. He is further indebted to his colleague M. Balls, for the many stimulating discussions which grew out of his review both of this manuscript and the work presently being performed to extend it.

characteristics of cells such that their organization as tissues is lost. Further, the identity of their tissue of origin is no longer discernible. Nothing is said of cellular potency. Perhaps, dissociation or dissaggregation would be appropriate terms here. The term modulation is sometimes used for a similar sequence of events in tissue culture work, but, to me at least, the term modulation seems to have implicit within it, the notion of potential constancy. Cellular or functional dedifferentiation, on the other hand, would entail a possible consequence of morphological dedifferentiation such that a change in potency would occur whereby cells would be able to gain one or more new potencies from which they were restricted during progressive differentiation, i.e. a return to a pluripotent condition followed by metaplasia or redifferentiation along a new path. The most controversial aspects of limb regeneration studies have all centered on this particular issue. The reasons for conflict are apparent when one considers that after limb amputation a blastema is established through the aggregation and proliferation of cells which have come from a variety of stump tissues. These cells which will reform the portion of the limb which has been removed all look essentially alike. Therefore, since it has not yet been possible to follow the fate of individual cells as they leave their tissue of origin and later differentiate into a tissue of the regenerate, information on this subject has been drawn largely from indirect evidence. At the moment, I favor a view on blastemal cell potency which was originally expressed by HOLTZER, AVERY and HOLTZER (1954) and which appears to be supported by much of my own work dealing with the induction of accessory limbs in urodeles by foreign implants (RUBEN, 1960, 1963). It seems likely that the cells of the limb blastema have for their primary function the production of skeletal material. If an insufficient amount of regeneration occurs, skeleton is preferentially formed. This occurs regardless of whether the blastema has been established from cells which have come from only soft mesodermal components of the limb, e.g. muscle and connective tissue, or from a cellular population which includes limb skeleton in its tissues of origin. This suggests then a limited metaplasia such that cells which come from non-skeletal mesenchymally derived tissue may form skeleton following morphological dedifferentiation. Whether former skeletal cells can form anything but

skeleton in the regenerate is not as yet known. WILLIS (1953), in discussing the intermutability of mesenchymal cells in pathological situations, however, has pointed out that "the reverse transformation, of osteoblast to fibroblast, is a frequent one, displayed in many familiar lesions in which the fibrous replacement of bone takes place, as in the various types of osteitis fibrosa. In these lesions, the fibrous replacement is not effected by the proliferation of pre-existing fibroblasts to fill gaps left by departed bone cells, but by a progressive transformation of bone cells into fibrocytes". A variety of tumorous and non-tumorous pathological conditions are known which involve the more usual transformation of fibroblast to skeleton in heterotopic regions.

One aspect of the experimental approach I shall describe in a moment then, was that it represented an attempt to supply biologically marked cells to a blastema so that one might have the possibility of observing metaplasia directly.

The other aspect had to do with the issue of what effect a post-embryonic morphogenetic system might have on a cancer growing in close association with it. This approach was suggested by a hypothesis dealing with the genesis of cancer, expounded by Joseph NEEDHAM (1942) which stated that cancerous growths represent morphological escapes from weak or absent individuation fields. He defined an individuation field as a region which causes all the cells within it to form a whole; a whole organism or a whole part of an organism, e.g. an organ. His hypothesis was based upon the observation that mammals, which cannot normally regenerate lost parts, are apparently more susceptible to spontaneous and experimental cancers than are the lower vertebrates which retain the ability to regenerate. NEEDHAM's suggestion was then, that the ability to regenerate is an expression of the persistence of individuation fields in the differentiated organism and that such persistence acts as a deterrent to cancer formation. He further suggested that cancer be applied to a strong individuation field in order to test whether the field could "master" the cancer and cause it to form structures normal to that field. Such regulation of a cancer might occur in two ways. First, the possibility exists that the cancer cells might be like embryonic cells in possessing an array of potentialities, which are realized only upon exposure to some strong director, the individuation field.

On the other hand, since cancer cells are probably in at least a partially differentiated state and as such may be as limited in competence as any other specialized cell type, cellular dedifferentiation to some pluripotent condition would become a prerequisite to their transformation.

EXPERIMENTATION

The first regenerating system utilized in my research was that of the larval urodele limb, which I felt would supply a stronger individuation field than its adult counterpart. Two host species were used, *Amblystoma opacum* and *Amblystoma maculatum*, and the donor tissue was the renal adenocarcinoma of *Rana pipiens* which has been described in detail by BALDUIN LUCKE (1934). One can distinguish frog donor cells from salamander host cells by their size, since the frog cells are smaller and by their differential affinity for haematoxylin; frog nuclei are more lightly stained.

The first series of my experiments tested the effect of implantation upon the cancerous epithelial structures of the implant. All implants were made subcutaneously on the dorsal forelimb surface between elbow and wrist. The results showed that over a 64 day experimental period, these epithelial elements were unaffected by the foreign environment of the *non-regenerating larval limb*.

A second series was run having the same aim as the first, however, the antihistamine, Pyribenzamine, was omitted from the operative procedure. ROSE and ROSE (1952) had found that the carcinoma implants would "take" in adult urodele limbs when the hosts were exposed to this antihistamine for a short period prior to implantation but that when the Pyribenzamine was omitted, the implants quickly degenerated. The antihistamine served to diminish the initial responses on the part of the host to incompatible donor tissue. It was found, that when these larvae are used as hosts, the Pyribenzamine was unnecessary, since the epithelial elements of the implants maintained their typical morphology throughout the 64 day experimental period, again in a *non-regenerating limb environment*.

The third larval series, dealing with the major problem I have outlined, entailed implanting this carcinoma, using Pyribenzamine, allowing two weeks to make sure that the implant had established

itself, amputating the limb through the donor material and looking for any morphological responses on the part of the carcinoma to the various phases of regeneration which had been slowed down by the use of low temperatures ($14^{\circ}\text{C} \pm 2$). That portion of the limb which was removed by initial amputation through the implant was used as a biopsy to study the condition of the implant tissue prior to its exposure to the regenerative processes. Regeneration of the host limbs was normal in all cases. That the implants remained unaffected by the regenerating system adjacent to it indicated that individuation field strength bears no relationship to the maintenance of the cancerous condition. In the light of this evidence, it seemed unlikely that the carcinoma cells are pluripotent in the sense of embryonic or cellularly dedifferentiated tissue. This cancerous condition then would appear to represent a differentiated state with respect to this characteristic of competence to react to individuating influences of limb morphogenesis. Assimilation was not achieved by the limb field (RUBEN, 1955).

A study by GOODWIN (1946) on the regeneration of various age groups of urodela had indicated that larval limbs have less completely differentiated tissues than adults and therefore are able to establish a blastema with greater facility. The level of tissue differentiation then would establish the ease or difficulty in forming a blastema, or to put it another way, the level of differentiation determines the degree of dedifferentiation (at the tissue level at least) necessary before a blastema can be established. Degree of dedifferentiation then becomes a temporal factor. It seemed possible then that an increase in the degree of dedifferentiation to which the cancer was exposed might be useful in achieving the goals of this experimentation. Since the larval experiments demonstrated the unlikelyhood that the cancer cells were themselves pluripotent, if one hoped to demonstrate any developmental effect on the cancer, it would now be necessary to bring about morphological dedifferentiation of the cancerous tissue. To test the possibility that the duration of dedifferentiation within the host limb might be a factor in determining the ability of the regenerating system to alter tissues implanted within it, the carcinoma implants were exposed to three types of experimental situations. Each situation would successively call forth a greater extension of the dedifferentiative phase of regeneration. The three situations

were as follows: 1. The regenerating system in this instance was designated as a "simple" regenerating system; it was produced in adult urodele limbs in response to a single transverse amputation performed in the usual manner at a level which passed through the donor cancer material. 2. Regeneration as it occurred under the second set of experimental conditions was designated as "exarticulate" regeneration; the method entailed amputation at the elbow, removal of the humerus after its exarticulation at the shoulder, and implantation of a piece of the cancer into the space formerly occupied by the humerus in a position just proximal to the level of amputation. The dedifferentiation phase is of greater duration in this type of system than in "simple" regenerating systems. 3. The morphological phenomenon produced in accordance with the third experimental situation involved regression as a result of denervation in one series and excessive x-radiation in another. In the first instance it was induced to occur, by amputation through the donor cancer in larval host limbs, as in the "simple" system, accompanied by complete serial denervation of the limb by resection of the brachial plexus. Larval urodele limbs will regress subsequent to amputation in the absence of peripheral innervation. These implants were exposed to a reversible regressing field; reversible in the sense that after three weekly denervations and some regression, the nerves were allowed to reenter the stump and regeneration proceeded to take place. X-irradiation of amputated larval host limbs prior to cancer implantation producing a totally regressing system was also achieved in a separate experiment.

First, the results using a "simple" regenerating system. The carcinoma implants were made into 70 adult *Triturus viridescens* hosts following the methods used in the earlier larval work. As before, the implants were placed subcutaneously on the dorsal surface of the limbs between the wrist and elbow. Pyribenzamine was used for implant protection and the amputation cleaved the implant material. The experimental period in this work was from 4 to 70 days post-amputation and the temperature was kept at 20° C. The results indicated once again that the *Rana pipiens* renal adenocarcinoma implants were refractory to the influences present in the urodele limb during "simple" regeneration (RUBEN, 1956a).

Since the remaining experiments have up until now been reported only in abstract form (RUBEN, 1956b, 1958) and one will be reported for the first time, I shall present them with accompanying figures.

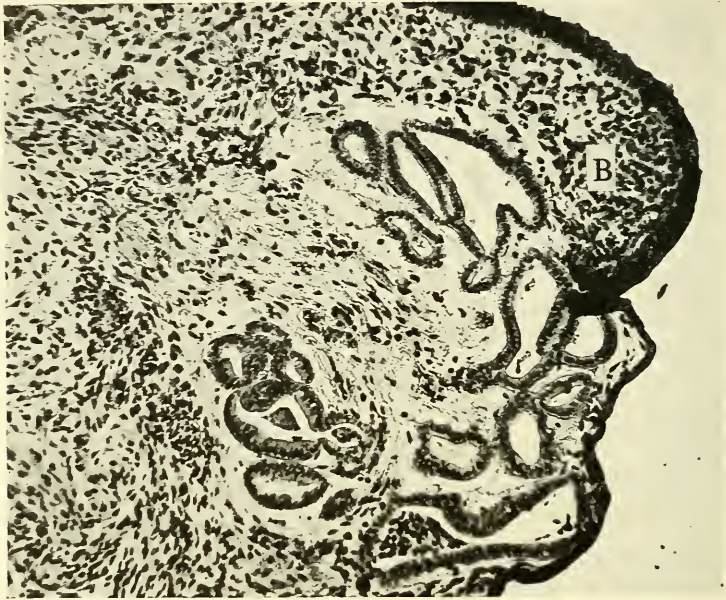


FIG. 1.

Eccentric blastema (B)
from "exarticulate" regenerate with a cancer implant
occupying a central position (28 days post-amputation).
About 80 \times

The dedifferentiation phase in "exarticulate" regenerating systems includes the post-amputation period from about 10 to 25 days at 20° C, as opposed to 7 to 13 days in "simple" regenerating systems at the same temperature. "Exarticulate" regenerating systems were established in both forelimbs of 50 *Triturus viridescens* adults. The carcinoma implants were made proximal to the level of amputation in the right forelimbs only. The left forelimbs, bearing no implants, regenerated slightly more rapidly than did the right. Nevertheless, blastemata formed in both limbs by 30 days and paddle regenerates, with digital indications

were obtained by 45 days post-amputation. It was of interest that the right forelimbs produced eccentrically placed blastemata. Figure 1 illustrates an early blastema (B) which was eccentric. Note that the cancer implant occupied the central region below the wound epithelium which quickly covered the amputation

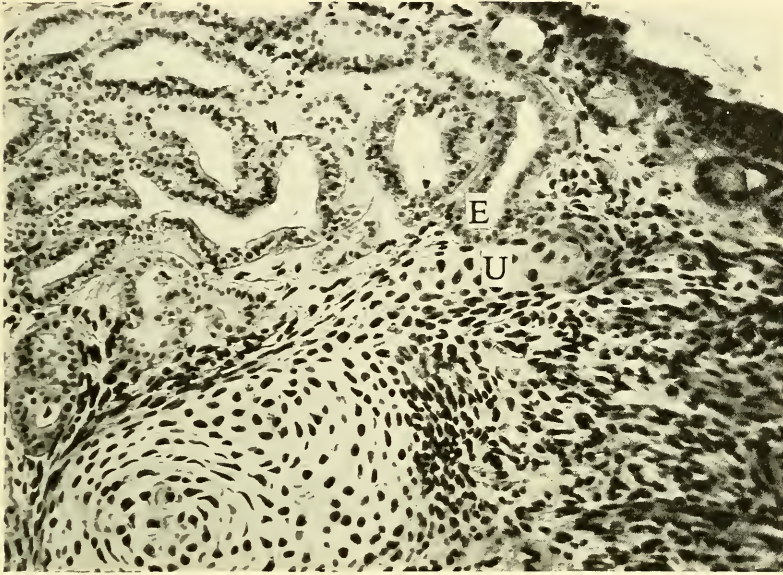


FIG. 2.

Cancer epithelium (E)
in direct contact with redifferentiating ulna (U)
(45 days post-amputation). About 120 \times

surface. As a result of THORNTON'S recent work (1960) which showed that an eccentric apical cap of the wound epithelium will establish an eccentric blastema below it, I can now by use of hindsight suggest that the centrally located implants diverted the nerves which normally enter the wound epithelium to establish the cap. This eccentric cap then may act to dissociate, morphologically dedifferentiate, if you prefer, the stump tissues below it. Following THORNTON'S lead one may further suggest that these dissociated cells then are reaggregated into an accumulation blastema below the eccentric cap. Proliferation within the reaggregated system would then lead to the type of formation

shown in Figure 1. The cancer epithelium, which had been in contact with this morphogenetic activity, remained intact and was apparently unaffected. The stability of the cancer tissue is demonstrated in a particularly striking fashion in Figure 2, which shows cancer epithelium (E) in direct contact with rediffe-

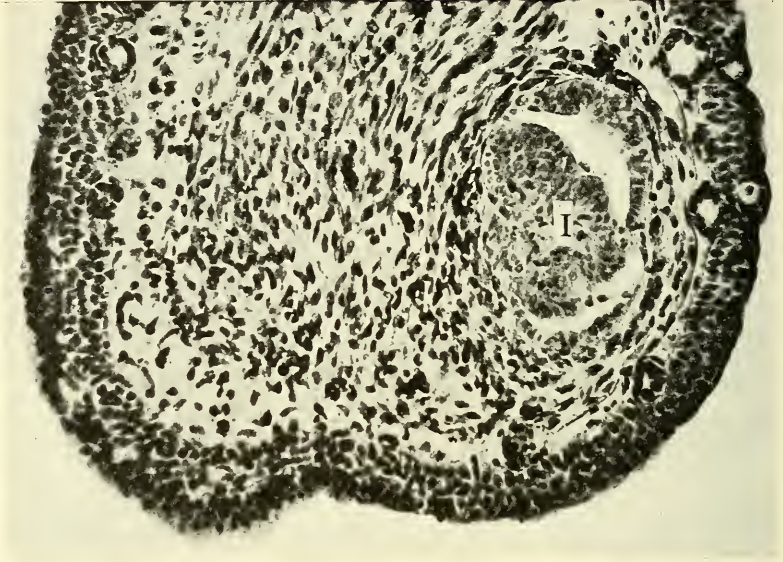


FIG. 3.
Cancer implant (I) after 10 days of regression.
The implant shows a few mitoses and no dispersion
About 100 \times

rentiating ulna (U). Further, it seems obvious that the morphological dedifferentiation which supplied the blastemal components, which in this case had reformed humeral condyles, as well as more distal structures, failed to dissociate the tumor. No dispersed frog cells could be identified in any preparations studied. The limitations of the technique, however, are such that small numbers of individual cancer cells, which fail to seed a new population within the host tissues, might not be discerned. That skeleton-less stump can regenerate a new limb portion which is complete is, I think, further support for the idea that all mesodermally derived limb stump tissues release blastemal cells with

skeletagenous potency. The implant "take" percentage, which in this experiment was 79%, was higher than in larval or adult "simple" regenerating systems where it is usually about 65%. This effect is most likely correlated with the lack of amputation through the implant in the "exarticulate" experiments.

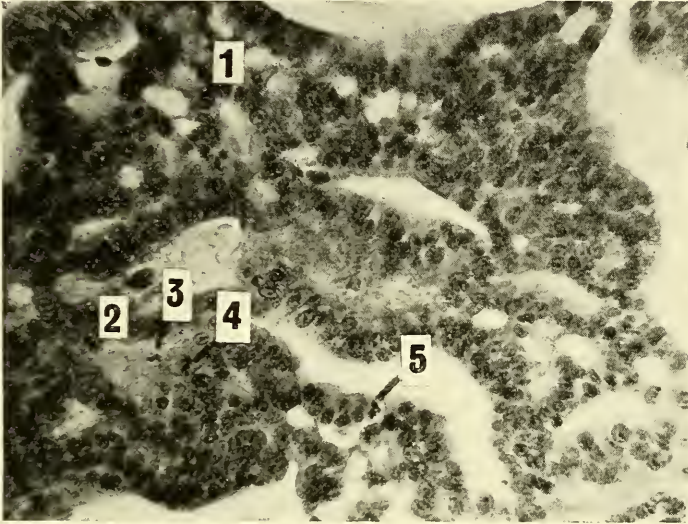


FIG. 4.

Cancer implant which had been exposed to both regression and regeneration (36 days post-amputation). Note the mitoses in the field. About 320 x

Extension of amputated host limb dedifferentiation by brachial plexus resection was produced in 162 larval *Taricha granulosa* and 50 larval *Amblystoma opacum*. The "take" percentage was substantially lower in the denervated groups than in their controls suggesting that perhaps innervation may play a role in transplantation success. Only 27% of the implants in denervated *unamputated* controls survived, as opposed to previous percentages ranging from 65 to 79 percent. Those implants which survived regression and regeneration in the experimental groups exhibited no dispersal of their cellular units and were unaltered by the reversible regression and regeneration occurring about them. Histological

examination of limbs recovered at intervals from zero to 54 days post-implantation indicated that the integrity and stability of the cancerous tissue was maintained (fig. 3). Figure 4 shows an implant which had been exposed to both regression and regeneration. Note that 5 mitotic figures are visible in the field. This mitotic activity is indicative of the "healthy" state of the cancer.

Finally, 25 larval *Amblystoma opacum* received 900r x-irradiation¹ on the forelimbs only and were implanted 12 hours later with unirradiated Lucké carcinoma. The remainder of the body had been protected with a $\frac{3}{4}$ " lead shield. The limbs had all been amputated 6 days prior to irradiation. The implants were all made in the direction of the 6 day irradiated regenerate. X-irradiated limbs of larval urodeles will regress completely to the shoulder if they are amputated either shortly before or subsequent to irradiation. Experimental time was 50 days post-implantation. In all cases, limbs receiving the implant material regressed to a greater extent than the controls. Only one implant was recovered or identified in histological preparations of the implant bearing limbs. This implant though partially necrotic had at least some tubules in the regressing region which were intact. The lack of implant material in all of the other cases may have been due to implant degeneration or implant dissociation. The condition of the one identifiable implant and the absence of dispersed frog calls had suggested that the former was the more likely situation.

DISCUSSION

The results of the experiments described above demonstrate that on the whole, implants of the Lucké tumor proved to be remarkably refractory to the forces at work in the immediate host environment during limb regeneration and regression. It is, of course, possible that this reluctance on the part of the Lucké tumor cells to be affected by urodele limb regeneration may be due either to the fact that they are frog in origin in a salamander host or to the foreign nature of the site, since kidney cells, whether normal or

¹ The author wishes to express his appreciation to Drs. Milton and Selma Hyman, Portland, Oregon, U.S.A. for providing their radiation facilities and their aid. The radiation factors were: Dist. = 21 cm., Time = 54 sec., KV = 220, M.A. 20, no filter, $\frac{1}{2}$ value layer = 5.55 cm., and temp. = 16-18° C.

cancerous, do not usually find themselves as part of a limb system or to both. These results however, are in agreement with those of BREEDIS (1954) who tested an induced urodele limb sarcoma and SHEREMETIEVA-BRUNST (1955) who tested an *Axolotl* melanoma in association with urodele limb regeneration.

These failures to demonstrate positive effects on the cancers thus far tested should not be interpreted as denying the potential value of this unique test system. The use of limbs which retain morphogenetic potential for studies of these kinds provides one, I believe, with a potentially superb opportunity to observe interactions between cancer and morphogenetic processes in already differentiated organisms. Further, BREEDIS (1952) with his results has revealed an unusual demonstration of induction of both normal morphogenesis, in the form of supernumerary limb structures, and transplantable cancer by using the same carcinogenic agent in this system. This suggests to me that a field with morphogenetic potential may be capable of organizing cells in their early stages of response to carcinogens into structures which are quite normal for that field. NEEDHAM (1942), you will remember, had suggested that regenerative power and persistence of controlling pattern were synonymous and that such persistence acts as a deterrent to cancer formation. That BREEDIS induced many more supernumerary limbs than cancers may be indicative of the validity of this part of NEEDHAM's argument. A review of all known occurrences of spontaneous cancers in Amphibia (BALLS, 1962) indicates that no tumors of limb tissues which retain morphogenetic potential have as yet been reported. The second part of NEEDHAM's suggestion as to whether cancer in an advanced state can be so regulated, remains a controversial matter still open to test.

SUMMARY

Experimentation involving the implantation of the renal adenocarcinoma of *Rana pipiens* into close association with a variety of situations involving urodele limb regeneration and regression is discussed with particular emphasis on the significance of the results as they apply to our knowledge of the stability of cellular differentiation and to the morphological escape hypothesis of cancer.

LITERATURE REFERENCES

- BALLS, M. 1962. *Spontaneous neoplasms in Amphibia: A review and descriptions of six new cases*. *Canc. Res.* 22: 1142-1154.
- BREEDIS, C. 1952. *Induction of accessory limbs and of sarcoma in the newt (*Triturus viridescens*) with carcinogenic substances*. *Canc. Res.* 12: 861-866.
- 1954. *Effect of temperature on a neoplasm — regenerate complex in the newt (*Triturus viridescens*)*. *Fed. Proc.* 13: Abstract 1390.
- GOODWIN, P. 1946. *A comparison of regeneration rate and metamorphosis in *Triturus* and *Amblystoma**. *Growth* 10: 75-87.
- HOLTZER, H., AVERY, G. AND HOLTZER, S. 1954. *Some properties of the regenerating limb blastema cells of Salamanders*. *Biol. Bull.* 107: 313.
- LUCKÉ, B. 1934. *A neoplastic disease of the kidney of the Leopard Frog*. *Am. J. Canc.* 20: 352-79.
- NEEDHAM, J. 1942. *Biochemistry and Morphogenesis*. Cambridge Univ. Press, London, England.
- ROSE, S.M. AND ROSE, F.C. 1952. *Tumor agent transformations in Amphibia*. *Canc. Res.* 12: 1-12.
- RUBEN, L. N. 1955. *The effects of implanting anuran cancer into non-regenerating and regenerating larval urodele limbs*. *J. Exp. Zool.* 128: 29-52.
- 1956a. *The effects of implanting anuran cancer into regenerating adult urodele limbs. I. Simple Regenerating Systems*. *J. Morph.* 93: 389-404.
- 1956b. *Anuran cancer implants in urodele "exarticulate" regenerating systems*. *Anat. Rec.* 125: 626-627 (abstr.).
- 1958. *The effect of reversible urodele limb regression upon Lucké carcinoma implants*. *Anat. Rec.* 132: 493-499 (abstr.).
- 1959. *An immunobiological model of implant-induced urodele supernumerary limb formation*. *Amer. Nat.* 94: 427-434.
- and STEVENS, J. 1963. *Post-embryonic induction in urodele limbs*. *J. Morph.* (In Press).
- SHEREMETIEVA-BRUNST, E. A. 1955. *Studies on the relationship between neoplastic and regenerative growth*. *Proc. of the Amer. Assoc. for Canc. Res.* 2, No. 1, April.
- THORNTON, C. S. 1960. *Influence of an eccentric epidermal cap on limb regeneration in *Amblystoma* larvae*. *Dev. Biol.* 2: 551-569.
- WILLIS, R. A. 1953. *Pathology of Tumors*. The C. V. Mosby Co, St. Louis, Mo. U.S.A.
-

N^o 11. **M. Balls**, Genève. — Xenoplastic implantation of amphibian lymphoid tumours.^{1 2} (With 5 figures.)

Station de Zoologie expérimentale (Université de Genève), Route de Malagnou 154, Genève.

It has recently been found that the anuran amphibian *Xenopus laevis* is susceptible to the formation of spontaneous lymphoid tumours (1) and that similar tumours may be induced using methylcholanthrene (2) or benzpyrene; both spontaneous and induced tumours are readily transplantable (3). When tumour fragments are placed in adult or immature *Xenopus* a heightened homograft reaction occurs, followed by, in a very high percentage of cases (97%), the development of lymphoid tumours at the implantation site and in the visceral organs — particularly the liver, spleen and kidneys. The use of the dorsal lymph sac permits a clear distinction between tumour growth at the implantation site and at a distance.

This article is concerned with some preliminary xenografts between the anuran *Xenopus laevis* and the urodele *Triturus cristatus*, which were carried out to take advantage of the difference in cell size as a means of distinguishing between host and implanted cells (see also (4)).

Tumour ILA (3) was induced by placing methylcholanthrene crystals in arachis oil under the abdominal skin of an adult female *Xenopus*; when the animal was killed 263 days later, lymphoid tumours were found in the liver, spleen and kidneys. Fragments of a liver tumour nodule were implanted into the dorsal lymph sac (DLS) of 6 adult *Xenopus* (Transfer A), all of which gave positive results. Small fragments of a DLS tumour from one of these individuals were placed in the abdominal cavity of four adult *Triturus cristatus* (Transfer B), two of which developed lympho-

¹ This investigation is being supported by the Fonds national suisse pour la recherche scientifique (No. 2219).

² The author is grateful to Professor M. Fischberg for his advice, to Profs. A. W. Blackler and L.N. Ruben for their comments on this article, and to Dr. S. Neukomm for the gift of six newts in mid-winter.

sarcomas of liver composed of newt cells (Fig. 1), which are much larger than those of *Xenopus* and whose nuclei stain differently. Although no spontaneous lymphoid tumours have been reported for *Triturus cristatus* (1), such tumours have been induced in this species by LEONE (5), while INOUE (6) has found a spontaneous lymphosarcoma in the Japanese newt, *Triturus pyrrhogaster*.



FIG. 1.

Liver of *Triturus* (Tr. B No. 4) bearing a lymphoid tumour (T).
L = normal liver tissue containing pigment (P). X 45

In view of the remote possibility that the newt tumours were spontaneous and not connected with the introduction of the *Xenopus* material, fragments of one *Triturus* tumour (derived from Transfer B) were put into the DLS of 6 immature *Xenopus* (Transfer C). All six recipient frogs subsequently developed DLS tumours which invaded the skin and back muscle, as well as lymphosarcomas of liver (Fig. 2) and spleen. Three of these animals also bore tumours of the kidney. Both the DLS and visceral neoplasms were composed of *Xenopus* cells (Fig. 4) and contained no *Triturus* cells. One DLS tumour was transferred into a further

six *Xenopus* (Transfer D), all of which developed invasive tumours in the DLS, liver, spleen and kidneys (Table 1).

Further fragments of the newt liver tumour (Transfer B) used in Transfer C were stored in physiological solution (Niu & Twitty — 1/10) at 4° C for one week and then put into the abdominal cavity

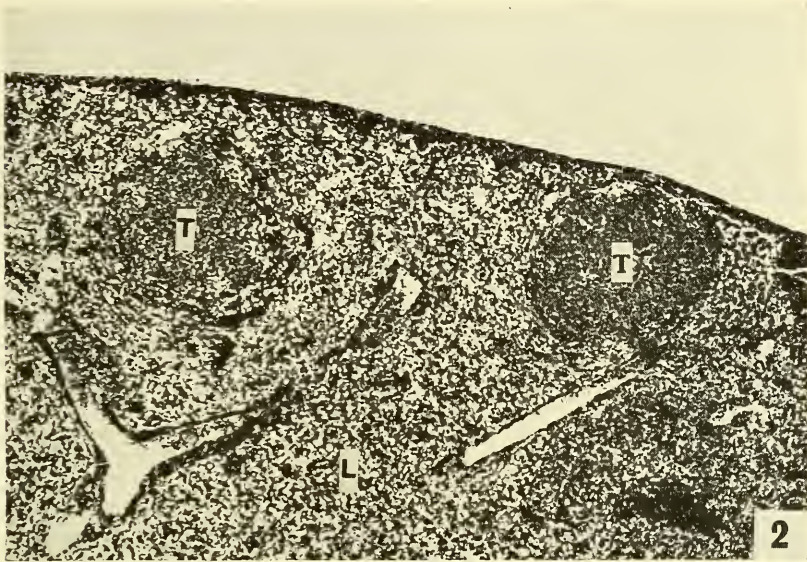


FIG. 2.

Liver (L) of *Xenopus* (Tr. C No. 1) bearing two large lymphoid tumour nodules (T). X 50

of five *Triturus cristatus* (Transfer E). One host died 10 days later when the swelling of the stomach after feeding pushed part of the liver through the wound. The remaining four were killed 55 days after implantation. All four bore lymphoid nodules on the liver, with increased lymphocytic activity in the cortical region and groups of lymphocytes spread throughout the remaining liver tissue. In each case the kidney contained nodules of lymphocytes infiltrating between the primary tubules. In two cases the spleen bore white nodules of lymphocytes, and part of the implanted material had been left in the wound (see also (3)) since both showed body wall muscle invasion, and in one the skin was also involved. All the tumour nodules in each animal were composed of *Triturus* cells.

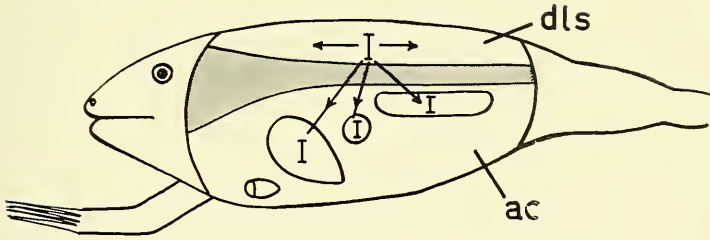
TABLE 1. Results of Xenoplastic Implantations

Tumour	Species	Number of hosts	Tumour from	Tumour to	Days after treatment		Tumour development					Tumour cell type	
					Av.	Range	At site						
							DLS	Skin	Muscle	Liver	Spleen		Kindy
Original induced tumour	<i>Xenopus laevis</i>	1 adult	Methane in oil	—	263	—	—	—	1	1	1	1	<i>Xenopus</i>
Transfer A	<i>Xenopus laevis</i>	6 adult	Original tumour	DLS	130	39-225	6	3	6	2	1	1	<i>Xenopus</i>
Transfer B	<i>Triturus cristatus</i>	4 adult	Transfer A	AC	140	112-157	—	—	—	2	—	—	<i>Triturus</i>
Transfer C	<i>Xenopus laevis</i>	6 imm.	Transfer B	DLS	42	30-48	6	6	5	6	6	3	<i>Xenopus</i>
Transfer D	<i>Xenopus laevis</i>	6 imm.	Transfer C	DLS	21	18-23	6	6	6	6	6	6	<i>Xenopus</i>
Transfer E	<i>Triturus cristatus</i>	5 adult	Transfer B	AC	46	10-55	—	1	2	4	2	4	<i>Triturus</i>

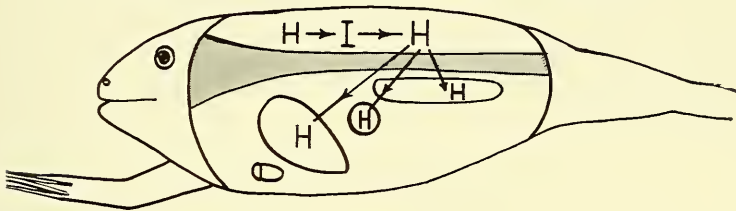
Key: DLS = dorsal lymph sac.
imm = immature host.

AC = abdominal cavity.
Meth. = methylcelanthrene crystals.

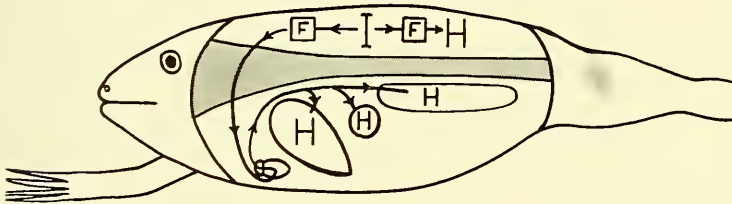
a. CELL TRANSPLANTATION :



b. HOST CELL TRANSFORMATION :



i. at site :



ii. at distance :

FIG. 3.

Theoretical pathways of tumour transfer after dorsal lymph sac implantation. The visceral organs pictured are (from left to right) heart, liver, spleen and kidneys. DLS = dorsal lymph sac, AC = abdominal cavity, I = implant, H = host cells, F = factor.

Theoretically, the transmission of tumours by the transfer of small, cellular fragments could have occurred in two ways (Fig. 3):

- a) *tumour cell transplantation* — the transferred cells themselves multiplied and formed growing neoplasms, cells from which metastasized to other parts of the host.

- b) *host cell transformation* — the transferred cells released a sub-cellular factor which transformed the host cells to make them neoplastic. Since lymphoid cells are circulatory there were two further possibilities with the lymphoid tumours:
- i) *at implantation site* — host cells moved to the implantation site, there became transformed and metastasized to the viscera, while the implant was destroyed and replaced by host cells.
 - ii) *at a distance* — the factor migrated via the blood or lymph systems from implant to viscera, where the host cells were transformed and produced tumours.

POXTÉN has worked on this aspect of tumour transplantation using the sex chromosomes to distinguish between host and implanted cells (7), and has found that, while implanted chicken lymphoid tumour RPL 12 (8) cells grow in the host and metastasize to the viscera (i.e. type a), implanted Rous sarcoma (9) or chicken erythroleukaemia (10) cells disappear, but tumours composed of host cells result (i.e. type b).

The present preliminary series of experiments indicates that the *Xenopus* lymphosarcoma 1LA is transplantable into *Triturus cristatus*, and that the resulting liver tumours readily grow and spread when transferred to *Xenopus* or *Triturus*. Furthermore, the tumour cell type both at the implantation site and in the viscera is that of the host and not that of the implanted material (Figs. 4, 5). Hence, it would seem that, in xenografts at least, the cells of the transplanted tumour do not proliferate to form malignant neoplasms in the host, but are replaced by transformed host cells, which also make up the visceral tumours (i.e. type *b* i or ii).

A further point of interest from the series of experiments summarized in Table 1 is the very short interval between the DLS implantation of tumour material and the development of skin and back muscle invasion and of advanced visceral tumours. In all six *Xenopus* used in Transfer D both lobes of the liver, the spleen and kidneys were extensively invaded, although the implantation operation had taken place only 18—23 days before.

It is hoped that a further series of *Xenopus-Triturus* xenografts, together with other approaches, will result in a more detailed

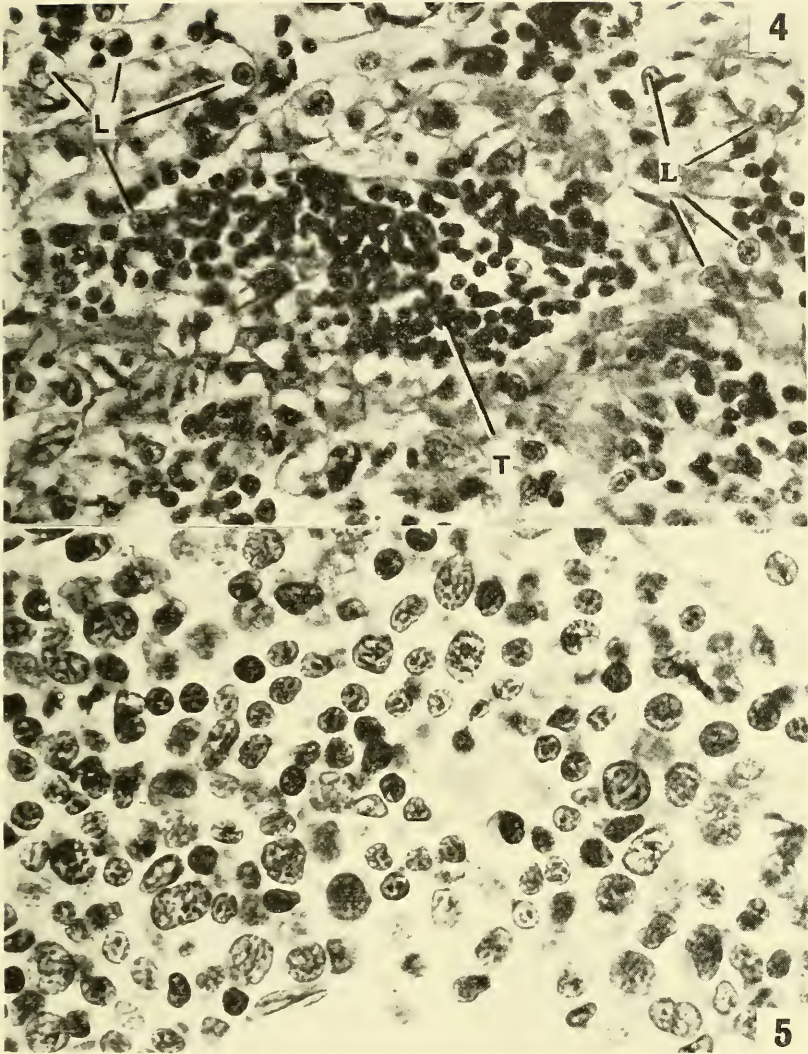


FIG. 4.

Detail of *Xenopus* lymphoid tumour shown in Fig. 2. The *Xenopus* lymphoid cells are small and the nuclear contents are dense and stain deeply. L = liver cells. X 500

FIG. 5.

Detail of lymphoid cells of *Triturus* tumour shown in Fig. 1. The cells are larger than those of *Xenopus* (above) and the nuclear contents more granular. X 500

knowledge of the aetiology of the *Xenopus* lymphosarcoma and of any cell-transforming factor which may be involved.

RÉFÉRENCES

- 1) BALLS, M. 1962. *Spontaneous neoplasms in amphibians: a review and descriptions of six new cases*. Cancer Res. 22: 1142-1154.
- 2) — *Methylcholanthrene-induced tumor in the anuran amphibian *Xenopus laevis** (in press).
- 3) — *Transplantation of spontaneously occurring and chemically induced lymphoid tumors in *Xenopus laevis** (in press).
- 4) RUBEN, L. N. 1963. *Lucké carcinoma implants in regenerating and regressing urodele limbs*. Rev. Suisse Zool. 70 (in press).
- 5) LEONE, V. 1957. *Tumori da meticolantrene in Tritoni*. R. C. Ist. lombardo (B) 92: 220-240.
- 6) INOUE, S. 1954. *On the transplantable spontaneous visceral tumour in the newt, *Triturus pyrrhogaster**. Sci. Repts. Tohoku Imp. Univ. 20: 226-236.
- 7) PONTÉN, J. 1962. *Sex chromosomes as markers in transplanted chicken leukaemia cells*. Nature, London 194: 97.
- 8) — 1962. *Transplantation of chicken tumor RPL12 in homologous hosts*. J. Nat. Cancer Inst. 29: 1013-1021.
- 9) — 1962. *Homologous transfer of Rous Sarcoma by cells*. J. Nat. Cancer Inst. 29: 1147-1159.
- 10) — *Transmission in vivo of chicken erythroblastosis by cells*. J. Cell & Comp. Physiol (in press).

N° 12. **J. Bovet**, Lausanne. — Etude, par l'analyse du contenu de pelotes de Chouette Effraie (*Tyto alba*), de fluctuations dans les populations de Micromammifères.¹ (Avec une table et une figure dans le texte.)

Institut de Pharmacologie de l'Université de Lausanne.

Le régime alimentaire « normal » de l'Effraie est bien connu (cf. UTTENDÖRFER, 1952). Il peut toutefois présenter dans le temps des variations importantes, dont l'interprétation se révèle très

¹ Résultats obtenus dans le cadre d'un travail bénéficiant de l'aide du Fonds national suisse pour la recherche scientifique (crédit n° 1856).

utile pour l'étude des fluctuations des populations des espèces-proies.

En été 1962, nous avons analysé une centaine de pelotes d'Effraie qui provenaient toutes de la même place-gîte, à environ 250 m à l'ouest des bâtiments de la Station biologique de la Tour du Valat, en Camargue¹. La moitié de ces pelotes étaient déjà anciennes, de couleur grise, très sèches, et l'autre moitié relativement fraîches, de couleur noire « laquée », très humides. D'après les indications de M. KOWALSKI, les premières dataient de 1961 et les secondes du printemps et du début de l'été 1962; toutes avaient été probablement rejetées par un même individu.

TABLEAU 1.

Mammifères trouvés dans les pelotes de 1961 et 1962.

n = nombres d'individus; % du total = pourcentage du total des Mammifères.

	1961		1962	
	n	% du total	n	% du total
<i>Crocidura russula</i>	48	29,2	121	52,6
<i>Crocidura suaveolens</i>	5	3,0	34	14,8
<i>Suncus etruscus</i>	3	1,8	15	6,5
<i>Talpa europaea</i>	1	0,6	—	—
Insectivores	57	34,6	170	73,9
<i>Myotis myotis</i> :	1	0,6	1	0,4
Chiroptères	1	0,6	1	0,4
<i>Microtus agrestis</i>	17	10,3	28	12,2
<i>Pitymys duodecimcostatus</i>	19	11,5	6	2,6
<i>Rattus sp.</i>	8	4,8	2	0,9
<i>Apodemus sylvaticus</i>	8	4,8	4	1,8
<i>Mus musculus</i>	42	25,5	18	7,8
<i>Micromys minutus</i>	13	7,9	—	—
<i>Campagnols indéterminés</i>	—	—	1	0,4
Rongeurs	107	64,8	59	25,7
Mammifères (total)	165		230	

¹ Nous disons ici notre gratitude à M. Luc Hoffmann, directeur de la Station, pour l'hospitalité et les facilités qu'il nous a accordées; à M. Hubert Kowalski, qui nous a fourni les pelotes et a su nous donner des indications précises sur leur origine; et à M. Jacques Blondel, qui a déterminé les restes d'Oiseaux et d'Insectes que contenaient quelques pelotes.

L'analyse a porté sur 45 pelotes de 1961 et 47 de 1962. Les nombres absolus et les proportions des restes de Mammifères trouvés dans ces deux séries sont donnés dans la Table 1. Les restes d'animaux d'autres groupes sont peu importants; 3 pelotes de 1961 et 8 de 1962 en contenaient, soit:

- 1961: 1. 1 *Gryllotalpa gryllotalpa* (Orth.).
 2. 1 *Gryllotalpa gryllotalpa*.
 3. 1 *Passer* (probablement *P. domesticus*).
- 1962: 1. 1 *Amphimallon* (Col.) (probablement *A. majalis*).
 2. au moins 14 *Amphimallon majalis*.
 3. au moins 11 *Amphimallon majalis* et un Coléoptère indéterminé.
 4. 2 *Amphimallon* (probablement *A. majalis*).
 5. 1 *Pentodon punctatus* (Col.).
 6. 1 *Hydrous piceus* (Col.).
 7. 1 *Carduelis* (Fring.) (probablement *C. carduelis* ou *C. cannabina*).
 8. 1 Passereau (peut-être *Lanius*).

Le caractère presque exclusivement mammalien du régime de l'Effraie est trop connu (GUÉRIN, 1928; MADON, 1933; GIBAN *et al.*, 1948; STICKEL & STICKEL, 1948; KLAAS, 1950; UTTENDÖRFER, 1952) pour que nous insistions sur ce point. Le fait qui, dans nos résultats, nous semble présenter de l'intérêt est la variation très importante des proportions Rongeurs/Insectivores (R/I) entre 1961 et 1962. La proportion, en 1961, de 65 Rongeurs pour 35 Insectivores correspond fort bien à celles données en général par les auteurs¹. On peut donc la considérer comme représentative du régime normal de l'Effraie. En revanche, la proportion de 26 Rongeurs pour 74 Insectivores en 1962 est tout à fait anormale. Il

¹ GUÉRIN, 1928, a dénombré en Vendée au total 7.888 Rongeurs pour 3.198 Insectivores (R/I = 71/29); MADON, 1933, a dénombré dans le Gard 1.585 Rongeurs pour 831 Insectivores (R/I = 66/34) et dans le Var 443 Rongeurs pour 389 Insectivores (R/I = 53/47); GIBAN *et al.*, 1948, travaillant en Charente-Maritime, ont dénombré à une station 1.272 Rongeurs pour 699 Insectivores (R/I = 64/36), et à une autre station 235 Rongeurs pour 182 Insectivores (R/I = 56/44); enfin pour l'ensemble des analyses citées par UTTENDÖRFER, 1952, on a 53.452 Rongeurs pour 20.661 Insectivores (R/I = 72,28)

faut sans doute rechercher les causes d'une telle variation de la proportion R/I dans les fluctuations des densités relatives des populations des diverses espèces-proies. Plusieurs auteurs se sont déjà attachés à comparer les contenus de pelotes ramassées en un même lieu à une ou plusieurs années d'intervalle. Ainsi, GUÉRIN, 1928, signale pour une station en 1925, 849 Rongeurs et 610 Insectivores (R/I = 58/42) et en 1926-27, 1933 Rongeurs et 495 Insectivores (R/I = 80/20); pour une autre station en 1924, 312 Rongeurs et 73 Insectivores (R/I = 81/19), en 1925 133 Rongeurs et 87 Insectivores (R/I = 60/40), et en 1926, 203 Rongeurs et 43 Insectivores (R/I = 83/17). KLAAS, 1950, dénombre en 1947, 225 Rongeurs et 228 Insectivores (R/I = 50/50), et en 1949, à la même station, 610 Rongeurs et 164 Insectivores (R/I = 79/21). GUÉRIN attribue les variations qu'il a observées à des fluctuations dans les deux groupes de proies, alors que KLAAS parle d'une baisse de densité des Musaraignes entre 1947 et 1949 et ne semble pas avoir pensé à une hausse de densité des Rongeurs. Dans notre cas, la variation est si importante qu'il doit certainement s'agir d'une hausse des densités de Musaraignes jointe à une baisse des densités de Rongeurs (tout au moins de Murinés). Ce point de vue est confirmé d'une part par les témoignages des habitants de la région, qui ont constaté beaucoup moins de signes de présence de souris en 1962 qu'en 1961, et d'autre part par des piégeages que nous avons faits en 1961 (en collaboration avec M. André Meylan) et en 1962 dans les haies et les bosquets voisins de la Station. En 1961, en trois nuits de piégeage (7-9 août) avec environ 120 nuits-pièges, nous avons pris 8 *Crocidura russula*, 30 *Mus musculus* et 5 *Apodemus sylvaticus*; en 1962, pendant les trois nuits correspondantes (7-9 août), avec 94 nuits-pièges, nous avons pris 15 *C. russula*, 2 *M. musculus* et 6 *A. sylvaticus*. Les rendements du piégeage (nombre de captures/nombre de nuits-pièges) passaient ainsi entre 1961 et 1962 de 0,06 à 0,16 pour *C. russula*, de 0,25 à 0,02 pour *M. musculus*, et de 0,04 à 0,06 pour *A. sylvaticus*. Ces différences devaient être en réalité encore plus considérables puisqu'en 1961, notre technique de piégeage était centrée sur la capture des Musaraignes alors qu'en 1962 elle l'était sur celle des Rongeurs. Enfin, le nombre d'Insectes capturés en 1962, beaucoup plus élevé qu'en 1961, laisse supposer que la raréfaction des Rongeurs avait accru les besoins de l'Éffraie en proies de remplacement.

Il faut aussi relever le fait que, contrairement à celui de tous les autres Rongeurs, le taux de *Microtus agrestis* est resté stable. Cela est peut-être attribuable au fait que le déterminisme des fluctuations de *Microtus* (cf. FRANK, 1957) est nettement différent de celui des fluctuations d'autres Rongeurs (JAMESON, 1955).

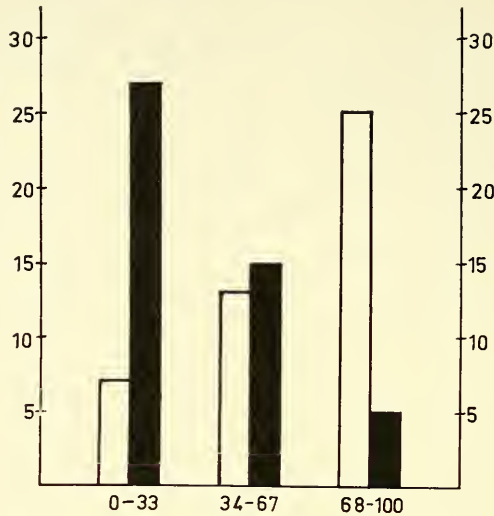


FIG. 1.

Répartition des pelotes de 1961 (colonnes blanches) et de 1962 (colonnes noires) en trois classes, selon la proportion de Rongeurs qu'elles contiennent. En abscisse: 1^{re} classe: 0-33%; 2^e classe: 34-67%; 3^e classe: 68-100% de Rongeurs; en ordonnée: nombre de pelotes.

Notons enfin que les nombres élevés de Rongeurs dans notre première série et de Musaraignes dans la seconde ne sont pas dus à quelques pelotes contenant anormalement beaucoup de Rongeurs ou de Musaraignes, mais que la prépondérance des Rongeurs pour 1961 et celle des Insectivores pour 1962 se retrouvent dans la grande majorité des pelotes de chaque série (Fig. 1).

RÉFÉRENCES

- FRANK, F., 1957: *The causality of Microtine cycles in Germany*. J. Wildl. Mgt. 21, 113-121.
- GIBAN, J., M. GATINEAU et R. GUIBERT, 1948: *Etude d'une famille d'Effraie (Tyto alba Scopoli) en Charente-Maritime*. Ann. Epiph. N.S. 14, 247-263.

- GUÉRIN, G., 1928: *Régime et croissance de l'Effraye commune en Vendée*. Fontenay-le-Comte, 157 pp.
- JAMESON, E. W. JR., 1955: *Some factors affecting fluctuations of Microtus and Peromyscus*. J. Mammal. 36, 206-209.
- KLAAS, C., 1950: *Zur Ernährung der Schleiereule*. Vogelwelt 71, 132-133.
- MADON, P., 1933: *Les Rapaces d'Europe*. Toulon, 292 pp.
- STICKEL, W. H. et L. F. STICKEL, 1948: *Mammals of Northwestern Texas found in Barn Owl pellets*. J. Mammal. 29, 291-293.
- UTTENDÖRFER, O., 1952: *Neue Ergebnisse über die Ernährung der Greifvögel und Eulen*. Stuttgart, 230 pp.
-

N^o 13. **A. M. Du Bois et F. Griessen**, — L'activité athrocytaire chez le fœtus de rat et de cobaye. (Avec une planche)

Institut d'Histologie et d'Embryologie, Ecole de Médecine, Genève.

Chez le rat et chez le cobaye, le système histiocytaire fonctionne dès la naissance; les colorants colloïdaux, injectés au nouveau-né, sont captés par toutes les cellules histiocytaires: reticulum de la rate, de la moelle osseuse, macro- et microphages, endothelium hépatique, etc. Notre travail a pour but de rechercher si cette fonction existe déjà, à l'état latent du moins, pendant la vie fœtale et à quel moment du développement les différents types cellulaires appartenant à ce système de défense acquièrent la capacité d'athrocyter les colloïdes exogènes. Chez les mammifères, cette recherche implique l'injection de colorants colloïdaux au fœtus lui-même. En effet, la barrière placentaire s'oppose au passage dans le sang du foetus, des particules colloïdales non toxiques injectées à la mère (WISLOCKI, 1921; WISŁOCKI et BENNETT, 1943). Dans les conditions physiologiques normales où l'intégrité placentaire est respectée, l'activité histiocytaire fœtale, si elle existe à l'état latent, n'a jamais l'occasion de se manifester. Cependant un des éléments de ce système montre précocement une certaine activité phagocytaire: dans le foie fœtal, en hématopoïèse active, les cellules de von Kupffer sont capables de détruire par phagocytose

des érythrocytes, probablement anormaux, formés dans les îlots hématopoiétiques du voisinage. Ce fait a été constaté au microscope optique, par GILMOUR (1941) sur le fœtus humain de 3-5 mois et, au microscope électronique, par JONES (1959) sur le fœtus de rat du 15^e jour et par SØRENSEN (1961) sur le fœtus de lapin du 17^e jour. Ces mêmes cellules renferment fréquemment des granulations de ferritine, provenant soit de la dégradation de l'hémoglobine des érythrocytes ingérés, soit de fer capté dans le sang circulant. Ce fer passera dans les cellules hépatiques où il sera stocké en attendant d'être utilisé, dans les îlots sanguins au cours de la synthèse de l'hémoglobine (GILMOUR, 1941, DU BOIS, 1963).

L'injection de particules colloïdales chez l'embryon de batracien (DU BOIS, 1946) et l'embryon de poulet (KENT, 1961) a démontré que chez ces espèces la fonction athrocytaire est très active et qu'elle débute à un stade précoce du développement.

Chez le rat et le cobaye, l'injection de colloïdes est praticable par voie vasculaire, dans la veine ombilicale chez les fœtus âgés, et par voie intra-péritonéale ou intra-crânienne chez les plus jeunes.

Des travaux antérieurs ont montré que les processus d'athrocytose sont souvent différentiels, tel type d'athrocyte ne captant que les colloïdes fins, d'autres les plus grossiers. Nous avons donc utilisé 3 colloïdes, à diamètres particuliers nettement différents: Encre de Chine, 1000 Å; Bleu de Prusse, 100 Å app.; Noir diamine, 10 Å app. Pour permettre une appréciation rigoureuse des résultats, les fœtus d'une portée ont été répartis en 3 lots, chacun étant injecté avec un type de colloïde.

Les résultats obtenus jusqu'ici sont les suivants:

La fonction athrocytaire existe à l'état fœtal. Durant le dernier quart de la gestation, les 3 colloïdes injectés sont complètement fixés en 20-30 minutes, chez le cobaye comme chez le rat. Ce sont les cellules de v. Kupffer du foie qui agissent le plus activement. La fig. 1 montre un certain nombre de cellules de Kupffer chargées de particules de charbon, mais toutes les cellules endothéliales n'ont pas fonctionné comme athrocytes. C'est un fait connu également dans le foie adulte. Il semble que les cellules endothéliales ne sont pas toutes au même moment dans le même état physiologique qui leur permet d'athrocyter. L'athrocytose est également marquée dans les cellules mésothéliales du péritoine et les granulocytes neutrophiles du sang. Par contre, l'athrocytose dans la rate

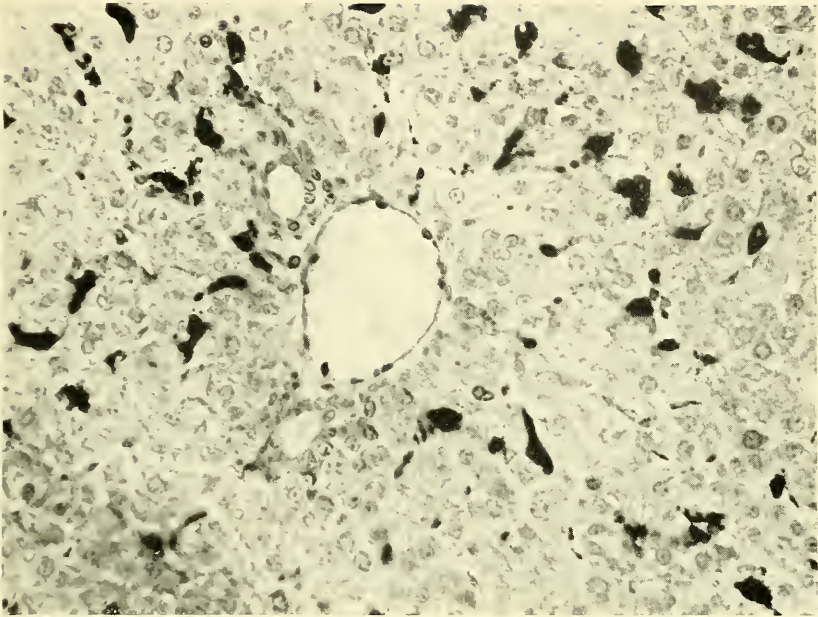


FIG. 1.

Fœtus de cobaye de 84 mm, 52/53^e jour.

Foie après injection d'encre de Chine dans la veine ombilicale. Athrocytose des particules d'encre par les cellules de von Kupffer.

Coloration: rouge pour noyaux; grossissement x 350

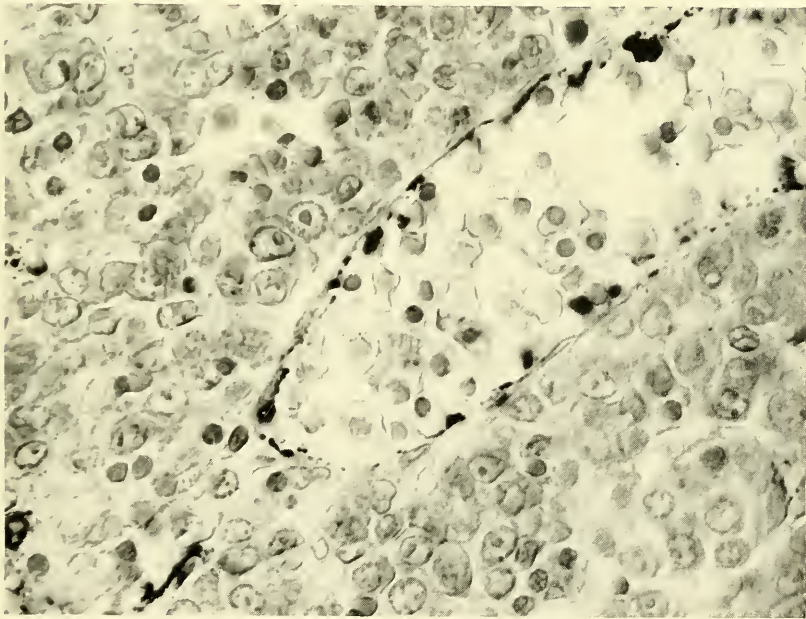


FIG. 2.

Fœtus de rat 18 mm, 17/18^e jour.

Foie après injection d'encre de Chine dans la veine ombilicale. Athrocytose importante par l'endothélium de la veine centrolobulaire, encore peu marquée dans les cellules de von Kupffer.

Coloration: rouge pour noyaux; grossissement x 650

est beaucoup moins prononcée, bien que l'hématopoïèse splénique soit très active et que les athrocytes des cordons de Billroth fonctionnent pour fixer du fer.

En ce qui concerne les foetus plus jeunes, au-dessous de 55 mm (41/42 j.) chez le cobaye, et de 26 mm (19^e j.) chez le rat, nos séries ne sont pas encore complètes. Il semble cependant que des processus d'athrocytose différentielle interviennent, du moins au niveau du foie, chez le foetus de rat de 26 mm. L'encre de Chine et le bleu de Prusse sont complètement athrocytés dans les cellules de v. Kupffer tandis qu'une grande partie du noir diamine demeure encore dans la circulation. Chez le foetus de 18 mm (17/18 j.) seule l'encre de Chine a été fixée. La fig. 2 montre que, chez les individus jeunes, ce sont les cellules endothéliales de la veine sushépatique plus rarement de la veine porte, qui captent les particules d'encre alors que dans le foie des foetus plus âgés, comme chez l'adulte, la paroi veineuse n'athrocyte jamais. A ce même stade, les cellules de v. Kupffer ne fixent que très mal le colloïde, elles n'ont probablement pas encore atteint un degré de maturité suffisant pour assurer cette fonction. Chez le cobaye, nos résultats sont encore fragmentaires mais indiquent également que seule l'encre de Chine, colloïde à très grosses particules, est encore athrocyté dans les stades jeunes.

Des expériences sont en cours pour vérifier ce dernier point sur un matériel plus important et pour déterminer le moment exact où chaque type d'athrocyte commence à fonctionner.

BIBLIOGRAPHIE

- Du Bois, A.-M., 1946. *Athrocytose et transfert des colorants colloïdaux et du pigment chez l'embryon et le têtard de grenouille*. Rev. suisse Zool. 53: 1-31.
- 1963. *The Embryonic Liver in "The liver: Morphology — Physiology — Biochemistry"*, Acad. Press (sous presse).
- GILMOUR, J. R., 1941. *Normal hematopoiesis in intra-uterine and neonatal life*. J. Pathol. Bacteriol. 52: 25-55.
- JONES, O. P., 1959. *Formation of erythroblasts in the fetal liver and their destruction by macrophages and hepatic cells*. Anat. Rec. 133: 294-296.
- KENT, R., 1961. *The development of the phagocytic activity of the reticulo-endothelial system in the chick*. J. Embryol. exp. Morphol. 9: 128-137.

- SORENSEN G. D., 1960. *An electron microscopic study of hematopoiesis in the liver of foetal rabbit* Am. J. Anat. 106: 27-40.
- WISLOCKI, G. B., 1921. *Observation upon the behaviour of carbon granules injected into pregnant animals*. Anat. Rec. 21: 29-33.
- and BENNETT, H. S., 1943. *The histology and cytology of the human and monkey placenta, with special reference to the trophoblast*. Am. J. Anat. 73: 335-449.

N^o 14. **H. R. Haefelfinger.** — Bedarf die marine Fauna der mediterranen Küstenzone eines Schutzes?

Zoologische Anstalt, Basel.

Versucht man sich ein Bild über die verschiedenen Gefährdungsmöglichkeiten der marinen Fauna zu machen, so zeigt es sich, dass folgende Faktoren berücksichtigt werden müssen: 1. die Abwässer von Siedlungszentren; 2. die Wasserverunreinigung durch die Schifffahrt (Tankerflotte!); 3. Schutt- und Kehrriichtablagerungen entlang der Küstenzone; 4. Schäden durch übermässige Fischerei und 5. Raubbau durch Sporttaucher.

Die Auswirkungen einiger dieser Faktoren konnte ich während einer mehrjährigen Beobachtungsperiode in verschiedenen Regionen des westlichen Mittelmeeres verfolgen.

Die verheerende Wirkung der Abwässer auf die Fauna und Flora des Süsswassers dürfte zur Genüge bekannt sein. Was die marinen Verhältnisse anbetrifft, stellt man sich jedoch allgemein vor, dass die riesigen Wassermengen der Meere selbst grosse Abwassermassen rasch verdünnen, so dass diese sich nicht unangenehm bemerkbar machen können. Das stimmt in gewissen Grenzen, wenn es sich um tiefe Meere mit ausgeprägten Strömungen und Gezeiten handelt. Seichte Meere und hier vorallem die Küstenzone haben jedoch beträchtlich unter Verschmutzung zu leiden. Diese Erscheinungen sind nicht erst neueren Datums sondern schon seit Jahrzehnten bekannt. TCHANG SI hat 1931 in seiner Arbeit über die Opisthobranchier der Bucht von Toulon auf die sich ständig verschlechternden Lebensbedingungen dieser Région

mit folgenden Worten hingewiesen: Actuellement la faune de la rade de Toulon est en voie d'appauvrissement. Les principales causes de cet appauvrissement sont dues d'abord à une pollution des eaux par des produits toxiques, en particulier par le mazout utilisé de plus en plus par les bateaux et aussi par une pêche trop intensive surtout celle du « mourédu » qui amène la destruction d'une grande partie des posidonies et arrive ainsi à faire disparaître les fonds herbeux absolument indispensable pour le développement d'un grand nombre d'animaux marins. Leider wurde diese Warnung in keiner Weise beherzigt und so konnte ich rund dreissig Jahre später in der Bucht von Villefranche-sur-Mer die gleiche Beeinträchtigung in eher noch verstärktem Masse feststellen.

Was den heutigen Stand der Gefährdung anbetrifft, so steht der litorale Benthos an erster Stelle, gefolgt vom litoral Pelagial, und dem abyssalen Benthos. Am wenigsten gefährdet ist vorläufig das ozeanische und abyssale Pelagial.

Die Verhältnisse in Banyuls-sur-Mer.

In Banyuls konnte ich den Einfluss der Abwässer besonders eindrücklich feststellen. Bis zum Jahre 1957 floss der Abwasserstrom dieses Dorfes direkt in die vorgelagerte Bucht. Des rapid ansteigenden Tourismus wegen wurde eine Abwasserreinigungsanlage gebaut, die ca. 100 m ausserhalb der Bucht ins Meer mündet. Schon nach wenigen Wochen musste der Betrieb wegen verschiedenen Unzulänglichkeiten eingestellt werden. Heute fliesst das Abwasser der gesamten Siedlung nach wie vor ungeklärt ins Meer und bei SO-Wind oder bestimmten Strömungsverhältnissen wird es wiederum in die seichte Bucht und an den Strand getrieben. Schon 1960 habe ich beim Tauchen in Nähe der Abwassermündung dicke Schichten von Faulschlamm festgestellt. Nach Beendigung der Sommersaison, in welcher die Bevölkerung von Banyuls von dreitausend auf beinahe zwanzigtausend Seelen ansteigt, konnte ich allerdings feststellen, dass die Schlammdepots durch Wellengang und Strömung wieder abgebaut wurden. 1961 verschlimmerte sich die Lage und im vergangenen Jahr konnte ich in einem Umkreis von gut 500 m rund um die Abwassermündung Faulschlammdepots bis zu 50 cm Dicke finden, die zum Teil während des Winters 1961-62 überhaupt nicht abgebaut worden sind. Viele Lebewesen, vor allem Schwämme werden durch diese Ablagerungen in Mitleidenschaft gezogen.

Sehr viel Schaden stiften an der „Côte Vermeille“ die Sporttaucher und unter diesen in erster Linie die Andenkenjäger. Durch sie werden folgende Tiere besonders gefährdet. Die Steckmuschel (*Pinna squamosa*), die wegen ihrer prächtigen bis zu 100 cm langen Schalen gesammelt wird, sodann die gelbe respektive orangerote Hornkoralle (*Eunicella cavolini*), die ihrer feingliederigeren Struktur und ihrer leuchtenden Farbe wegen mehr Liebhaber findet als die weisse Hornkoralle (*Eunicella verrucosa*) und schliesslich noch die Edelkoralle (*Corallium rubrum*), deren Achsenskelett zu Schmuckstücken verarbeitet wird. Es gibt nun skrupellose Taucher, die ohne Zögern innert weniger Tage ganze Küstenstriche der Steckmuscheln, Gorgonen und Edelkorallen berauben. Jeder dieser Taucher möchte nach den Unterwasserexkursionen am Meer, seinen ehrfürchtig stauenden Freunden und Bekannten Trophäen überreichen und ganze Zimmer als Unterwasserlandschaften dekorieren. Noch schlimmer sind jene Taucher, die solche Raubzüge auf kommerzieller Basis betreiben. Vor zwei Jahren konnte ich eine Gruppe von drei Pariser Andenkenjägern beobachten, die innerhalb einer Woche einen mittleren Personenwagen voll solcher Souvenirs zusammengehamstert hat.

Während mehrerer Jahre konnte ich das Zurückgehen der eingangs erwähnten drei Formen in der Region von Banyuls genau verfolgen. Noch vor zehn Jahren waren meterlange Schalen von *Pinna squamosa* durchaus keine Seltenheit, ja an besonders günstigen Stellen stiess man in den Seegraswiesen auf ganze Populationen dieser Weichtiere. Bedenkt man aber, dass eine Muschel von 60-70 cm Schalenlänge sicher ein Alter von gegen 50 Jahren hat, so kann man sich vorstellen, dass beim gegenwärtigen Raubbau in absehbarer Zeit schon Individuen von 30 cm Länge Seltenheitswert haben werden. Durch die alarmierende Reduktion der Population wird natürlich auch die Vermehrungsquote der Steckmuschel niedriger, und es wird Zeit, dass man an einen Schutz denkt. Ich kann in diesem Zusammenhang auch den Marin-Biologen im Laboratoire Arago den Vorwurf nicht ersparen, dass sie in diesem speziellen Fall unverantwortliche Forschungen unternommen haben. In der *Pinna squamosa* lebt nämlich ein kleiner decapoder Krebs (*Pontonia*) als Kommensale. Mehr als ein Dutzend grösster Steckmuscheln wurden der Statistik wegen getötet. Von Fachleuten dürfte man immerhin erwarten, dass sie dermassen

gefährdete Tiere nicht zu leichtfertigen Versuchen oder Nachforschungen benützen.

In der Region von Banyuls fand ich weisse Hornkorallen schon in knapp fünf Meter Tiefe, die orangerote hingegen erst ab 15 m, d.h. diese Coelenteraten sind eigentlich nur dem mit Pressluft ausgerüsteten Taucher erreichbar. Das Verhältnis von gelben Gorgonen zu weissen Gorgonen war in dieser Tiefe etwa 1:50 bis 1:100. Im vergangenen Jahr musste man meist sehr lange suchen bis man nur kleine Aestchen, geschweige denn Gebilde von 70 und mehr Zentimeter Länge fand. Glücklicherweise lässt sich die violette Gorgone (*Paramuricea chamaeleon*) kaum mit Erfolg konservieren, sonst würde sicher auch diese Form, mit Aesten von über einem Meter Länge, auf der „Souvenir-Liste“ stehen.

Der Edelkoralle wird natürlich schon seit sehr langer Zeit nachgestellt. Die bisherige Fangmethode mit der Balkendredsche (Fauberts) war nur in grossen Populationen und an nicht überhängenden Partien möglich. Der Taucher hingegen kann selbst in Höhlen eindringen und isoliert stehende Exemplare ohne grossen Arbeitsaufwand erbeuten. Da die Edelkoralle prozentual häufiger vorkommt als die Steckmuschel lässt sich deren Rückgang weniger gut feststellen. An einigen mir bekannten Fundorten (sowohl in Banyuls als auch in Villefranche) wurde jedoch von Tauchklubs der Umgebung innert zweier Jahre der Bestand fast 100 prozentig ausgeraubt. Das Wachstum der Edelkorallen geht ebenfalls sehr langsam von statten. Auch bei gänzlicher Schonung würde es Jahrzehnte dauern bis ein gewisser Bestand wieder erreicht ist.

Verhältnisse in Villefranche-sur-Mer (Alpes maritimes).

Das meiste für Banyuls gesagte gilt in vollem Umfange auch für Villefranche, ja man kann ruhig behaupten, dass in der letzteren Region die Bedingungen in den ufernahen Meeresteilen schon dermassen schlecht sind, dass nicht von einer Gefährdung sondern schon von einer Schädigung gesprochen werden muss. Der hinterste Teil der Bucht ist durch eine Bodenschwelle, die bis 10 Meter unter den Wasserspiegel heraufreicht, vom offenen Meer abgetrennt. In diesem Becken hat sich eine mehrere Meter dicke Schicht von Faulschlamm abgesetzt, die praktisch keine Lebewesen mehr beherbergt. Noch vor zwei Jahrzehnten war dort nach Angaben von Herrn Prof. G. TRÉGOUBOFF eine reichhaltige Sandfauna zu beo-

bachten. Besonders augenfällig sind in Villefranche die Schäden am obersten litoral Benthos. Gut 50% der Küstenlänge ist heute überbaut. Der anfallende Aushub und der Bauschutt wurden einfach im Meer deponiert. Der dichte Algenbewuchs und teilweise auch die Seegraswiesen wurden in der Schuttmasse erstickt. Damit verschwanden natürlich auch viele Tiere, die an dieses Biotop gebunden sind. Die Wiederbesiedlung dauert mehrere Jahre, die lockeren Schuttmassen werden bei Stürmen durch verstärkten Wellengang in Bewegung gehalten und dadurch der Neubewuchs mit Algen und die Wiederbesiedlung durch Tiere über lange Zeit verhindert. Auch Seegraswiesen können durch solche wandernden Schuttmassen erstickt werden.

Die oberste Zone ist zudem der Verschmutzung durch Erdölprodukte ständig ausgesetzt. Deren schwärzliche Rückstände sind in eingebrachten Algenproben fast täglich zu beobachten. Die empfindlichen Tiere sind daher kaum mehr zu finden und nur bei einem vollständigen Wegfall dieser Schädigungsquelle könnte mit einem normalen Wiederauftreten gerechnet werden.

Es würde zu weit führen und auch nicht in meinem Erfahrungsgebiet liegen, hier die Schäden, die durch Hochseefischerei verursacht werden, näher zu analysieren. Ich möchte nur noch kurz auf die Auswirkungen der Küstenfischerei hinweisen. Entlang der französischen Mittelmeerküste wird neben der Stell- und Schwebenetzfischerei sehr viel mit Dredschen und Bodenschleppnetzen gefischt (Lokalbezeichnungen „Rateau, Gangui, Mourédu, Chalut“). Trotz mannigfachen Einschränkungen durch die Fischereibehörden wird vor allem durch diese beiden Fangmethoden beträchtlicher Schaden gestiftet. Tagelang wird an der gleichen Stelle gefischt, dabei werden sehr viele Seegrasstauden (Posidonien und Zostera) ausgerissen, so dass ganze „Strassen“ in den Seegraswiesen entstehen. Besonders an seichten Stellen, wo der Wellengang sich bis zum Boden bemerkbar macht, entstehen an den vom Bewuchs entblößten Stellen Erosionsformen, welche langsam zur vollständigen Zerstörung der Seegraswiesen führen können. Durch die intensive Befischung werden jedoch auch Epiflora und -fauna der Posidonien, dann Unterschlupfstellen und Verstecke verschiedenster Tiere, sowie vielfach auch deren Gelege zerstört oder andauernd geschädigt. Beim Tauchen in solchen Regionen lassen sich die Schäden nur zu deutlich erkennen.

Zweier am Mittelmeer sehr beliebter Spezialitäten wegen, der „poutine“ und der „petite friture“, begehen die ansässigen Fischer einen unverantwortlichen Raubbau, der im Gefolge natürlich die gesamte übrige Tierwelt ebenfalls intensiv beeinträchtigt. Trotz Schonzeiten und strengen Bestimmungen über die Maschenweite der Netze, wird den glasklaren kleinen Fischchen, der „poutine“, die nicht anderes sind als frischgeschlüpfte Fischbrut verschiedener Uferlaicher, und der „petite friture“, den etwas älteren Jugendstadien derselben eifrig nachgestellt, denn die Fremden wollen diese Leckerbissen eben jahraus jahrein. Die Fischer gaben sich zwar der Illusion hin, es handle sich um besondere, kleinbleibende Fischarten, was jedoch keineswegs der Wahrheit entspricht.

Was kann man zum Schutze der litoralen Tierwelt und deren Erhaltung unternehmen? Anlässlich der Tagung der „Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Méditerranée“ wurden diese Fragen eingehend erörtert. Die Beobachtungen welche in Marseille und in Neapel gemacht wurden, decken sich absolut mit meinen eigenen. Die Probleme der Abwässer und der Schuttablagerungen sind sehr schwer zu lösen, man muss sich zuerst auf das Problem der Taucher beschränken. Die rings ums Mittelmeer aus dem Boden schiessenden Tauchzentren, Tauchschulen und -klubs bilden neben anderweitig bedingten Schäden, eine ernste Gefahr für die litorale Fauna. Das Durchsetzen von Schutzbestimmungen ist natürlich wesentlich schwieriger als auf dem Land. Man müsste wohl in erster Linie an die Errichtung von Reservaten denken. Diese wiederum können nicht an x-beliebigen Orten errichtet werden. Kleinere unbewohnte Inseln wären besonders günstig. Seit einiger Zeit wird in Frankreich die Errichtung eines solchen Reservates diskutiert, doch konnte bis heute nicht eine Verwirklichung erreicht werden.

Doch auch die Marin-Biologen müssten sich vor jedem Versuch und jeder geplanten Untersuchung fragen, ob ihre Arbeiten gerechtfertigt sind und nicht bezüglich seltener Arten unverantwortliche Eingriffe in Flora und Fauna des Meeres darstellen. Vielfach muss man nämlich an marinbiologischen Stationen feststellen, dass für die einzelnen Forscher dermassen viel Material gesammelt wird, dass sie es innert nützlicher Frist nicht verarbeiten können. Oft fehlt es auch an Koordination und wertvolle Fänge werden nur durch

einzelne Forscher und nicht durch eine Gruppe Leute verschiedenster Interessen verwertet; neunzig und mehr Prozent der Lebewesen gehen so sinnlos zugrunde. Noch kann man zwar für Nachschub sorgen, aber viele Laboratorien müssen heute schon bestimmte Tiere im Umkreis von mehreren Kilometern rings herum beschaffen. Restloses Auswerten der Fänge und Beschränkung auf die unbedingt notwendige Zahl Untersuchungsobjekte sollte als Gebot für jeden am Meere tätigen Biologen gelten.

LITERATUR

TCHANG SI, 1931. *Contribution à l'étude des Opisthobranches de la rade de Toulon*. Thèse, Lyon.

N^o 15. **P. E. Howse**, Bern. — Zur Evolution der Erzeugung von Erschütterungen als Benachrichtigungsmittel bei Termiten. (Mit 3 Textabbildungen).¹

Einzeltiere der kalifornischen Feuchtholztermiten *Zootermopsis angusticollis* Emerson können durch rhythmisches Schlagen ihrer Köpfe gegen die Decken der Nestgalerien Erschütterungen (d.h. gleichzeitig hörbare Töne) erzeugen. Es ist nachgewiesen worden, dass die erzeugten Erschütterungen in der Termitenkolonie als Warnsignal wirken, indem sie gewisse Orientierungsmuster auslösen und verstärken, welche die Tiere in tiefere und weniger zugängliche Nestteile führen (Howse, 1963). Mit Hilfe verschiedener Aufzeichnungsmethoden durchgeführte Untersuchungen liessen erkennen, dass die Erschütterungen nach einem rhythmischen, wenig veränderlichen Muster erzeugt werden. Eine elektrophysio-

¹ Die beschriebene Arbeit wurde am Queen Mary College und King's College der Universität London ausgeführt, mit Unterstützung des Dept. of Scientific & Industrial Research (London). Herrn Dr. J.D. Carthy, Prof. J.L. Cloudsley-Thompson, und Frau Dr. L.J. Goodman möchte ich hiermit für ihre wertvolle Hilfe danken.

logische Untersuchung der Erschütterungsempfindlichkeit des Subgenualorgans ist an demselben Insekt durchgeführt worden (Howse, 1962). Eine Untersuchung der gegenseitigen Anpassungen des Subgenualorgans und des Erschütterungsmusters könnte Licht auf die Bedeutung und Evolution dieses Kommunikationsmittels werfen.

Die Merkmale des Erschütterungsmusters

Die Hauptmerkmale des Erschütterungsmusters können an Hand der Abb. 1 diskutiert werden:

1. Jeder Schlag der Termiten gegen die Decke erzeugt eine gedämpfte Erschütterung des Materials. Diese Schläge werden in Folgen von 1 bis 8 Einzelschlägen erzeugt, wobei mindestens 90 Prozent der Folgen aus nur 2 oder 3 Schlägen bestehen. Wir bezeichnen die Bewegungen der Termiten, welche eine solche Schlagfolge erzeugt, als „senkrechte Oszillationsbewegung“.

2. Die Zeit zwischen dem Beginn der Schlagfolgen, welche durch die senkrechte Oszillationsbewegung erzeugt werden (z. B. R in Abb. 1.), weist eine Mindestlänge auf, welche bei gleichbleibender Temperatur nahezu konstant ist und bei Zimmertemperatur (20-21° C) 0,5 Sekunden beträgt.

3. Die Anzahl der Folgen mit 2 Schlägen bilden mit der Anzahl der Folgen mit 3 Schlägen ein Verhältnis, welches von der Temperatur abhängig ist. Bei steigender Temperatur nimmt die Anzahl der Folgen mit 2 Schlägen zu.

4. Es werden ungefähr gleichviel Folgen mit gerader Schlagzahl, wie Folgen mit ungerader Schlagzahl erzeugt. Mit zunehmender Temperatur tritt jedoch eine allmähliche Verschiebung zu Folgen mit kleineren Schlagzahlen auf.

5. Die Dauer der Folgen gleicher Schlagzahl (z.B. a+b in Abb. 1.) ist nahezu konstant aber temperaturabhängig.

6. Das Verhältnis der Zeiten zwischen aufeinanderfolgenden Schlägen bei Folgen derselben Schlagzahl ist nahezu konstant, aber temperaturabhängig (a:b oder x:y:z in Abb. 1.). Die Zeit zwischen den Schlägen beträgt 40 bis 45 Millisekunden bei Zimmertemperatur, was einer Schlagfrequenz von etwa 24 pro Sekunde entspricht.

Mit Ausnahme der von der Temperatur abhängigen Variationen sind keine Veränderungen des Erschütterungsmusters entdeckt worden. Dieser Befund, im Zusammenhang mit andern noch unveröffentlichten Befunden, hat zum Schluss geführt, dass die senkrechte Oszillationsbewegung völlig vom Zentralnervensystem gesteuert wird. Daraus folgt dann, dass die Temperaturabhängigkeit der Veränderungen eine Konsequenz der Wirkungsweise des Neuralmechanismus ist.

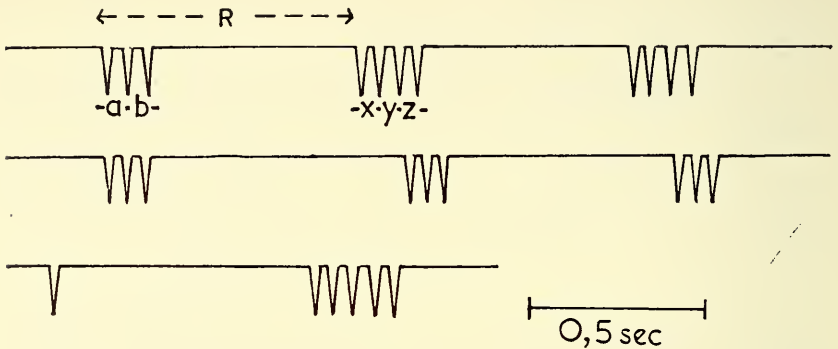


ABB. 1.

Kymograph-Aufzeichnung des von *Z. angusticollis*-Larven erzeugten Erschütterungsmusters. Weitere Erklärung im Text.

Die Leistungen des Subgenualorgans

Durch eine elektrophysiologische Untersuchung liess sich zeigen, dass das Subgenualorgan hauptsächlich ein Rezeptor ist, der nur auf Reizänderungen anspricht. Es reagiert nur auf diskontinuierliche Eigenschaften eines Reizes (Howse, 1962). Schwingungspakete geeigneter Frequenz und Amplitude bei einer Repetitionsfrequenz von 2 oder weniger pro Sekunde lösten synchrone Nervenimpulse aus, die im Zentralnervenstrang nachgewiesen werden konnten und welche keine Adaptation zeigten. Bei einer Repetitionsfrequenz von 3 bis 20 pro sec. werden 10 bis 30 synchrone Nervenimpulse festgestellt, worauf Adaptation stattfindet (Abb. 2.). Bei einer Repetitionsfrequenz von 30 pro sec. traten nur 1 bis 8 synchrone Impulse auf, bevor Adaptation eintrat.

Das Sinnesorgan ist also auf das Erschütterungsmuster abgestimmt. Anpassungen existieren auch in anderer Hinsicht. Es

hat sich gezeigt, dass die „Optimalfrequenz“ des Subgenualorgans zwischen 1000 und 1150 Hz. liegt. Es war jedoch eine Überraschung, dass die Erschütterungen im Holz eines Termiten- „Nests“, die von den senkrechten Oszillationsbewegung herrührten, eine Frequenz von ungefähr 1000 Hz. hatten (Abb. 3.). Weiter wurde festgestellt, dass die Schwellenamplitude des Subgenualorgans im untersuchten Frequenzbereich ungefähr 100mal niedriger war als bei der Schabe *Periplaneta americana* L. Es wird deshalb vermutet, dass die als Nebenprodukte normaler Aktivität erzeugten Erschütterungen (z.B. durch die Kau- und Laufbewegungen der Termiten in der Nähe) ausgefiltert werden.

*Die Leistungen des Subgenualorgans
in Hinblick auf das Erschütterungsmuster*

THORPE (1961) hat darauf hingewiesen, dass ein Signal häufig wiederholt und/oder fortwährend moduliert werden muss, damit es von gleichzeitigen anderen Vorgängen getrennt werden kann, womit erst eine leistungsfähige Übermittlung gewährleistet ist. Obwohl das Erschütterungsmuster der Termiten wenig Anzeichen von Modulation aufweist, ist es sehr wiederholungsreich, und die Sinnesorgane sind eingerichtet, nicht dazugehörige Erschütterungen auszufiltern. Es ist auch klar, dass es zwei Möglichkeiten dafür gibt, dass ein Signal eines Tieres zu einer spezifischen Handlung eines anderen Tieres führt. Entweder kann die Empfindlichkeit des betreffenden Sinnesorgans durch geeignete Mechanismen beschränkt werden, oder das Sinnesorgan kann eine allgemeine Empfindlichkeit behalten, wobei dann ein Differenzierungssystem im Zentralnervensystem die vom Subgenualorgan gelieferte Information auswertet. Die erste Methode scheint von den Termiten entwickelt worden zu sein.

Wenn die Erschütterungen oder Erschütterungsfolgen weniger als 0,5 Sekunden auseinander liegen (bei Zimmertemperatur), werden sie nach einer gewissen Zeit, infolge der Adaptation des Subgenualorgans oder seiner afferenten Nervenbahnen, nicht mehr wahrgenommen. Wenn die Intervalle länger als 0,5 sec. dauern, kann das Sinnesorgan sein höchstmögliches Ausgangssignal nicht mehr abgeben. Schlagfolgen von 1 bis 8 Erschütterungen, mit einer Schlagfrequenz von ungefähr 30 pro sec. und mit Zwischenzeiten

von einer halben Sekunde liefern hinsichtlich des Subgenualorgans die Höchstzahl von Reizen bei der höchstmöglichen Repetitionsfrequenz. Die Höchstgeschwindigkeit der senkrechten Oszillations-

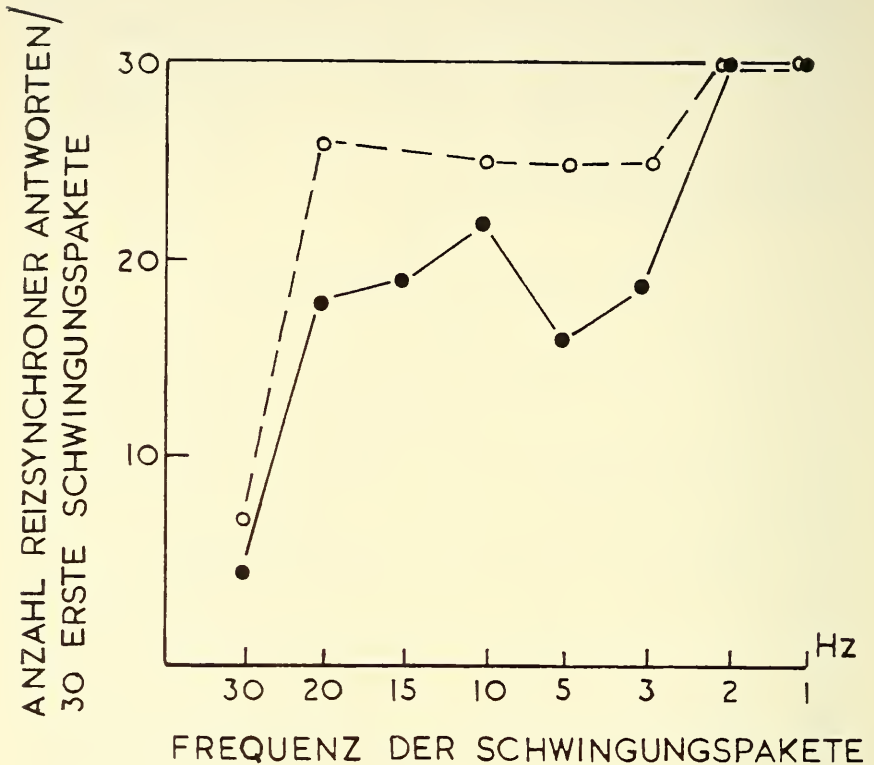


ABB. 2.

Adaptation des Subgenualorgans von *Z. angusticollis* an Schwingungspakete verschiedener Repetitionsfrequenzen. ○ — — ○ Resultate von nur einem Präparat (Mittelwert von 5 Bestimmungen). ● — — — ● Resultate von 6 Präparaten; jeder Punkt entspricht einem Mittelwert von mehr als 35 Bestimmungen, mit Ausnahme derjenigen für die Repetitionsfrequenz von 5 und 15 pro sec., welche einem Mittelwert von weniger als 10 Bestimmungen entsprechen.

bewegung der Larven scheint damit ebenfalls erreicht zu sein. Filmaufnahmen zeigen, dass diese Bewegung fast völlig durch wechselweises Strecken und Beugen der Vorderbeine hervorgebracht

wird. Gelegentlich heben sich die Vorderbeine vom Boden ab, was andeutet, dass das Beugen schneller erfolgt als das Insekt fallen kann.

Interessant ist, dass das grösste Ausgangssignal des Subgenualorgans anscheinend bei Schlagfolgen von 15 bis 25 Schlägen mit einer Schlagfrequenz von 20 pro sec. und 0,5 sec. Pause zwischen den Schlagfolgen geliefert wurde. (Es wurden keine Anhaltspunkte dafür gefunden, dass die Erholung von der Adaptation nach einer langen Schlagfolge langsamer erfolgt.) Ein solches Reizmuster würde einem Durchschnitt von ungefähr 800 Nervenimpulsen (oder Impulsgruppen) pro Minute entsprechen, gegen 300 pro Minute bei der wirklichen Schlagfrequenz (berechnet unter der Annahme von Folgen zu 3 Schlägen mit einer Schlagfrequenz von 30 pro sec.). Die Erzeugung dieser Signale nahm jedoch etwa viermal mehr Zeit in Anspruch als die Termiten tatsächlich dafür aufwenden, was darauf hinweist, dass Zeit und Energie für andere Tätigkeiten gespart werden.

Eine elektrophysiologische Untersuchung des Subgenualorgans der Schabe *P. americana* (Howse, 1962) liess erkennen, dass keine Adaptation von Schwingungspaketen bei einer Repetitionsfrequenz von 30 pro sec. und wahrscheinlich bis 100 pro sec. erfolgt. Dieses Resultat war unabhängig davon, ob die Elektroden im Bein oder im Bauchmark vor dem Prothorakalganglion angebracht wurden. Es darf deshalb angenommen werden, dass die bei der Termiten gefundene Adaptation ein sekundäres Charakteristikum ist.

AUTRUM u. SCHNEIDER (1948) fanden bei ihren Untersuchungen zwei Insektengruppen mit verschiedener Empfindlichkeit des Subgenualorgans. Die eine Gruppe enthielt alle untersuchten sozialen Insekten, wobei die Empfindlichkeit gegen Erschütterungen etwa hundertmal kleiner als bei der Gruppe mit *P. americana* und anderen nicht sozialen Insekten war. Sie führten diesen Befund auf die Struktur des Subgenualorgans zurück, welches bei den sozialen Insekten im allgemeinen kegelförmig und bei den anderen im allgemeinen segelförmig war. Weil wir *Z. angusticollis*, welche der Schabe näher verwandt ist als den Hymenopteren, zur weniger empfindlichen Gruppe zählen dürfen, können wir annehmen, dass die Kegelform eine Anpassung an das Sozialleben ist; d.h. ein Mittel, die Erschütterungsempfindlichkeit zu reduzieren. Es ist vermutet worden (Howse, 1962), dass die Nervenzellen sich entladen während

des Eigenschwingvorganges. Wahrscheinlich sind die Zellen eines kompakten Organs weniger leicht zu verschieben als diejenigen eines segelförmigen Organs.

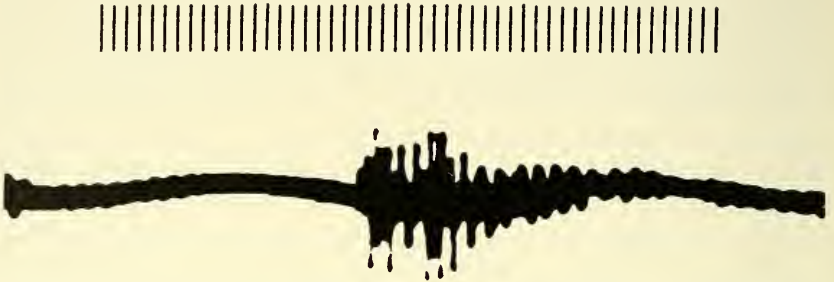


ABB. 3.

Oszillogramm einer von senkrechter Oszillationsbewegung erzeugten Erschütterung im *Z. angusticollis*-Nest. Zeitmarken = 1/1000 sec.

In einer Kolonie von sozialen Insekten ist es nicht von Bedeutung, wenn einige Individuen an der Peripherie des Nestes verlorengehen, solange sie oder benachbarte Tiere das Alarmsignal geben können. Bei der Schabe ist jedoch das Überleben des Einzeltieres am wichtigsten. Damit steht wohl die relativ hohe Empfindlichkeit des Subgenualorgans bei der Schabe und bei anderen Orthopteren im Zusammenhang.

Möglicherweise ist die Tendenz, mit steigender Temperatur eine grössere Anzahl von Folgen relativ kleiner Schlagzahl zu produzieren, auf die Physiologie des Subgenualorgans zurückzuführen. Bei 18,5-19° C ist die Schlagfrequenz ungefähr 20 pro sec., aber bei 23° C schon 36 pro sec. Bei einer niederen Temperatur ist es also wahrscheinlicher, dass alle Schläge einer Folge von mehr als drei Schlägen wahrgenommen werden.

Die Evolution der Benachrichtigung durch Erschütterungen bei Termiten.

Es ist wahrscheinlich, dass die Fähigkeit, Erschütterungen wahrzunehmen, schon bei den primitiven Termitenarten vorhanden war, besonders im Hinblick auf ihre Verwandtschaft mit den Orthop-

teren, bei welchen Gehörorgane sehr häufig vorkommen. Bei *Z. angusticollis* und *Z. nevadensis* findet sich ein Organ, das an ein Tympanalorgan erinnert, auf dem ersten abdominalen Tergiten der geflügelten Geschlechtstiere, was nach Kenntnis des Autors bei Termiten einzigartig ist (mit der möglichen Ausnahme von *Z. laticeps*). Dieses Organ, das wahrscheinlich rudimentär ist¹, deutet auf die Verwandtschaft der Gattung *Zootermopsis* mit Acridoid-ähnlichen Vorfahren hin. Mitteilung durch Lauterzeugung kommt bei den Orthopteren vor, gewöhnlich mit dem Zweck, einen Geschlechtspartner anzulocken. HASKELL (1958) fand, dass die Subgenualorgane eines *Chorthippus parallelus*-Weibchens eine gewisse Rolle bei der Wahrnehmung des männlichen Gesanges spielten. Bei *Ephippiger bitternensis* fanden BUSNEL u. DUMORTIER (1955), dass eine schnelle Oszillation des Körpers in einer senkrechten Ebene (*trémulation*) von den Weibchen angewandt wurde, um die Männchen durch die so erzeugte Oszillation des Laubes anzulocken. CLEVELAND *et al.* (1934) berichteten, dass die halbsoziale Schabe *Cryptocercus punctulatus* die für Termiten charakteristische zuckende Bewegung ausführt, und zwar hauptsächlich vor und während der Fortpflanzungszeit.

Es scheint also, dass Bewegungen, die den Zweck hatten, durch Lauterzeugung einen Geschlechtspartner anzulocken, im Laufe der Evolution der Termiten aus Acridoid-ähnlichen Vorfahren diese ursprüngliche Funktion verloren haben und eine andere Bedeutung erlangten. Die Präexistenz von ton- oder erschütterungsempfindlichen Organen könnte während der Nahrungssuche vorteilhaft sein, aber *Zootermopsis* sammelt nicht. Andererseits könnte die Fähigkeit, die von aufgeregten Nestgenossen an der Peripherie der Kolonie erzeugten Erschütterungen wahrzunehmen, für die Art ein erheblicher Vorteil sein. Während der Evolution der Gattung *Zootermopsis* und wahrscheinlich der Termiten im allgemeinen scheint eine Orthoptera-ähnliche Oszillationsbewegung ritualisiert worden zu sein, wobei die Empfindlichkeit des Subgenualorgans

¹ Das Organ wird erstmals von SUMNER (1933) erwähnt. Die Trommel hat weniger als 1 mm. Durchmesser, und der Rand ist teilweise von biegsamen Integument begrenzt. Die Trommel ist normalerweise von einem Fortsatz des Merons der Coxa bedeckt. Die Färbetechnik mit Methylenblau, hat nicht vermocht, Nervenverbindungen mit dem Organ nachzuweisen, und die geflügelten Formen zeigten keine Reaktion auf Luftschall von Frequenzen zwischen 25 und 20 000 Hz. (Unpublizierte Beobachtungen des Autors.)

der neuen Funktion der Mitteilung durch Erschütterungen angepasst worden ist.

Nach der Literatur ist die Tonerzeugung bei Termiten ein weitverbreitetes Phänomen. Sie kommt wahrscheinlich bei allen Arten vor. Unterschiede bestehen zwischen den Arten. So werden z.B. bei der vom Verfasser untersuchten Art *Kalotermea jouteli* die Schläge mit einer Frequenz von etwa 12 pro sec. erzeugt. Bei *Reticulitermes* gibt es zwei Methoden der Erschütterungserzeugung; die eine ist die gleiche wie bei *Zootermopsis*, bei der andern schlägt die Termit (Larve oder Soldat) die Kiefer heftig gegen den Boden und bringt dadurch ein hörbares Klicken hervor. Es ist in diesem Fall möglich, dass die zwei Verhaltensweisen verschiedene Funktionen haben. Im allgemeinen ist es jedoch schwer zu verstehen, wie Veränderungen eines Erschütterungsmusters im Fall eines Warnsignals sich zu einer „Sprache“ oder einem Code ausbilden konnten. Dies wird anderswo erörtert werden. Es hängt mit der Tatsache zusammen, dass eine kleine Veränderung des Musters die gleichzeitige Entwicklung eines Differenzierungssystems bedingen würde, damit „Fehler“ vermieden werden können. Es ist am wahrscheinlichsten, dass in der Evolution Veränderungen entstehen, welche die Kolonie über sehr wichtige, aber verschiedene Ereignisse informieren, so dass eine falsche Interpretation verhängnisvoll ist. Bei Auftreten einer grossen Variation im Erschütterungsmuster, müsste die Selektivität des Sinnesorgans gleichzeitig verringert werden und im Zentralnervensystem müsste ein Differenzierungsapparat entwickelt werden. Bei *Z. angusticollis* ist offenbar die Evolution in der andern möglichen Richtung verlaufen. Die Möglichkeit besteht jedoch, dass infolge unterschiedlicher Erschütterungsschwellen die Kasten in verschiedener Art auf Erschütterungssignale reagieren. Dies betrifft wahrscheinlich insbesondere Arten mit zwei Soldatenkasten.

LITERATURVERZEICHNIS

- AUTRUM, H., und SCHNEIDER, W., 1948. *Vergleichende Untersuchungen über den Erschütterungssinn der Insekten*. Z. vergl. Physiol. 31: 77-88.
- BUSNEL, R.-G., BUSNEL, M. C., und DUMORTIER, B., 1956. *Recherches sur le comportement acoustique des Ehippigères*. Biol. Bull. 90: 221-285.

- CLEVELAND, L. R., HALL, S. R., SANDERS, E. P., und COLLIER, J., 1934. *The wood-feeding roach Cryptocercus, its Protozoa, and the symbiosis between Protozoa and roach*. Mem. Amer. Acad. Arts. Sci. 17: 185-342.
- HASKELL, P. T., 1958. *Stridulation and associated behaviour in certain Orthoptera. 2: Stridulation of females and their behaviour with males*. Anim. Behav. 6: 27-42.
- HOWSE, P. E., 1962. *The perception of vibration by the subgenual organ in Zootermopsis angusticollis Emerson and Periplaneta americana L.* Experientia. 18: 457-458.
- 1963. *Oscillation Movements in the termite Zootermopsis angusticollis Emerson* (Im Druck).
- SUMNER, E. C., 1933. *The species of the termite genus Zootermopsis Emerson (= Termopsis Hagen)*. Univ. Calif. Publ. Ent. 6: 197-230.
- THORPE, W. H., 1961. *Bird Song*. Cambridge University Press.

N^o 16. **W. Huber und H. Sägesser**, Bern. — Verkeilung und Wölbung der Frontalia beim Reh (*Capreolus capreolus*). (Mit 7 Textabbildungen)

Naturhistorisches Museum Bern.

1. FRAGESTELLUNG

Wie wir in einer früheren Arbeit gezeigt haben (SÄGESSER und HUBER, Rev. suisse Zool. 1962) ist die Verkeilung der Frontalia ein Prozess, der früh um den 5. Lebensmonat einsetzt, und der gleichzeitig mit dem Längenwachstum des Schädels, also zu Beginn des 3. Lebensjahres, abgeschlossen ist. Die Mäanderbildung erfasst nie die ganze Frontalnaht; es bleibt vielmehr eine vordere Nahtstrecke ungefalted. Betrachtet man das Längsprofil ausgewachsener Schädel, so sieht man, dass die Frontalia im Bereich des gefalteten Nahtteils konvex, im Bereich des ungefalteten Teils dagegen konkav gewölbt sind. Querprofile durch den Falt- und den Streckteil zeigen die nämlichen Verhältnisse. Zwischen der Aufwölbung der Frontalia und der Mäanderbildung scheint also eine

kausale Beziehung zu bestehen. Ob dies zutrifft, soll im folgenden untersucht werden.

2. MATERIAL UND METHODE

Die Untersuchung wurde an den 40 männlichen Rehschäden aus dem Material unserer ersten Arbeit (l. c.) durchgeführt. Dazu kamen noch 104 männliche Schädel aus einem Revier bei Seengen, Aargau (Coll. Eugen Loeb, Bern). In der vorliegenden Arbeit verwenden wir die folgenden Masse bzw. Indices (vgl. Abb. 1):

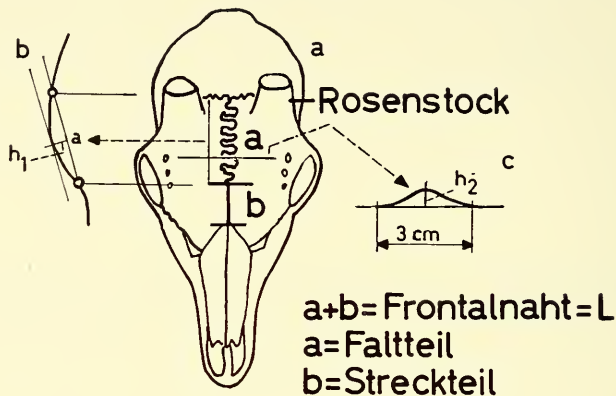


ABB. 1.

a) Rehschädel von dorsal mit der Frontalnaht und den Mess-Strecken; b) dorsales Längsprofil, c) Querprofil unterhalb der Rosenstockbasis.

Die absolute Länge der Frontalnaht N . Sie wurde beim Material der Sammlung Loeb im Gegensatz zu unserer früheren Untersuchung nicht auf Vergrößerungen fotografischer Aufnahmen gemessen, sondern die Schädel (Trophäen) wurden in frontaler Ansicht mit Hilfe eines „Optiskops“ (einer Art Epiprojektor) direkt bei gleichbleibender, etwa 4,5 facher Vergrößerung gezeichnet, und die Frontalnaht auf den so erhaltenen Zeichnungen mit dem Kartenkurvenmesser gemessen.

Die gerade Länge L der Frontalnaht, gefalteter (a) und ungefalteter (b) Teil.

Der Nahtindex $\frac{N-L}{L}$ (vgl. Sägeser und Huber, l. c.).

Das dorsale Längsprofil des Schädels. Es wurde durch Projektion mit Hilfe des „Optiskops“ ermittelt. Als Krümmungsmass des konvexen Frontalbereiches benützten wir den Quotienten aus der geraden Länge des Faltteils a und der grössten Höhe des Bogens h_1 (Abb. 1 b): Krümmung = h_1/a .

Die transversale Krümmung der Frontalpartie im Bereiche des Faltteils. Sie wurde mit Hilfe eines Profileurs auf dem Niveau der Rosenstockbasis festgestellt. Als Krümmungsmass diente mangels befriedigender Messpunkte im Stirnbereich der Quotient aus einer Bogenbasis von 3 cm Länge und der Bogenhöhe h_2 (Abb. 1 c): Krümmung = h_2 . Die Formeigentümlichkeiten des Querprofils werden durch dieses Krümmungsmass, das vereinfachend die Krümmung eines Kreisbogens angibt, natürlich nicht erfasst (vgl. Seite 276).

Die Altersbestimmung der Trophäen bereitete einige Schwierigkeiten, da uns Gebisse nicht zur Verfügung standen. Es liess sich jedoch eindeutig feststellen, ob Schädel von juvenilen oder von adulten Böcken vorlagen. Wo wir das Alter nicht sicher fixieren konnten, errechneten wir aus den beiden möglichen Extremwerten das Altersmittel¹.

3. ERGEBNISSE

a) *Faltindex und Kopfgestaltung im Bereiche der Frontalia.*

Um den Anschluss an unsere frühere Untersuchung herzustellen, haben wir zunächst den Faltindex, der ein Mass für den Verteilungsgrad der Frontalia ist, mit dem Alter in Beziehung gesetzt (Abb. 2). Es zeigt sich die gleiche Streuung, wie wir sie schon damals gefunden hatten. Der Durchschnitt der Faltindices der adulten Böcke liegt jedoch mit einem Wert von $1,95 \pm 0,072$ etwas tiefer ($2,04 \pm 0,14$). Die beiden Werte sind statistisch nicht voneinander verschieden ($P = 78\%$), dürfen also als identisch betrachtet werden. Die Abb. 2 zeigt, dass die Mäanderbildung an der Frontalnaht gegen Ende des dritten Lebensjahres abgeschlossen ist und nicht, wie in unserer ersten Arbeit auf Grund eines kleineren Materials

¹ Herrn Ernst Hänni, Abt. für Jagd und Naturschutz der Kantonalen Forstdirektion Bern, danken wir herzlich für die Hilfe bei der Altersbestimmung. Ebenso danken wir Herrn Prof. S. Rosin, Bern für die Beratung bei der statistischen Auswertung unserer Messungen.

angegeben, schon am Ende des zweiten Jahres. Ob dies auch für das Längenwachstum des Schädels zutrifft, kann an dem Material der Sammlung Loeb nicht festgestellt werden, weil es sich bei ihm nicht um ganze Schädel, sondern um Trophäen handelt.

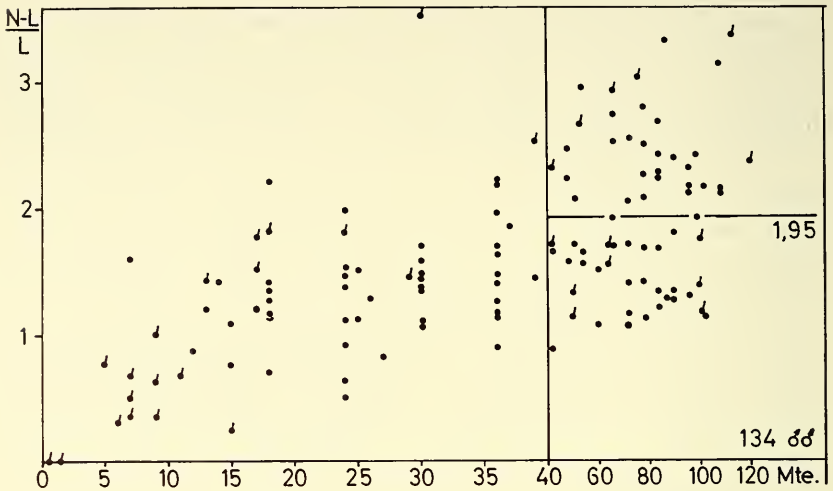


ABB. 2.

Verlauf der Faltung an der Frontalnaht, dargestellt durch den Faltindex. Die Werte vom 40. Lebensmonat an aufwärts wurden für die Bildung des adulten Durchschnitts verwendet (vgl. Sägeser und Huber, l.c.)

Diese Korrektur ist ohne Einfluss auf den früher gezogenen Schluss, wonach der Verkeilungsgrad der Frontalia nicht mit der Grösse der Kopfwaffen korreliert ist. Das Geweih ist ja auch im dritten Jahre noch nicht maximal entfaltet (vgl. Sägeser und Huber, l. c. Abb. 6). Wie einleitend schon bemerkt, ist die Frontalnaht nicht auf ihrer ganzen Länge verkeilt. Es gibt eine vordere Nahtstrecke von konstanter Länge, die dauernd ungefalted bleibt. Dieser ungefaltete Nahtteil ist sowohl in der Längs- als auch in der Querrichtung konkav eingesenkt. Im Bereich der gefalteten Naht degegen sind die Frontalia in beiden Richtungen median aufgewölbt. Die Umschlagstelle zwischen der konkaven und der konvexen Stirnpartie befindet sich genau dort, wo der ungefaltete in den gefalteten Nahtteil übergeht. Die Koïnzidenz zwischen konvexer Stirnwölbung und Nahtverkeilung lässt vermuten, dass die beiden Erscheinungen entweder eine gemeinsame Ursache

haben oder dass die eine die andere bewirkt, oder wenigstens bedingt.

Um diese Frage zu prüfen, haben wir zunächst die Genese der Schädelwölbung im Bereiche der Frontalia studiert und sodann die Längswölbung und die Querwölbung der konvexen Stirnpartie mit dem Faltindex und mit Breitenmassen der Stirne in Beziehung gesetzt.

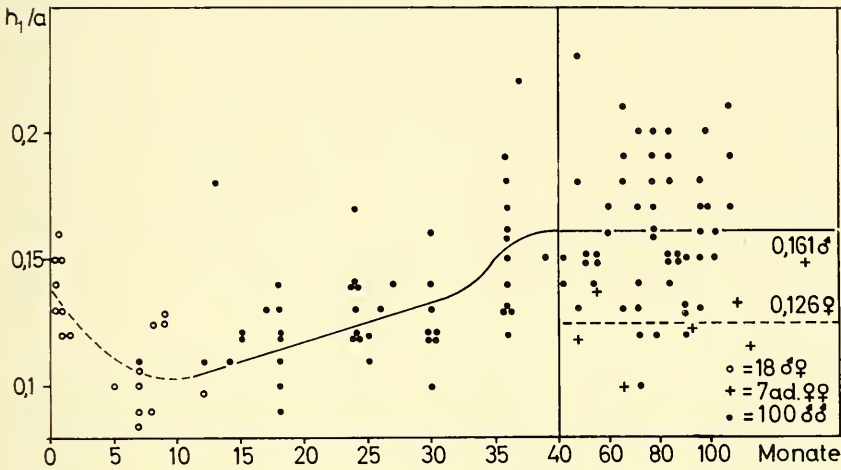


ABB. 3.

Genese der longitudinalen Stirnwölbung. Abszisse: Alter in Monaten. Der Bereich von 0-40 Monaten ist fünfmal gedehnt. Ordinate: Krümmungsmass h_1/a des dorsalen Längsprofils.

b) *Genese der longitudinalen Stirnwölbung und ihre Beziehung zum Faltindex der Frontalnaht und zur Schädelbreite.*

Die grafische Darstellung der Abb. 3 gibt die Genese der longitudinalen Stirnwölbung wieder. Sie bezieht sich auf das Material der Sammlung Loeb und dazu kamen einige Schädel junger Tiere sowie die wenigen Schädel adulter Geissen, die wir besitzen. Der Vergleich der juvenilen und der adulten Schädel zeigt einmal, dass die juvenile Längswölbung nicht allmählich in die adulte übergeht, sondern dass die letztere verhältnismässig spät (10. Monat) auftritt und bereits nach 36 Monaten ihr Maximum erreicht. Der Unterschied zwischen den jungen (15.-30. Monat) und den ausgewachsenen Böcken (ab 40. Monat) ist mit einem $P < 1\%$, die

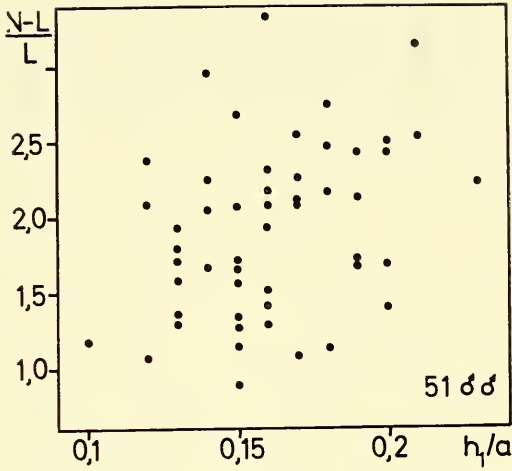
beschleunigte Aufwölbung der Stirne zwischen dem 30. Monat (Mittelwert der Krümmung = $0,126 \pm 0,007$) und dem 36. Monat (Mittelwert $0,151 \pm 0,007$) mit einem $P = 2\%$ gesichert. Interessant ist der Befund, dass die longitudinale Stirnwölbung der adulten Geissen gesichert ($P = 2\%$) von derjenigen der Böcke verschieden ist, obwohl die Nahtindices bei beiden übereinstimmen (Sägesser und Huber, l. c.).

Wie aus dem Vergleich der Abbildungen 2 und 3 hervorgeht, fällt der letzte Anstieg der longitudinalen Stirnwölbung bei den Böcken zeitlich mit dem Ende der Mäanderbildung an der Frontalnaht zusammen. Man hat den Eindruck, dass ein gegen die Medianebene gerichteter Wachstumsschub, der zur Verkeilung der Stirnbeine führt, zuletzt durch eine Verstärkung der Stirnwölbung aufgefangen wird. Die dynamischen Voraussetzungen für eine Abhängigkeit zwischen Mäanderbildung und Längswölbung scheinen also gegeben zu sein, und so fragt es sich, ob zwischen beiden eine ursächliche Beziehung besteht.

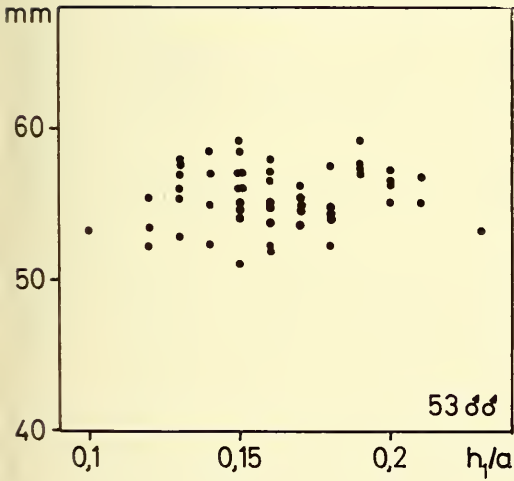
In der Abb. 4 a ist die Stirnkrümmung der adulten Böcke zum Nahtindex in Beziehung gesetzt. Es zeigt sich dabei nur eine schwache Korrelation zwischen den beiden ($P = 2,5\%$). Daraus und aus der Tatsache, dass die Geissen bei gleich intensiver Mäanderbildung eine schwächere Stirnwölbung aufweisen als die Böcke, müssen wir schliessen, dass die Längswölbung der Frontalia zwar im Zusammenhang mit ihrer gegenseitigen Verkeilung verstärkt wird, dass sie jedoch noch andere Ursachen hat. Um hier klarer zu sehen, versuchten wir herauszufinden, ob im Stirnbereich noch andere Formbeziehungen existieren. Dabei war besonders darauf zu achten, ob bei den Böcken die Stirnform von den Rosenstöcken beeinflusst wird.

Auf der Abb. 4 b ist die Längswölbung der Frontalia mit der Breite des Gesichtsschädels (kleinste Orbitalbreite) und in der Abb. 4 c mit der Stellung der Rosenstöcke (Distanz zwischen den Rosenstöcken) in Beziehung gesetzt. Es lassen sich keine Korrelationen feststellen. Die Stellung der Stirnzapfen hat also keinen Einfluss auf die Längswölbung der Frontalia. Damit ist nicht gesagt, dass sich ihre Existenz doch, unabhängig von ihrer Stellung und ihrer Dicke, auf die Stärke dieser Wölbung auswirken kann. Diese Vermutung wird jedenfalls durch die Tatsache der geringeren Stirnwölbung bei den rosenstocklosen Geissen nahegelegt.

a



b



c

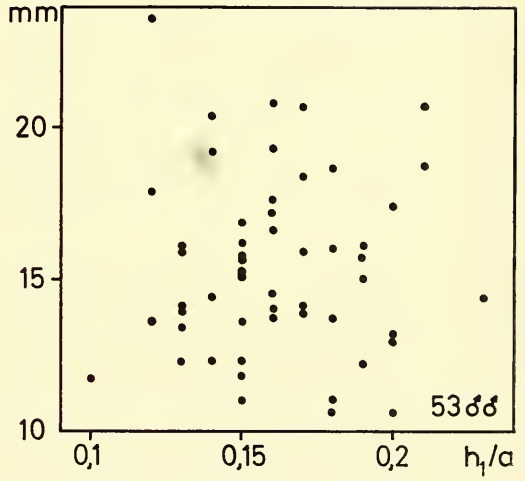


ABB. 4.

a) Abhängigkeit des Faltindex der Frontal naht von der dorsalen Längswölbung des Falteils, b) Abhängigkeit der Breite des Gesichtsschädels (kleinste Breite zwischen den Orbita) von der dorsalen Längswölbung des Falteils, c) Abhängigkeit der Distanz zwischen den Rosenstöcken von der dorsalen Längswölbung des Falteils.

c) *Genese der transversalen Stirnwölbung und ihre Beziehung zum Faltindex der Frontalnaht und zur Schädelbreite.*

Im Gegensatz zur longitudinalen zeigt die transversale Stirnwölbung im Verlaufe des Kopfwachstums nur eine äusserts schwache Zunahme. Stellt man die Schädel der 15-30 Monate alten Tiere den adulten gegenüber, so ergibt sich für die ersteren ein Mittelwert

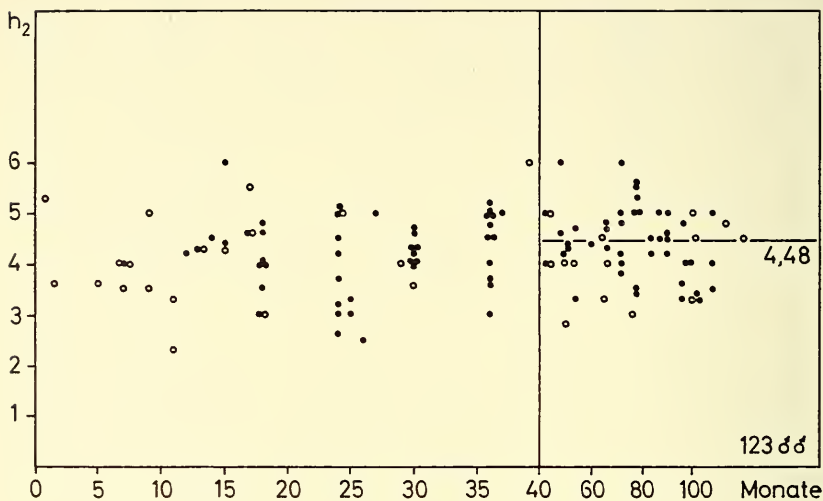
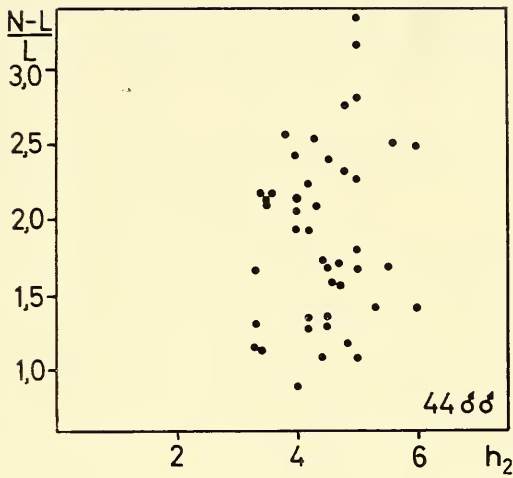


ABB. 5.

Genese der transversalen Stirnwölbung. Abszisse: Alter, Ordinate: Krümmung h_2 (vgl. Abb. 3)

von 4.11 ± 0.13 , für die letzteren ein solcher von 4.48 ± 0.1 . Die Differenz ist mit einem $P = 3\%$ schwach gesichert (Abb. 5). Damit ist gezeigt, dass die juvenile Querwölbung fast unverändert in jene des adulten Schädels eingeht. Sie kann also nicht die Folge der Prozesse sein, die zur Verkeilung der Frontalia führen. Sie ist auch nicht die Ursache der Mäanderbildung, denn es lässt sich zwischen ihr und dem Faltindex keine Korrelation feststellen (Abb. 6 a). Sie ist andererseits, wie aus den Abb. 6 b und 6 c hervorgeht, auch nicht mit der Breite des Gesichtsschädels (kleinste Orbitalbreite) oder der Stellung der Rosenstöcke (Distanz zwischen den Rosenstöcken. $P = 33\%$) korreliert. Man kann

a



b

c

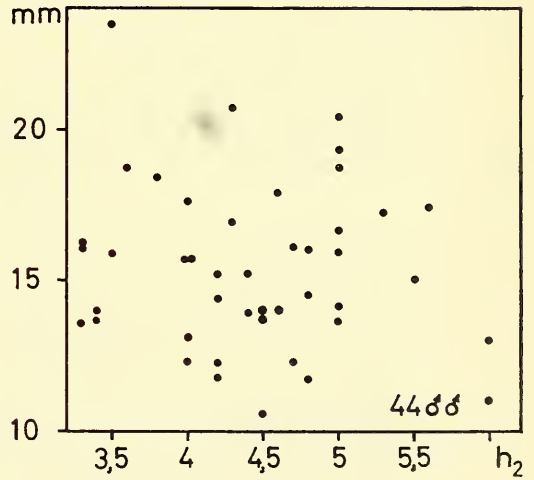
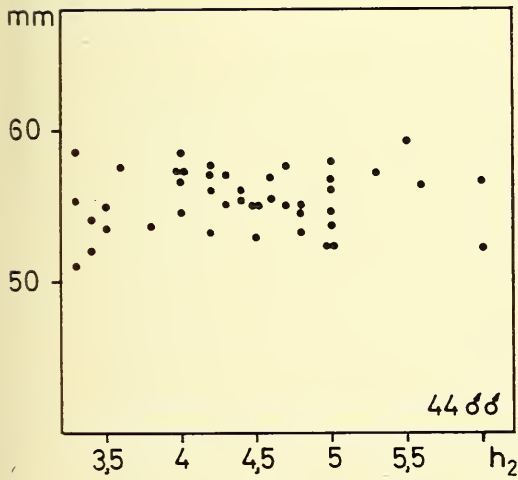


ABB. 6.

a) Abhängigkeit des Faltindex der Frontalnaht von der dorsalen Querwölbung im Bereich des Falteils, b) Abhängigkeit der Breite des Gesichtsschädels von der dorsalen Querwölbung, c) Abhängigkeit der Distanz zwischen den Rosenstöcken von der dorsalen Querwölbung.

jedoch nicht übersehen, dass die mediane Stirnpartie im Bereich der verkeilten Frontalnaht bei den adulten Böcken einen schwachen Wulst bildet. Die Mäanderbildung modifiziert offensichtlich das Querprofil. Während dieses bei den juvenilen Tieren annähernd die Form eines Kreisbogens hat, ist es bei den adulten mehr dachförmig, wobei die mediane Nahtzone wulstig verrundet erscheint (Abb. 7).

Damit ist gezeigt, dass die transversale Stirnwölbung weder die Ursache noch die Folge der Mäanderbildung an der Frontalnaht ist. Sie geht aus dem juvenilen Schädel fast unverändert in den adulten über und erfährt hier durch die Verkeilung der Frontalia eine charakteristische, metrisch jedoch schwer fassbare Modifikation. Ob sie im Gegensatz zur longitudinalen Stirnwölbung, die im Zusammenhang mit der Mäanderbildung auftritt, ein Bedingungsfaktor für die Verkeilungsprozesse an der Frontalnaht darstellt, lässt sich auf dem Wege einer metrischen Analyse nicht entscheiden.

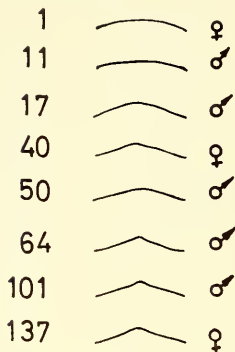


ABB. 7.

Die Veränderung des dorsalen Querprofils im Bereiche des Faltheile der Frontalnaht in Abhängigkeit vom Alter. Die Zahlen geben das Alter der Schädel in Monaten an.

4. SCHLUSSBETRACHTUNG

Betrachten wir die Schädel juveniler, 2-3 Monate alter Rehe, so sehen wir, dass ihre Stirnpartie in der Längs- und in der Querrichtung gerundet ist, und dass die Frontalia mit glatter, gerader Naht zusammenstossen. Die dorsale Rundung der Schädel gibt jene des Gehirns wieder. Im Verlaufe des Wachstums wird die Querwölbung nur geringfügig verstärkt. Die Längswölbung dagegen nimmt bis zum 7. Lebensmonat im Zusammenhang mit der Streckung des Schädels ab, nimmt dann mit Einsetzen der Verfallungsprozesse an der Frontalnaht wieder zu und erfährt am Ende der Wachstumsperiode noch eine sprunghafte Verstärkung, die zeitlich mit dem Abschluss der Mäanderbildung zusammenfällt (Abb. 3).

Bei den Rehgeissen bleibt die dorsale Längswölbung der Stirn hinter derjenigen der Böcke zurück. Wir schliessen daraus, dass die Ossifikationsprozesse bei ihnen weniger intensiv sind,

wohl deshalb, weil bei ihnen keine Stirnzapfen aufgebaut werden müssen. Die Ossifikation der Frontalia geht von lateralen Zentren aus radial vor sich und dabei kommt es an der Frontalnaht infolge des Ossifikationsdruckes zu einer gegenseitigen Verzahnung der Stirnbeine. Materialüberschuss führt darüber hinaus zu einer Verdickung der Frontalia im Nahtbereich und zu einer Verstärkung der Längskrümmung. Wie wir gesehen haben, wirkt sich die Verstärkung der Nahtzone auch im Querprofil aus. Ausser diesen Prozessen ist augenscheinlich auch das Endhirn für die dorsale Längskrümmung verantwortlich.

Die Umschlagstelle, wo der ungefaltete konkave Teil der Frontalnaht in den gefalteten konvexen übergeht, bezeichnet genau den vordersten Punkt des Endhirns. Die Frontalia verwachsen auf der konkaven Nahtstrecke nicht gegenseitig, sondern werden nach der Tiefe zu mit dem Ethmoid verbunden. Die Bildung der Umschlagsränder wird dabei wohl durch die konkave Stirnkrümmung erleichtert oder gar gewährleistet, so dass wir diese als Bedingungsfaktor für das Ausbleiben einer gegenseitigen Verkeilung ansprechen dürfen.

N^o 17. **H. Sägesser und W. Huber**, Bern. — Metrische Beziehungen der Rosenstöcke zum Geweih und zur Frontalnaht beim Reh (*Capreolus capreolus*). (Mit 6 Textabbildungen.)

Naturhistorisches Museum Bern.

1. FRAGESTELLUNG

Die Frontalnaht der adulten Rehe besteht aus einem vorderen gestreckten und einem hinteren gefalteten Teil (Abb. 1, b und a). Der erstere ist bei beiden Geschlechtern gleich lang. Seine adulte Länge ist schon in dem Zeitpunkt festgelegt, da sich der Falteile a zu verkeilen beginnt. Dieser wird anfänglich bei Böcken und Geissen länger, später nur noch bei den Böcken. Bei diesen erreicht er eine Länge von $47,05 \pm 1,11$ mm und ist von demjenigen der

Weibchen von $40,12 \pm 1,06$ mm gesichert verschieden ($P = 2\%$, SÄGESSER und HUBER 1962). Wir haben diese Differenz durch die Entwicklung der Rosenstöcke bei den Böcken erklärt, ohne jedoch den Beweis hiefür zu liefern. Im folgenden sei diese Aussage einer genaueren Prüfung unterzogen. Da sich kein Zusammenhang zwischen Geweihgrösse und absoluter Länge der verkeilten Naht

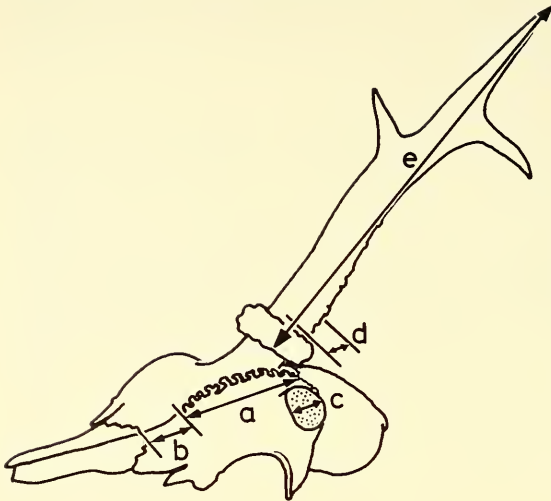


ABB. 1.

Rehschädel,
schematisch, linke
Stange abgesägt.

a = Falteil der Frontalnaht, b = Streckteil, c = Rosenstockdurchmesser, d = Stangendurchmesser (c und d in der Längsrichtung des Schädels gemessen), e = Stangenzahl (vom unteren Rosenrand bis zur Spitze).

nachweisen liess, in dem Sinne, dass bei den Böcken durch intensivere Verkeilung die Naht verstärkt und damit ein selektiver, geschlechtsgebundener Vorteil erzielt würde, erschien es uns zweckmässig, zuerst die Beziehungen der Rosenstöcke zum Geweih zu untersuchen; denn es galt zunächst abzuklären, ob auf einem dickeren Rosenstock auch eine stärkere Stange aufgesetzt wird.

2. MATERIAL UND METHODE

Die Messungen wurden an den gleichen 60 Schädeln (40♂ und 20♀) durchgeführt wie 1962 (l. c.). Zusätzlich wurde das sehr schöne Material von 104 männlichen Rehschädeln der Sammlung Eugen Loeb in unsere Untersuchungen einbezogen, das unserem Museum geschenkt wurde. Diese Tiere wurden alle zwischen 1921 und 1952 in einem Revier bei Seengen (Kt. Aargau) erlegt. Es dürfte sich um einen Grossteil der dortigen Rehböcke handeln.

Es wurden folgende Messungen durchgeführt (vgl. Abb. 1):
Gerade Länge des gefalteten Teils der Frontalnaht (a).

Rosenstockdurchmesser in der Schädellängsrichtung (c).
Durchmesser der Stangen, ca. 5 mm über den Rosen gemessen (d).

Länge der Stangen, vom unteren Rand der Rosen bis zur Spitze (e).

3. METRISCHE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN ROSENSTOCK UND GEWEIH

a) *Das Wachstum der Rosenstöcke.*

Ungefähr im 3. Monat beginnen beim Bockkitz die Rosenstöcke auszuwachsen (Raesfeld 1956). Da beim Erstlingsgeweih noch keine Rose gebildet wird, diese aber bei den folgenden Geweihen immer umfangreicher wird, ist die Länge des Rosenstocks nur in den ersten Lebensjahren messbar. Zudem ist die Messstrecke wegen des parallelen Verlaufs der Stirnzapfen auch gegen den Schädel zu nicht genau begrenzbare, im Gegensatz zum Edelhirsch, wo aus der Länge und Dicke der Rosenstöcke das Alter ziemlich zuverlässig ermittelt werden kann (HARKE 1952). Aus diesem Grunde beschränkten wir uns auf das Dickenwachstum. Abb. 2 zeigt den Verlauf des Dickenwachstums mit zunehmendem Alter (HABERMEHL 1961)¹. Der hier verwendete Durchmesser (Abb. 1, c) wurde in der Längsrichtung des Schädels gemessen (die Stirnzapfen sind annähernd rund). Nach anfänglich stärkerem Anstieg wird die Wachstumskurve allmählich horizontal, um gegen das 7. Lebensjahr zu den Endwert von $21,90 \pm 0,37$ mm zu erreichen. In diesem Alter tragen die Böcke auch das grösste Geweih (LIEDTKE 1920, RAESFELD 1956, p. 34 ff.), das Körpergewicht hingegen ist schon Ende des 4. Lebensjahres weitgehend festgelegt und steigt bis zum 7. Jahr nur noch unwesentlich (BUBENIK 1959 a, 1959 b). Von diesem Zeitpunkt an wird das Geweih Jahr für Jahr zurückgesetzt, die Rosenstöcke bleiben aber gleich dick. Die grosse Variabilität, die sich hier

¹ Wir danken Herrn Ernst Hänni, Abteilung für Jagd und Naturschutz der Kantonalen Forstdirektion Bern, für die Ueberprüfung der Altersbestimmung und Herrn Prof. S. Rosin, Zoologisches Institut der Universität Bern, für die Beratung bei statistischen Fragen.

auch am Material aus Seengen, einem eng begrenzten Gebiet, zeigt, macht das Dickenwachstum für eine genauere Altersbestimmung ungeeignet.

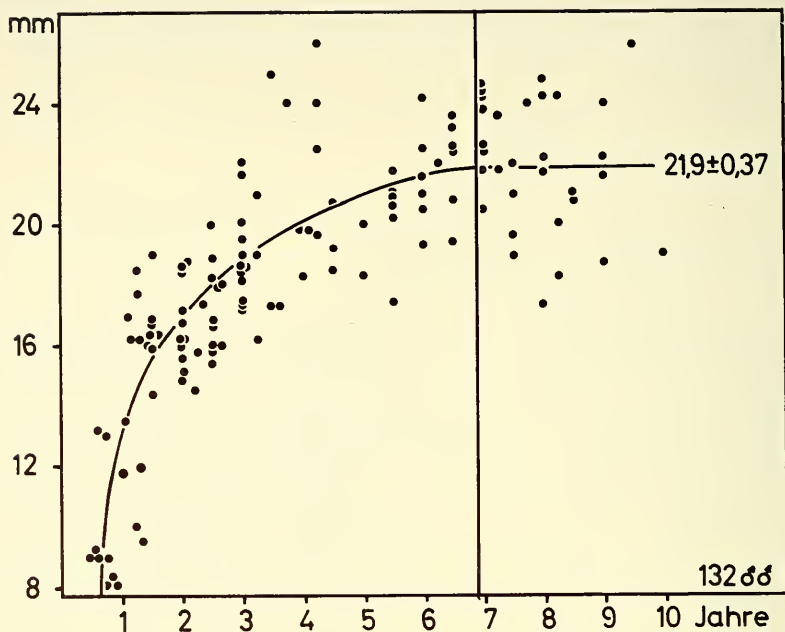


ABB. 2.

Dickenwachstum des Rosenstocks

Ordinate: Durchmesser des dickeren Rosenstocks, Abszisse: Alter.

b) *Die Rosenstockdicke und das Geweih.*

Bei der Betrachtung eines Rehschädels fällt einem auf, dass die Geweihstange trotz der dazwischen liegenden Rose gleich dick erscheint wie der Rosenstock. Abb. 3 setzt die Rosenstockdicke mit der Stangendicke in Beziehung. Jeder Wert entspricht dem Durchschnitt der beiden Durchmesser links und rechts. Da jüngere Böcke dünnere Rosenstöcke und Geweihe haben, ist zum vornherein ein Anstieg der Kurve zu erwarten. Um zu zeigen, wie weit das Alter eine Rolle spielt, wurden verschiedene Altersklassen durch besondere Signaturen bezeichnet. Auch innerhalb dieser Klassen kann eine mehr oder weniger deutliche Korrelation der beiden

Größen festgestellt werden. Der Anstieg der (nicht eingezeichneten) Kurve erfolgt ungefähr unter 45° . Da Abszisse und Ordinate den gleichen Massstab aufweisen, sind also die Stangen durchschnittlich gleich dick wie die dazugehörigen Rosenstöcke.

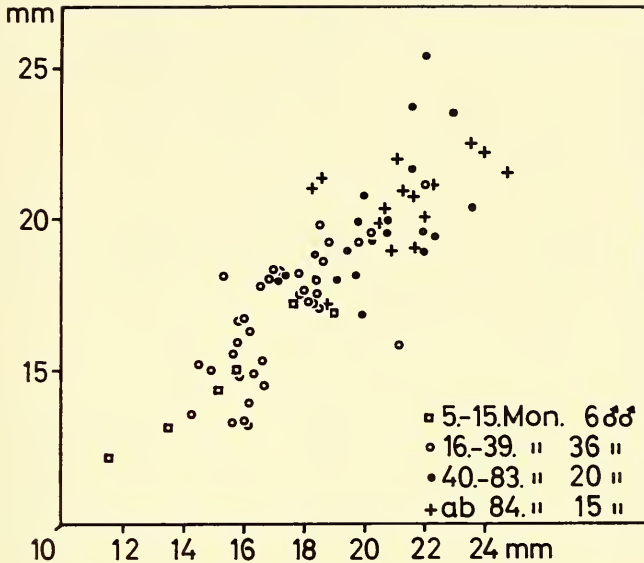


ABB. 3.

Durchmesser von Rosenstock und Stange, dargestellt nach Altersklassen. Ordinate: Mittlerer Durchmesser der beiden Stangen, Abszisse: Mittlerer Durchmesser der beiden Rosenstöcke.

Vergleichen wir bei jedem Tier die linke Seite mit der rechten, dann wird die Aussage unabhängig vom Alter und von der effektiven Dicke. In Abb. 4 stellt das als Kreis dargestellte Zentrum für alle Böcke den Durchmesser von Stirnzapfen und Stange links dar. Die Punkte bezeichnen die entsprechenden Masse rechts. Ist nun der Rosenstock rechts dicker, dann rückt der Punkt entsprechend nach rechts, ist auch die Stange dicker, dann liegt er im Quadranten 1 usw. Bei genauer Proportionalität liegen die Punkte auf der Diagonalen von links unten nach rechts oben. Die 14 Punkte rund um das Zentrum liegen ebenfalls auf dieser Linie. Sie sollten eigentlich genau im Zentrum liegen, denn sie bezeichnen die Böcke, bei denen sowohl Rosenstöcke als auch Stangen beidseitig gleich

dick waren. Falls die beiden Merkmale unabhängig voneinander sind, dann müssen in den Quadranten 1 und 3 gleichviele Punkte liegen wie in 2 und 4. Der P-Wert von 2% (Chi-Quadrat-Test) zeigt, dass dies nicht der Fall ist; es darf also als gesichert gelten,

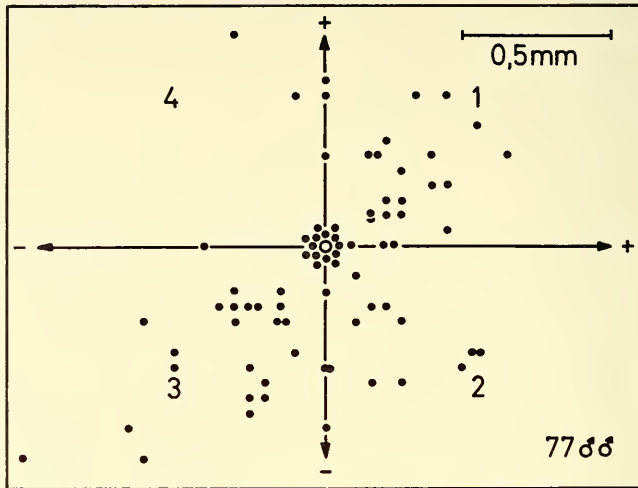


ABB. 4.

Durchmesser von Rosenstock und Stange.

Im Zentrum ist als Kreis unabhängig von der Grösse der linke Rosenstock und die linke Stange aller Böcke dargestellt. Ordinate: Stangendurchmesser (gegen oben: rechte Stange dicker, gegen unten: rechte Stange dünner als linke). Abszisse: Rosenstockdurchmesser (gegen rechts: rechter Rosenstock dicker, gegen links: rechter Rosenstock dünner als linker). Der eingezeichnete Massstab gilt für beide Richtungen. Weitere Erläuterungen im Text.

dass einem dickeren Rosenstock auch die dickere Stange zugeordnet ist. Damit ist erwiesen, dass der Rosenstock die Dicke der Stange bestimmt. Quadrant 4 zeigt überdies, dass wirklich nur selten auf einem dünnen Rosenstock eine dickere Geweihstange aufgesetzt wird; hingegen ist es wohl möglich, dass zuweilen auf einem dicken Stirnzapfen die dünnere Stange steht, möglicherweise als Folge einer gestörten Stangenbildung. 32 Tiere haben rechts eine dickere Stange, 45 eine dünnere. Diese Differenz lässt sich aber nicht sichern ($P = 16\%$).

Das Geweih ist in seinen Proportionen ziemlich festgelegt, wenn auch Missbildungen häufig sind (RAESFELD 1956, p. 29 ff.). Daher

ist zu erwarten, dass auch die Stangenlänge eine Abhängigkeit vom Rosenstock zeigt. Der Vollständigkeit halber sei auch diese Beziehung kurz gestreift: Abb. 5 setzt die längere Stange — als Annäherung an die individuell optimale Ausbildung — in Beziehung zum Rosenstockdurchmesser. Wiederum zeigt sich eine gesicherte

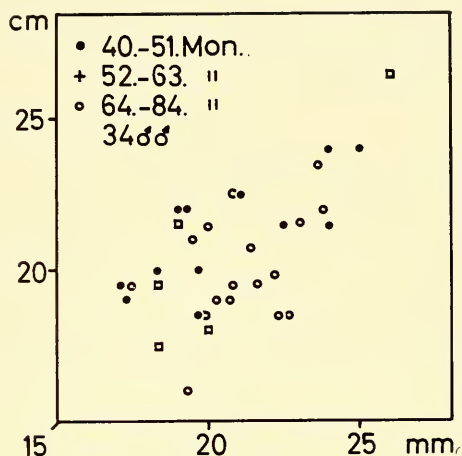


ABB. 5.

Rosenstockdurchmesser und Stangenlänge, dargestellt nach Alterklassen.
 Ordinate: längere Stange, Abszisse: zugehöriger Rosenstock.
 (Statt des + in der Zeichenerklärung ist ein □ zu lesen.)

Proportionalität ($P < 1\%_{00}$, *Corner-Test*). Der Rosenstock als Fundament des Geweihs ist also verantwortlich dafür, ob dieses dick oder dünn, lang oder kurz ausfällt.

4. ROSENSTOCK UND FRONTALNAHT

Wir konnten schon zeigen, dass die Faltung der Frontalnaht keine Beziehung zur Geweihgrösse aufweist (Sägesser und Huber 1962), dass im Gegenteil Böcke und Geissen dieselbe Faltungintensität haben. Hingegen ist der gefaltete Abschnitt (Abb. 1, a) bei den Böcken gesichert länger. Dieser Unterschied könnte dadurch zustande kommen, dass das Ende der Frontalnaht, also ihre Einmündung in die Frontoparietalnaht, nach hinten verlegt wird, weil die Rosenstöcke mit zunehmender Stärke mehr Platz auf den Frontalia beanspruchen. Dass eine solche sekundäre Beziehung

zwischen Naht und Geweih höchstens in geringen Umfange besteht, zeigt Abb. 6: Die Regressionsgerade weicht nicht gesichert von der Horizontalen ab ($P = 12\%$). Das Bestimmtheitsmass von 0,09 zeigt, dass nur 9% der Nahtverlängerung als eine Folge der Rosenstockverdickung betrachtet werden können.

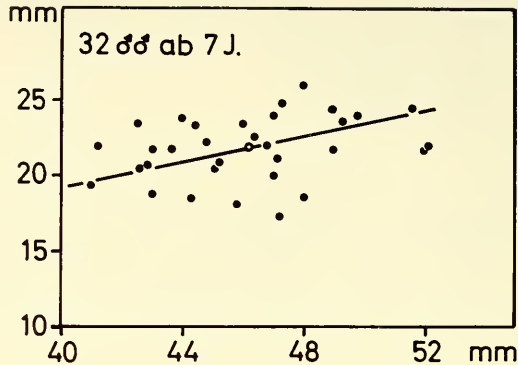


ABB. 6.

Gerade Länge des gefalteten Nahtteils (Abszisse) und Rosenstockdurchmesser (Ordinate, Mittel aus beiden Stirnzapfen).

5. DISKUSSION

Dem Rosenstock kommt naturgemäss eine grosse Bedeutung für die Ausgestaltung des Geweihs zu. Er gilt schon bei fossilen Cerviden als artspezifisches Merkmal (BUBENIK 1957). Aus unseren Befunden darf geschlossen werden, dass eine Verbesserung der Trophäen, wie sie von der Jägerschaft angestrebt wird, nur über den Rosenstock möglich ist. Durch Fütterung, Vitamin- und Mineralzufuhr während der Bildungszeit des Geweihs kann nicht mehr erreicht werden, als durch die Entwicklung des Rosenstockes vorgezeichnet ist (BUBENIK 1959 b, p. 218 ff.). Durch die Fütterung müsste man daher über alle Entwicklungsalter hinweg primär die Rosenstöcke zu fördern suchen.

Die Bewertung der Rehtrophäen nach Punkten erfolgt heute meist nach der Biegerschen Formel (BIEGER 1937). Der grösste Teil der Punkte ergibt sich aus Gewicht, Volumen und Stangenlänge. Die vorliegende Arbeit zeigt die Abhängigkeit dieser Werte vom Dickenwachstum des Rosenstocks.

Die grosse Variabilität macht den Rosenstock- bzw. den Stangendurchmesser für die Altersbestimmung ungeeignet. Immerhin kann mit grosser Wahrscheinlichkeit an den Stirnzapfen ein Alter von einem jungen Bock unterschieden werden.

Die Verlängerung des gefalteten Nahtteils *a* bei den Böcken ist höchstens schwach mit der Dicke der Rosenstöcke korreliert. Da aber die Tatsache des Geschlechtsdimorphismus bestehen bleibt, könnte man annehmen, dass es sich um ein „entweder-oder-Problem“ handelt: Vorhandensein von Stirnzapfen beliebiger Dicke verlängert die Naht, fehlen die Rosenstöcke, dann bleibt die Naht verkürzt. Dies dürfte wahrscheinlich kaum der Fall sein. Leider gibt es fast keine Böcke ohne Stirnzapfen, an welchen die Frage entschieden werden könnte, da nur Kastration des jungen Bockkitzes dauernde Geweihlosigkeit zur Folge hat (sog. „Plattköpfe“, Raesfeld 1956, p. 41, 54). Hingegen wachsen bei 10- und mehrjährigen Weibchen zuweilen richtige Rosenstöcke. Drei solche „gehörnte Geissen“ konnten gemessen werden. Ihre Nahtlänge *a* entspricht dem Durchschnitt normaler Weibchen ($40,12 \pm 1,06$ mm): 36 mm, 40,3 mm, 40,9 mm, obschon die Stirnzapfen Dicken von immerhin 10-17, 4 mm aufweisen. Die Nahtlänge *a* wird also nicht verlängert. Auch die Tatsache, dass die Frontoparietalnaht hinter den Rosenstöcken ausbiegt — dies auch bei alten Weibchen mit meist deutlichem Knochenhöcker an der Stelle der Stirnzapfen — scheint dafür zu sprechen, dass es sich bei der verlängerten Naht um einen echten Sexualdimorphismus handelt, dessen Ursachen uns allerdings unbekannt sind.

LITERATUR

- BIEGER, W. 1937. *Die formelmässige Bewertung unserer Jagdtrophäen*. Verlag Parey, Berlin.
- BUBENIK, A. B. 1957. *Die Bedeutung des Geweihs im Leben und bei der Hege der Geweihträger*. St. Hubertus, H. 8-11.
- 1959 a. *Ein Beitrag zum Problem der Rehwildhege*. St. Hubertus, Heft 2.
- 1959 b. *Grundlagen der Wildernährung*. Deutscher Bauernverlag, Berlin.
- HABERMEHL, K. H. 1961. *Altersbestimmung bei Haustieren, Pelztieren und beim jagdbaren Wild*. Verlag Parey, Berlin.
- HARKE, W. 1952. *Ein neuer Weg zur Altersbestimmung des Rothirsches*. Wild und Hund 55, Heft 12.

- LIEDTKE, R. 1920. *Beiträge zur Frage der Alterserscheinungen am Rehgehörn.* Auszug. aus Diss., Berlin.
- RAESFELD, F. von. 1956. *Das Rehwild.* Verlag Parey, Berlin.
- SÄGESSER H. und HUBER W. 1962. *Die Verteilung der Frontalnaht beim Reh (Capreolus capreolus).* Rev. suisse Zool. 69: 360-369.

N^o 18. **H. Huggel, A. Kleinhaus, M. Hamzhepour.** —
Composition du sang de *Salmo gairdneri irideus* et
*Squalius cephalus*¹. (Avec un tableau dans le texte.)

Laboratoire d'anatomie et physiologie comparée, Université de Genève.

Au cours de nos recherches sur le muscle cardiaque des poissons téléostéens, nous avons à maintes reprises constaté que les solutions physiologiques utilisées jusqu'à ce jour ne donnaient pas entière satisfaction (HUGGEL 1959), constatation qui nous a incité à analyser les électrolytes et les protides contenus dans le sérum de la truite arc-en-ciel et du chevesne (*Salmo gairdneri irideus* et *Squalius* ou *Leuciscus cephalus*).

Nous nous sommes contentés pour le moment de l'analyse des ions Na, K, Ca, Cl, PO₄ inorganique et des protides totaux, d'après l'*ultramicro analytical system* de Beckmann/Spinco, modifié d'après de Dr. SANZ².

Les méthodes appliquées sont les suivantes:

Na⁺: photométrie de flamme à 589 mμ
K⁺: photométrie de flamme à 766 mμ

Les courbes d'étalonnage ont été refaites à chaque analyse.

Ca⁺⁺: microtitration avec l'EDTA à la lumière UV par observation de la disparition de la fluorescence.

¹ Travail subventionné par le Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique.

² Centre de Chimie clinique. bd de la Cluse 30, Genève.

- Cl^- : microtitration avec une solution acide de nitrate mercurique en présence de l'indicateur S — diphényl-carbazone (SCHALES 1941)
- PO_4^{---} : phosphates inorganiques: après précipitation des protéines, le phosphate inorganique est déterminé par réduction de l'acide phosphomolybdique à l'aide d'acide aminonaphtol-sulfonique. La couleur bleue formée est mesurée sur le colorimètre à 650 m μ (FISKE 1925)

Protides totaux: on laisse réagir le biuret avec les protéines et on mesure l'absorption de la couleur violette à 560 m μ (KINGSLEY 1939).

Une analyse ne demande que 55 μl , ce qui a permis de faire 2 à 3 analyses par individu.

Pour la truite, les premières analyses se révèlent assez surprenantes. La teneur de 139,5 meq/l en Na correspondait aux taux trouvés chez les mammifères et chez l'homme, ceci était également valable pour le potassium et le calcium, tandis que la teneur en chlore était plus importante. Le chiffre trouvé pour les phosphates inorganiques représentait le double de celui trouvé chez l'homme, celui des protides la moitié seulement de ces valeurs.

En comparant ces résultats avec ceux obtenus lors d'une deuxième et troisième série d'analyses, nous avons constaté que le taux de Na et Cl était subitement tombé d'environ 40%.

Ces résultats quelque peu contradictoires nous ont incités à contrôler plus rigoureusement le matériel à analyser, afin que la composition électrolytique ne soit pas influencée par des facteurs tels que:

- a) la capture et le transport, qui représentent un stress;
- b) la provenance des animaux, qui joue un rôle primordial. La série II provenait d'un magasin de comestibles où les animaux ont dû subir de l'eau chlorée, un espace trop étroit et une vie sans nourriture;
- c) la prise de sang doit se faire le plus rapidement possible et au froid (env. 5° C). L'hémolyse doit être empêchée.
- d) la nutrition influence la teneur en phosphates et en calcium.

En écartant au maximum les facteurs gênants à l'aide d'améliorations techniques, nous avons examiné 20 animaux de même provenance et tenus dans des conditions rigoureusement identiques. Les analyses successives entre 1 et 12 jours de captivité devaient confirmer notre hypothèse.

Le transport et le déplacement des truites de leur lieu naturel dans un bassin d'élevage représentent un stress, qui se reflète par une augmentation du taux de sodium, de chlore et une diminution des protides. L'équilibre ne se rétablit que lentement en 8 à 10 jours.

Ceci correspond à une décharge de corticoïdes surrénaliens avec une action au niveau rénal, changeant ainsi la composition électrolytique du sang. Ces changements peuvent expliquer les difficultés de maintenir le cœur des téléostéens en vie *in vitro*. La baisse des protides s'explique plus difficilement, toutefois les échanges ioniques entre potassium et protides font penser à une fixation massive du potassium, d'où une diminution au 8^e jour. De toute façon, le taux de potassium change très vite et il est pratiquement impossible d'indiquer un taux moyen idéal. Le calcium suit ses propres lois, probablement en relation avec des hormones parathyroïdiennes, comme l'a prouvé FLEMING en 1961 sur 2 téléostéens; la même règle semble intervenir pour les phosphates inorganiques.

Incontestablement, nous retrouvons chez la truite la même capacité de changer les valeurs électrolytiques que chez le saumon atlantique lors de sa migration (ROBERTSON 1961).

Quelques valeurs sont sensiblement différentes des mammifères. Le sodium reste d'environ 20% en dessous des valeurs des mammifères. La teneur en potassium est égale à celle des mammifères, ainsi que le calcium et le chlore en état d'adaptation. Par contre les phosphates inorganiques représentent le double, et les protides totaux correspondent environ à la moitié des valeurs des mammifères.

Le plus frappant reste la faible concentration en Na et sa forte variation, ainsi que l'énorme variabilité du potassium.

À titre comparatif, nous avons examiné un autre poisson, *Squalius cephalus*, chez lequel nous avons trouvé des valeurs égales à tous les stades d'analyses. Les 9 individus analysés ne montrent pratiquement pas de variations, sauf pour le potassium, ce qui est

		Na+	K+	Cl-	Ca++	PO ₄ ---	Prot. tot.
		meq/l	meq/l	meq/l	mg/100	mg/100	g/100
Sahno gairdneri iri- deus	Série I	139,5	4,02	124,5	8,3	12,02	2,78
	» II	88,2 (-37%)	5,8	74,5 (-40,5%)	10,9	—	—
	» III	121	4,9	102	12,3	—	—
Sahno gairdneri indeus	1-4 jours	139,2	4,66	128,1	8,96	9,54	3,72
	6 »	129,5	4,32	107,8	10,54	11,5	3,92
	8 »	122,1	2,06	99,6	9,82	16,6	4,83
	12 »	115,5	5,11	98,1	7,24	11,4	4,27
		-17%	-9,5%	-23,5%	-19,4%	+19,2%	+15,1%
Squalus cephalus (9 ind.)	sang rénal	140,5	3,42	119,0	8,49	6,74	4,16
	sang caudal	140,7	4,22	121,1	8,74	7,41	4,47
Squalus cephalus (3 ind.)	sang rénal	141,0	hém.	118,1	8,62	6,65	4,51
	sang card.	140,5	hém.	118,5	8,35	6,42	4,58

normal. Grâce à cette régularité des valeurs, il a été possible de comparer les différentes méthodes de prises de sang. La prise de sang dans les reins ou dans la veine caudale ne montre aucune différence, pas plus que la prise de sang simultanée sur le même individu par ponction cardiaque et rénale. Seule la ponction cardiaque provoque très vite une hémolyse, qui augmente la teneur en potassium.

La truite se distingue nettement par sa très grande sensibilité aux facteurs externes, tandis que les réactions du chevesne sont analogues à celles de la plupart des Téléostéens (carpe, baudroie) telles qu'elles ont été décrites par divers auteurs (FIELD 1943, OGASAWARA 1953, BRULL et NIZET 1953).

BIBLIOGRAPHIE

- ALTMANN Ph. L. 1961. *Blood and other Body Fluids*. Biological Handbooks, Federation of American Societies for Experimental Biology p. 45-46.
- BRULL L. and NIZET E., 1953. voir Ph. L. ALTMANN.
- FIELD, J., 1943. Voir Ph. L. ALTMANN.
- FISKE, C. H. et SUBBAROW, Y., 1925. *The colorimetric determination of Phosphory*. J. Biol. Chem. 66: 375.
- FLEMING W. R., MEIER A. H., 1961. *Futher studies on the effect of mammalian parathyroidal extract on the calcium levels of two closely related teleosts*. Comp. Biochem. Physiol. 3: 27-9.
- HUGGEL H., 1959. *Experimentelle Untersuchungen über die Automatie, Temperaturabhängigkeit und Arbeit des embryonalen Fischherzens unter besonderer Berücksichtigung der Salmoniden und Scylliorhiniden*. Ztsch. vgl. Physiol. 42: 63-102.
- KINGSLEY G. R., 1939. *The determination of serum total Protein albumin and globulin by the Biuret reaction*. J. Biol. Chem. 131: 197.
- NEUHOLD J. M., SIGHER W. F., 1962. *Chlorides affect the toxicity of fluorides to rainbow trout*. Science 135: 732.
- OGASAWARA K., 1953. voir Ph. L. ALTMANN.
- ROBERSTON O. H., KREPP M. A., FAVOUR C. B., HANES Th. S. F., 1961. *Physiological changes occuring in the blood of the Pacific salmon*. Endocrinology 68: 733.
- SANZ M., 1963. Communication personnelle.
- SCHALES et SCHALES, 1941. *A simple and accurate method for the determination of Chloride in biological fluids*. J. Biol. Chem. 140: 879.
-

N^o 19. **Yvette Kunz.** — Die embryonale Harnblase von *Lebistes reticulatus* (Guppy). (Mit 7 Textabbildungen.)

Zoologische Anstalt der Universität Basel.

Der in Aquarien häufig gehaltene Zahnkarpfen *Lebistes reticulatus* macht seine gesamte Embryonalentwicklung im Follikel des mütterlichen Ovars durch. — Anlässlich vergleichender Studien über die Dotterresorption verschiedener Teleostier (unpubliziert) haben wir beobachtet, dass bei *Lebistes* im Verlaufe der Embryonalzeit die Harnblase (Hbl) sich ungewöhnlich stark vergrössert und kurz vor der Geburt entleert wird. Durch das Schrumpfen der Blase werden die gesamten Dotterreste eingezogen, sodass der Guppy ohne äusserlichen Dottersack geboren wird.

RESULTATE

Beim 10-tägigen Embryo liegt die Hbl in typischer Lage und Proportion dorsal über dem Enddarm. Sie wird cranial durch die

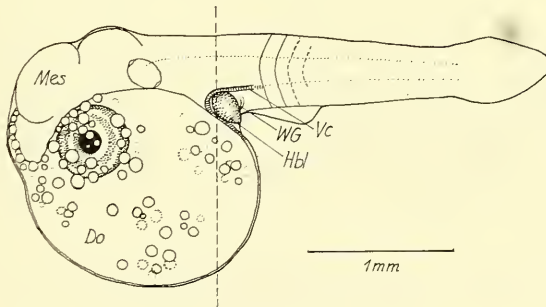


ABB. 1.

10-tägiger Embryo, aus Follikel und Eihülle befreit.
Harnblase in normaler Grösse und Lage.
--- Schnitttrichtung für Abb. 2

auf den Dottersack absteigende Vena caudalis begrenzt. Caudo-dorsal münden die Wolff'schen Gänge ein (Abb. 1 und 2).

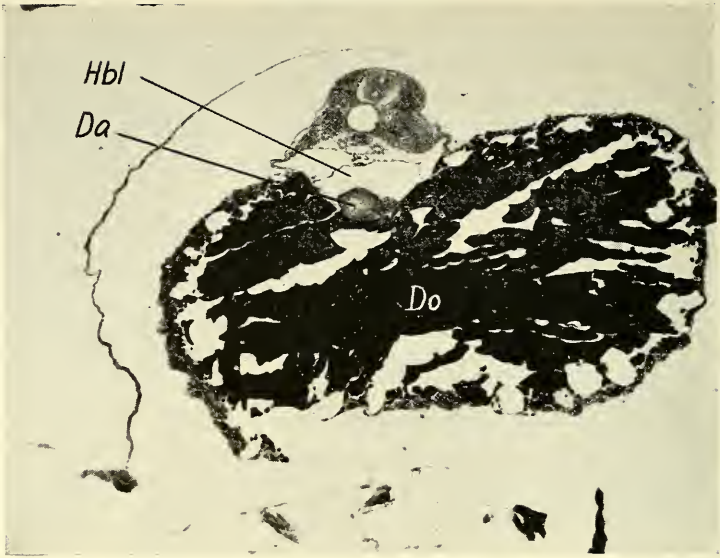


ABB. 2.

10-tägiger Embryo, Querschnitt
Harnblase in normaler Grösse und Lage

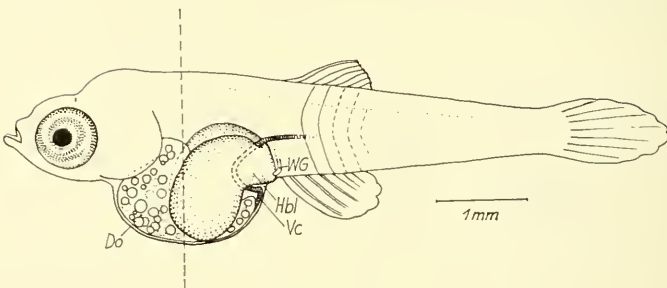


ABB. 3.

25-tägiger Embryo, aus Follikel und Eihülle befreit.
Stark erweiterte Harnblase
--- Schnittrichtung für Abb. 4

Nun setzt die Wachstumsperiode ein. Am 20. *eT* umgreift die Hbl caudal bereits den Darm; cranial stösst sie als zweilappige Blase bis zur Leber vor und füllt das gesamte übrige, erweiterte Coelom aus. Ihr Volumen vergrössert sich weiterhin (Abb. 3, 4) und nimmt

am letzten Embryonaltag (30. *eT*) bis auf die Dotterreste den gesamten Raum des früheren Dottersackes ein.

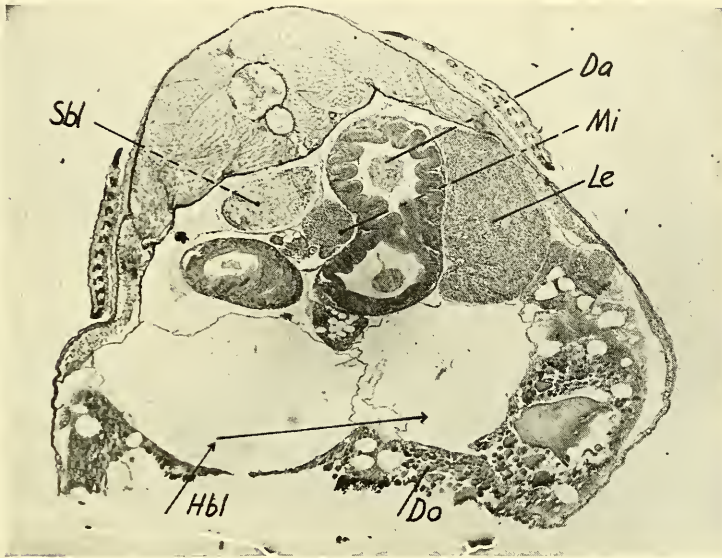


ABB. 4.

25-tägiger Embryo, Querschnitt
Stark erweiterte Harnblase

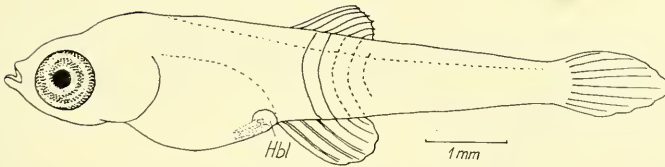


ABB. 5.

Neugeborener
Harnblase geschrumpft

Unmittelbar vor dem Verlassen der Eihülle und der daran anschließenden Geburt entleert der Embryo die Hbl (Abb. 5). Das histologische Bild der *Neugeborenen* (Abb. 6) zeigt die stark geschrumpfte Blasenwand. — In den ersten Postembryonaltagen organisiert sich das gefaltete Epithel zu einer dicken Wand, und

die Blase liegt nun wieder völlig in der ursprünglichen Lage und normalen Grösse über dem Enddarm (Abb. 7).

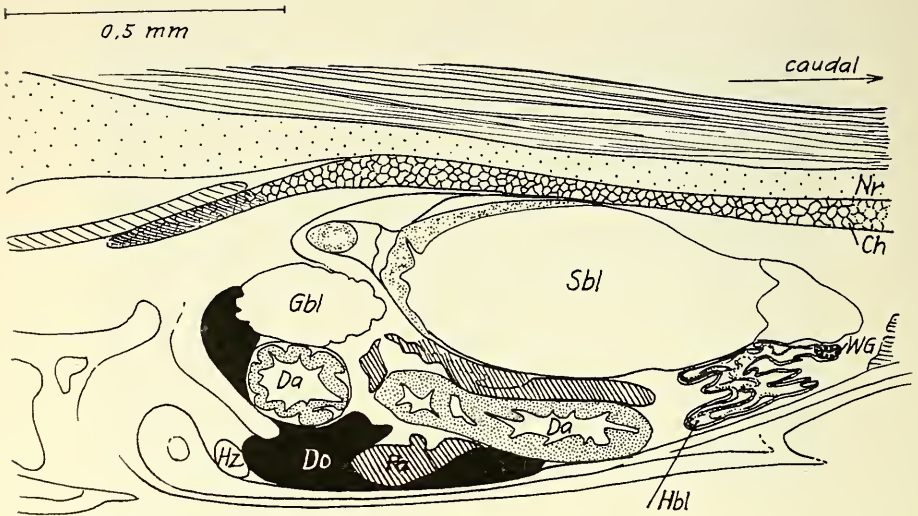


ABB. 6.

Neugeborener, sagittaler Längsschnitt
Harnblase geschrumpft

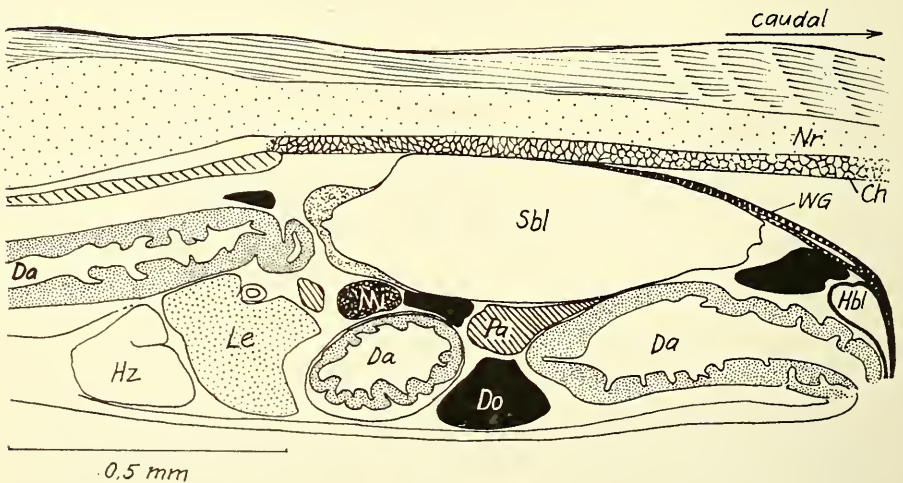


ABB. 7.

Erste Postembryonaltage, sagittaler Längsschnitt
Harnblase in ursprünglicher Lage und normaler Grösse

DISKUSSION

Obwohl die Embryonalentwicklung von *Lebistes* schon wiederholt bearbeitet wurde, ist die Vergrößerung der Hbl nicht beobachtet worden. Dies rührt wohl daher, dass durch Reizung beim Präparieren oder Fixieren die Embryonen durch Kontraktion der Körperseitenmuskulatur ihre Hbl augenblicklich entleeren. Die Kollabierung der Blase kann nur durch vorgängige Narkose des intakten Ovars grösstenteils verhindert werden.

Verschiedene Autoren erwähnten bei anderen Poeciliiden eine grosse Blase, haben diese aber nicht mit der Hbl identifiziert, so als erster DUVERNOY (1844) bei *Poecilia surinamensis*. 1885 erwähnt RYDER bei *Fundulus majalis* „the body cavity under the axis of the embryo is a deep sinus“. BAILEY (1933) beobachtete bei *Xiphophorus helleri* „a clear vesicle, the enlarged coelom“ und bemerkt, dass die Einziehung des Dotters bei der Geburt durch „retraction“ von Coelomflüssigkeit vor sich zu gehen scheine. TURNER (1940) beschreibt bei verschiedenen Formen einen „Belly Sac“, der im vorderen Teil vom Perikard, im hinteren vom Coelom eingenommen werde.

Die Harnblase wurde ausdrücklich nur in wenigen Arbeiten über Poeciliidae erwähnt (RYDER (1885) bei *Gambusia patruelis*, OPPENHEIMER (1937) bei *Fundulus heteroclitus* und TAVOLGA (1949) bei *Platypoecilus*). Ausser Ryder beschrieben sie alle die Blase als zweilappig; keiner jedoch beobachtete die oben erwähnten Verwandlungen. Nur FRASER (1940) erkannte bei *Heterandria formosa* Phaenomene, die den von uns bei *Lebistes* beobachteten entsprechen.

Fraser diskutiert die *Homologie* der embryonal erweiterten Harnblase von *Heterandria* mit der Allantois und beruft sich auf KUPFFER (1866), der die Harnblase der Teleostier mit der Allantois der höheren Vertebraten verglichen hat. Es hat sich indessen herausgestellt, dass die von Kupffer beschriebene Blase eine frühembryonale Umwandlung der postanaln Darmzone ist, die darum heute als Kupffer'sche Blase bezeichnet wird. Die Harnblase erscheint erst viel später als dorsale Abschnürung der Kloake, zu der später noch mesodermale Elemente hinzukommen (FELIX, 1898).

Die *physiologische Bedeutung* der embryonalen Harnblase sieht Fraser in der Speicherung von Harn. Auch die Möglichkeit einer respiratorischen Funktion wird diskutiert, d.h. eines Ueberganges dieser Funktion vom Perikard auf die Harnblase während der Entwicklung. Es muss hier erklärend beigelegt werden, dass sowohl *Heterandria* als auch *Lebistes* ein stark erweitertes Perikard aufweisen, das in den Frühstadien wie eine Kapuze den Kopf umhüllt und dessen Aussenwand vom Dotterkreislauf durchzogen wird.

Uns scheint, dass die Hauptfunktion der erweiterten Hbl mechanischer Natur ist. Durch ihre Ausdehnung sichert sie während der gesamten Embryonalentwicklung, dass das Dottersack-Gefässnetz an die Follikelwand, also den mütterlichen Kreislauf, angepresst bleibt. Ob nun der Dottersack-Kreislauf nur zur Respiration oder auch zur Ausscheidung oder zur Resorption von Nahrungstoffen dient, ob eventuell auch die Harnblase, via Dotterkreislauf oder direkt, mit dem Ovarialkreislauf Stoffe austauscht, jedenfalls bleibt der nahe Kontakt zum mütterlichen Kreislauf auf diese Weise gesichert. Wir sehen hier eine Analogie zur sehr grossen Allantois der Raub- und Huftiere mit gedehnter Plazenta (PORTMANN, 1948), bei der die Durchdringung von mütterlichem und foetalem Gewebe weit geringer ist als bei der massigen Plazenta, wie sie z.B. Nager und die meisten Primaten kennzeichnet.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Harnblase des viviparen *Lebistes reticulatus* vergrössert im Laufe der Embryonalzeit ihr Volumen weit über die bei eierlegenden Teleostiern bekannte Grösse, bis sie fast den gesamten Raum des früheren Dottersackes ausfüllt.

2. Unmittelbar vor Verlassen der Eihülle und der anschliessenden Geburt wird die Harnblase sehr rasch entleert und nimmt nun gruppentypische Dimensionen an.

3. Funktionelle Analogien zur Rolle der Allantois bei Amnioten, insbesondere Säugetieren mit gedehnter Plazenta, werden diskutiert.

SUMMARY

1. The urinary bladder of the viviparous *Lebistes reticulatus* enlarges far beyond the usual size found in oviparous teleosts.

At the end of the embryonic period it has increased so greatly that it almost fills the space originally occupied by the yolk.

2. Immediately before hatching and subsequent birth the urinary bladder empties very rapidly and assumes the group-specific dimensions.

3. Functional analogies are discussed to the rôle of the allantois in amniotes, especially in mammals with extensive (gedehnter) placenta.

LITERATUR

- BAILEY, R. J., 1933. *The ovarian cycle in the viviparous teleost Xiphophorus helleri* Biol. Bull. 64: 206-225.
- DUVERNOY, H., 1844. *Développement de la poecilie de Surinam (P. surinamensis Val.)* Ann. Sci. nat. 3, Ser. Zool. 1: 313.
- FELIX, W., 1898. *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Salmoniden: "Enddarm, Schwanzdarm und Harnblase"* Anat. Hefte 8: 427-443.
- FRASER, A. E., 1940. *Observation on the Breeding and Development of the viviparous fish Heterandria formosa* Quart. J. Micr. Sc. 81: 479-520.
- KUPFFER, C., 1866. *Untersuchungen über die Entwicklung des Harn- und Geschlechtssystems* Arch. mikr. Anat. 2: 473-488.
- OPPENHEIMER, J. M., 1937. *The normal stages of Fundulus heteroclitus*. Anat. Rec. 68: 1-16.
- PORTMANN, A., 1948. *Einführung in die vergleichende Morphologie der Wirbeltiere* p. 278-286. B. Schwabe, Basel.
- RYDER, J. A., 1885. *On the Development of Viviparous osseous fishes*. Proc. U.S. Nat. Mus. 8: 128-155.
- TAVOLGA, W. N., 1949. *Embryonic Development of the Platyfish (Platy-poecilus), the Swordtail (Xiphophorus) and their Hybrids*. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 94: 167-229.

Für die Ausführung der Zeichnungen danke ich Frl. M. Rufener und Frl. E. Sandmeier bestens.

Ch	Chorda	Mes	Mesencephalon
Da	Darm	Mi	Milz
Do	Dotter	Nr	Neuralrohr
Gbl	Gallenblase	Pa	Pankreas
Hbl	Harnblase	Sbl	Schwimmbläse
HZ	Herz	Vc	Vena caudalis
Le	Leber	WG	Wolf'scher Gang

Auf den Abbildungen 1 und 3 wurde der Dotterkreislauf weggelassen.

N^o 20. **F. E. Lehmann und M. Henzen**, Bern. — Zur
Mikrocytologie der Meiose und Mitose von *Tubifex*.¹
(Mit 2 Textabbildungen und 2 Tafeln.)

Zoologisches Institut der Universität Bern.

Mitose und Meiose sind vorzüglich geeignete zellbiologische Modelle beim Ei des *Tubifex*. Hier wurden in den letzten 20 Jahren die Phänomene der mitostatischen Beeinflussung des Teilungsapparates durch Antimitotica studiert. Ferner gelang es uns, der mikrocytologischen Strukturbildung auf elektronenmikroskopischen Schnitten wesentlich näher zu kommen, da wir eine besser befriedigende Fixierungstechnik angewendet haben (s.u.). Wir mussten uns im Laufe der Jahre überzeugen, dass die cytologischen Strukturveränderungen während der Mitose allein nicht genügen, um eine ausreichende Vorstellung vom Mitosegeschehen zu entwickeln. Elektronenmikroskopische Strukturbilder sind unerlässlich.

Es kam uns schliesslich darauf an, die mikrocytologischen Bilder des Elektronenmikroskops mit den cytologisch gefärbten Schnitten des Lichtmikroskopes direkt zu vergleichen. So ist es uns in der Tat gelungen (LEHMANN, HENZEN, GEIGER 1962), die cytologischen mit den mikrocytologischen Strukturen in Beziehung zu setzen.

Wir hatten uns in den letzten 20 Jahren bereits bemüht, durch cytologische Bilder von Meiose und Mitose die Mitosephysiologie bei *Tubifex* aufzuklären. Wir möchten nun im folgenden weitere Phänomene der Meiose und der Mitose mit mikrocytologischen und cytologischen Methoden untersuchen. Wohl werden sich die Gelkörper von Spindel und Aster optisch abgrenzen lassen, zugleich aber wird sich die Feinstruktur der Gelkörper und des Cytoplasmas als sehr komplex zusammengesetzt darstellen (Mikrosomen und Mikrofibrillen, Mitochondrien).

Der Ablauf der Meiose ist beim *Tubifex*-Ei eng verknüpft mit der Aussonderung zweier Endoplasmabezirke, der *Polplasmen*, die am Ende der Reifung, kurz vor der ersten Furchungsteilung

¹ Mit Unterstützung der Eidg. Kommission zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes.

an den beiden Eipolen als scharf begrenzte Plasmaanhäufungen in Erscheinung treten. Diese Polplasmen stellen eigentliche morphogenetische Plasmen dar: sie bestimmen die Ausbildung der ektodermalen bzw. mesodermalen Organanlagen. (PENNERS 1934, 1937). Es sind Zellbereiche, die sich durch gezielte Zentrifugierungen umschichten und dislozieren lassen (v. PARSEVAL 1922, LEHMANN 1940). Sie weisen ferner auch cytochemische und feinstrukturelle Besonderheiten auf: die positiv ausfallende Nadi-Reaktion zeigt das Vorhandensein von Cytochromoxydase, die ihrerseits an die Mitochondrien als Fermentträger gebunden ist (LEHMANN 1944). Dass die Mitochondrien den integrierenden Bestandteil des Polplasmas bilden, war auf Grund der Nadi-Reaktion und an Hand der histologischen Bilder zu vermuten. Die mikrocytologische Untersuchung erbrachte dazu den Beweis (LEHMANN 1950, WEBER 1958).

Unter den vorhin erwähnten Gesichtspunkten sollen in dieser Mitteilung einige Beobachtungen zu den Vorgängen der Eireifung dargelegt werden.

MATERIAL UND METHODE

Die Eier, die sich aus der Institutzucht jederzeit beschaffen liessen, wurden mit feinen Pincetten aus den Coconhüllen befreit. Hatten die Eier noch nicht das gewünschte Stadium erreicht, wurden sie in die Lehmann-Zuchtlösung übergeführt und bei Zimmertemperatur bis zum gewünschten Entwicklungsstadium darin belassen. Als Fixiergemisch diente das Fixativ „E“ (LEHMANN-MANCUSO 1958), eine saure, chromhaltige Osmiumlösung, die für Faserstrukturen und Mitochondrien gute Resultate liefert (LEHMANN-MANCUSO 1957). Für die histologischen Untersuchungen wurden die Keime in Agar vor- und in einer Asphalt-Gummiparaffinmischung definitiv eingebettet und in einer Dicke von 5-3 μ geschnitten. Zur Färbung diente eine Säurefuchsin-Lichtgrün-Lösung, die die Faserstrukturen, die Dotterpartikel und Mitochondrien gut zur Darstellung brachte.

Waren die Keime für die Untersuchung im Elektronenmikroskop (Typ Siemens Elmiskop) bestimmt, erfolgte nach der gleichen Fixierung die Einbettung in Metacrylat 8:2 oder in Vestopal W nach KELLENBERGER. Auf einem Porter-Blum Mikrotom wurden die Blöcke in einer Dicke von 0,07-0,1 μ geschnitten und die auf

Formvarfolien aufgezogenen Schnitte mit Bleiazetat kontrastiert (KARNOVSKY 1961).

ERGEBNISSE

a) *Meiose.*

Die erste Reifeteilung im Tubifex-Ei beginnt noch im Eisack des Muttertieres; im frisch abgelegten Ei befinden sich die Chromosomen bereits in der Metaphase. Die auf diesem Stadium durchge-

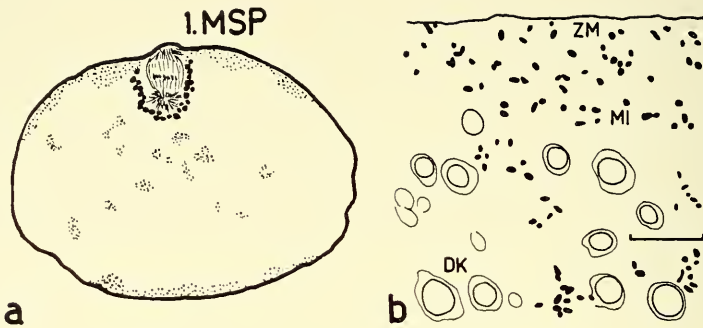


ABB. 1.

Ei kurz nach der Ablage; die Chromosomen befinden sich in der Metaphase der 1. meiotischen Teilung.

- a) Schnittschema eines Paraffinschnittes. Meiosespindel (1. MSP), mitochondrienreiche Plasmainseln.
- b) Überzeichnung einer elektronenmikroskopischen Aufnahme durch die Rinde. Das Ei wird nach aussen abgeschlossen durch die Zellmembran (ZM), dann folgt eine dünne Schicht Mitochondrien (MI) und schliesslich die groben Dotterkörner (DK) mit den gegen die Eimitte zu in Gruppen auftretenden Mitochondrien. Originalvergrößerung 1.000x. Masstabeinheit: 5 μ .

führte Nadi-Reaktion zeigt eine diffuse Blaufärbung der ganzen Eioberfläche. Anscheinend liegen die Mitochondrien in der Rinde verstreut. Unsere histologischen Schnitte haben gezeigt, dass, im Einklang mit den histochemischen Befunden, Mitochondrien in der dünnen Rindenschicht zu finden sind, dass aber der Hauptanteil des Polplasmamaterials als kleine Mitochondrieninseln zwischen den Dotterkugeln eingebettet liegt (Abb. 1) und somit bereits zu Beginn der Meiose in beträchtlichen Mengen im Innern des Eis segregiert ist.

Die hauptsächlichen Elemente des Spindelapparates sind mit Ausnahme der Centriolen mehr oder weniger deutlich zu erkennen; die Metaphasespindel der Meiose zeigt einen ausgeprägt fibrillären

Charakter und deckt sich gut mit dem Bild, das INOUÉ (1952) auf Grund seiner in vivo-Beobachtungen an Chaetopterus-Spindeln entworfen hat. Der ganze Meiosebereich weist praktisch keine Mitochondrien auf, aus dem umgebenden Cytoplasma reichen nur vereinzelte Lipoidtropfen zwischen die Fibrillen hinein (Tafel I). Die Spindel selbst zeigt zahlreiche lange, zum Teil parallel angeordnete Fibrillen.

Die Asteren sind, wie bei vielen Arten mit Spiralfurchung, recht grosse Strukturen, besonders auch bei den Mitosespindeln. Sie bestehen ebenfalls aus fibrillärem Material, das sehr schwach elektronenabsorbierend ist, und einer Anzahl dichter, mikrosomenartiger Partikel, die den Fibrillen aufsitzen. Am Metaphaseaster lassen sich zwei verschiedene Strukturbereiche abgrenzen: die Zone der Centrosphäre ist frei von jeglichen Partikeln; sie enthält ein sehr dichtes und eng übereinander gelagertes Retikulum. Die Peripherie weist sehr langgestreckte Fasern auf, die deutlich radial, zum Teil recht weit ins umliegende Plasma hinauslaufen.

Es wurde schon darauf hingewiesen, dass die Eiorganisation von *Tubifex* kurz vor dem ersten Mitoseschritt ihre deutlichste Gliederung erreicht mit der Ansammlung des Polplasmas an den beiden Eipolen. Es hat sich nun gezeigt, dass diese während der ganzen Meiose des Eis ablaufende Aussonderung des Plasmamaterials eng verknüpft ist mit ganz typischen Veränderungen der Eioberfläche: in rhythmischem Wechsel tritt parallel mit der Ausstossung der Richtungskörper ein bestimmtes Muster von Protuberanzen auf (WOKER 1944). Zur Verteilung des Bildungsplasmas in diesem Stadium sind vor allem zwei Erscheinungen festzuhalten:

1. die Zahl der Plasmainseln verkleinert sich merklich und verschwindet schliesslich bis am Ende der zweiten Reifeteilung vollständig. Das Dottermaterial erscheint viel geschlossener und dichter.
2. gleichzeitig mit der Verminderung des mitochondrienhaltigen Plasmas im Eiinnern hat sich die Zone des subkortikalen Plasmas im Bereiche des Richtungskörpers und der Protuberanzen vergrössert.

Untersuchungen über die Verteilung von ungesättigten Fettsäuren im *Tubifex*-Ei (HESS 1959) — diese Fettsäuren sind als

Bausteine funktionell wichtiger Zellorganelle unter anderem auch in den Mitochondrien anzutreffen — ergaben, dass speziell die Stadien dieser Oberflächenunruhe sehr intensiv auf ungesättigte Fettsäuren reagierten, und zwar vor allem die Zonen der Protuberanzen. Es schien, dass dieses intensive Auftreten der Lipide verknüpft sei mit einem vermehrten Auftreten von Mitochondrien. Unsere mikrocytologischen Bilder haben eindeutig ergeben,

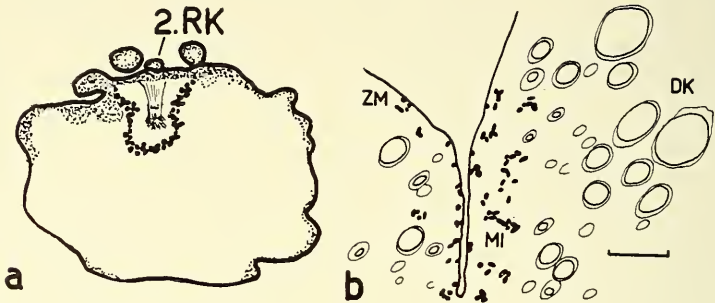


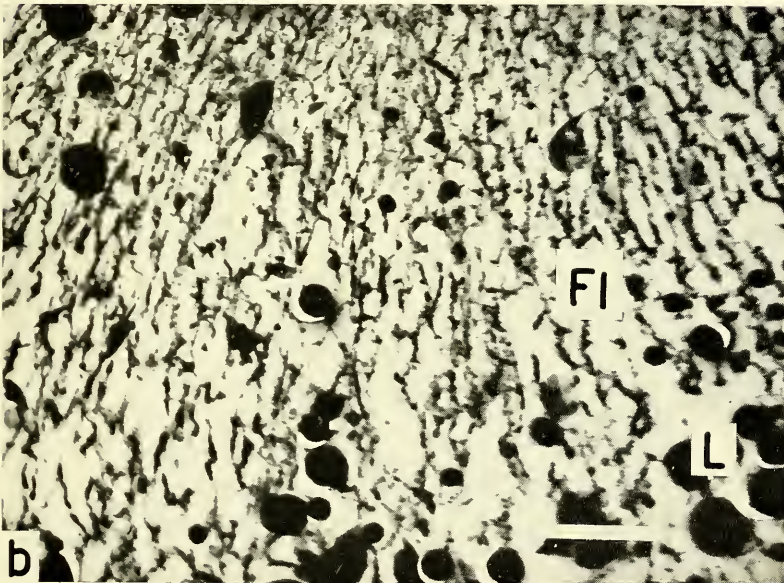
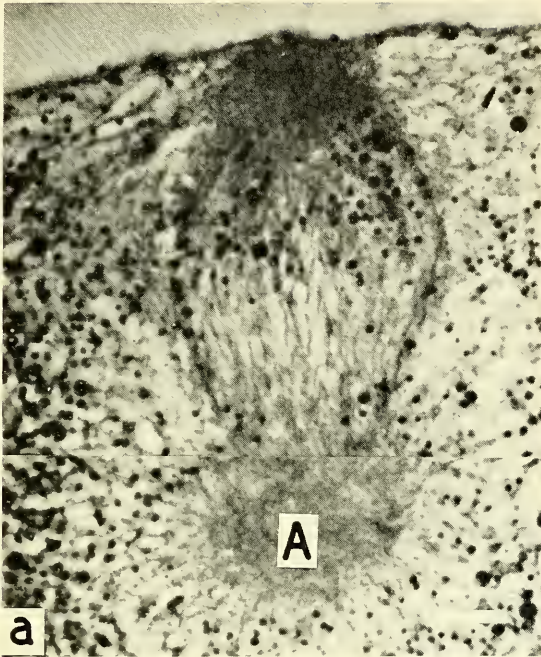
ABB. 2.

- Die Oberflächenverformung während des Ausstossens des Richtungskörpers.
- a) Schnittschema eines Paraffinschnittes. Die Mitochondrien sammeln sich unter der Rinde in der Nähe der Spindel und in den Ausbuchtungen der Protuberanzen an.
 - b) Das mikrocytologische Bild (Ueberzeichnung einer EM-Aufnahme) zeigt deutlich die in Gruppen zusammengezogenen Mitochondrien in einer Protuberanzenfurche. Originalvergrößerung 1.000x. Masstab einheit: 5 μ . Bezeichnungen wie in Abb. 1.

dass sich in den Furchen der Protuberanzen die Mitochondrien ganz auffällig zu kleinen Gruppen ansammeln. Es scheint also so zu sein, dass während der wahrscheinlich viel Energie verbrauchenden Phasen der amöboiden Oberflächenunruhe die Mitochondrien als Träger eines ganzen Fermentmusters eine wesentliche Rolle spielen und deshalb unter dem Einfluss einer Rindenaffinität aus dem Zellinnern in die Zonen erhöhter Zellaktivität, d.h. der Richtungskörperaustrittstelle sowie der Ausbuchtungen verlagert werden (Abb. 2).

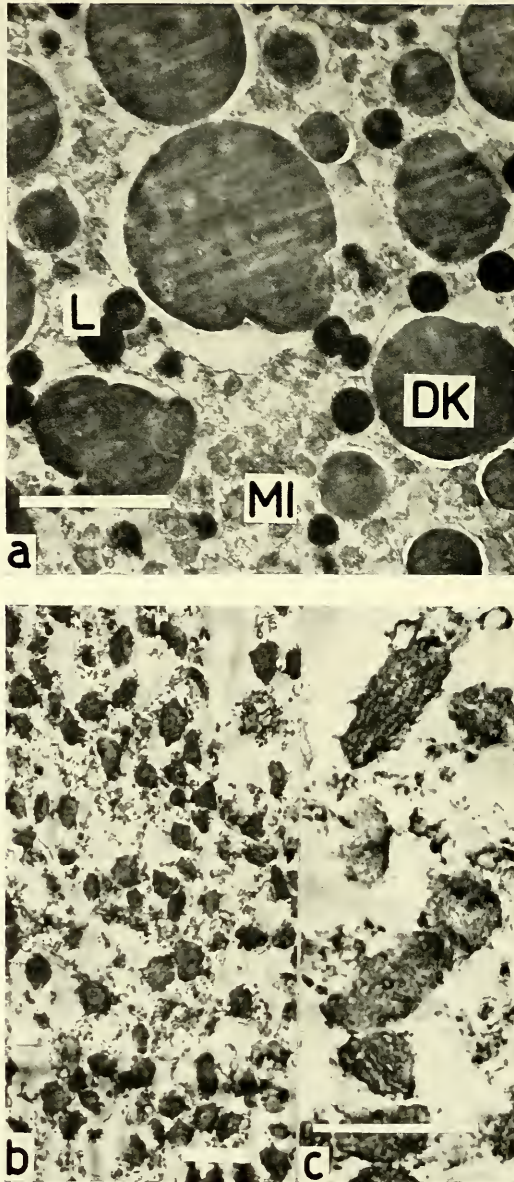
b) *Mitose.*

Vor der ersten Mitoseteilung ist die ooplasmatische Segregation der Polplasmen unter beträchtlicher Vermehrung des mitochon-



Aufbau und Struktur der Meiosespindel.

- a)* Paraffindünnschnitt zeigt die Fibrillenstruktur. Beide Astere (A) sind ungefähr gleich gross. Lipoidtropfen sind als einzige Zellpartikel vereinzelt im Spindelbereich zu finden. Masstabeinheit: 10 μ .
- b)* Elektronenmikroskopischer Schnitt durch den peripheren Bezirk des zellinneren Asters. Deutlich sind die radial verlaufenden Fibrillen (FI) erkennbar. Die leichte Unschärfe ist bedingt durch den etwas dicken Schnitt. Originalvergrösserung 1.000x. Masstabeinheit: 5 μ .



Das Ei steht kurz vor der ersten Furchungsteilung und hat die Polplasmen abgegrenzt.

- a) Em-Aufnahme aus dem Eioplasma: Dotterkörner mit Plasmahülle, Lipid-tropfen (L) und vereinzelte Mitochondrien, (MI). Originalvergrößerung 1.000x. Masstabeinheit: 5 μ .
- b) Ausschnitt aus dem animalen Polplasma: dichte Mitochondrienpopulation. Originalvergrößerung 5.000x. Masstabeinheit: 1 μ .
- c) Die Mitochondrien weisen eine aus Längskanälchen bestehende Feinstruktur auf. Originalvergrößerung 10.000x. Masstabeinheit: 1 μ .

drienreichen Materials vollendet: die Plasmakappen greifen von beiden Polen her tief ins Eiinnere und verdrängen die Dottermasse in die Äquatorebene. Im Innern entsteht eine grosse, heteropolare Spindel. Auch hier lassen sich, bei der Spindel wie beim Aster, die parallel oder radial gerichteten Fibrillen gut erkennen.

Das Polplasma erscheint im cytologischen Bild als eine dichte Packung von Mitochondrien, die sich als derbe Granulierung scharf gegenüber dem Kernbereich abheben. Das mikrocytologische Bild zeigt uns eine ziemlich reine Population von Mitochondrien; es sind granuläre oder stäbchenförmige Mitochondrien, die eine aus Längskanälchen bestehende Feinstruktur aufweisen (WEBER 1958). Zwischen den Mitochondrien eingelagert erkennt man „osmiophile Bläschen“, die Chromidien. In der Randzone verschwinden die Mitochondrien langsam und machen den Dotterkörnern und Lipoidtropfen Platz, die das Bild des zentralen Eiplasmas charakterisieren (Tafel 2). Die Lipoidtropfen zeichnen sich aus durch eine konstante Grösse; die Grösse der Dotterkörner hingegen schwankt. Die Dotterpartikel sind von einer ebenfalls osmiophilen, dünnen Plasmahülle umgeben. Einzelne Mitochondrien liegen verteilt zwischen dem groben Dotter.

Wir haben versucht mit speziellen histologischen Methoden und einer vergleichenden Erfassung cytologischer und mikrocytologischer Befunde einige Stadien der ooplasmatischen Segregation am *Tubifex*-Ei, Phasen der Meiose und Mitose zu charakterisieren.

LITERATURVERZEICHNIS

- HESS, O. 1959. *Phasenspezifische Aenderung im Gehalt an ungesättigten Fettsäuren beim Ei von Tubifex während der Meiosis und der ersten Furchung*. Z. Naturf. 14b/5: 342-345.
- INOUE, S. 1952. *Polarisation optical studies of the mitotic spindle*. Chromosoma 5: 487-500.
- KARNOVSKY, M. J. 1961. *Simple methods for "staining" with lead at high pH in electron microscopy*. J. Cell Biol. 11/2: 729-732.
- RYTER, A. und KELLENBERGER, E. 1958. *L'inclusion au polyester pour l'ultramicrotomie*. J. Ultrastructure Res. 2: 200-214.
- LEHMANN, F. E. 1940. *Polarität und Reifungsteilungen bei zentrifugierten Tubifexeiern*. Rev. suisse Zool. 47: 177-182.
- 1941. *Die Indophenolreaktion der Polplasmen von Tubifex*. Naturw. 29: 101.

- 1950. *EM-Untersuchungen an Polplasma von Tubifex und an Mikromeren von Paracentrotus*. Arch. Klaus-Stift. Vererb-forsch. 25: 612-619.
- LEHMANN, F. E., HENZEN M. und GEIGER F. 1962. *Cytology and micro-cytology of living and fixed cytoplasmic constituents in the eggs tubifex and the cell of amoeba proteus*. Symp. Int. Soc. Cell Biol. 1: 119-127.
- und MANCUSO V. 1957. *Improved fixative for astral rays and nuclear membrane of Tubifex embryos*. Exp. Cell Res. 13: 161-164.
- und MANCUSO V. 1958. *Der fibrilläre Feinbau des Mitoseapparates von Tubifex nach Behandlung mit verschiedenen Fixiermitteln*. Rev. suisse Zool. 65: 360-371.
- V. PARSEVAL, M. 1922. *Die Entwicklung zentrifugierter Eier von Tubifex riv.* Roux' Arch. Entw Mech. 50: 468-497.
- PENNERS, A. 1934. *Experimentelle Untersuchungen zum Determinationsproblem am Keim von Tubifex: Abtöten der Teloblasten auf verschiedenen Entwicklungsstadien des Keimstreifs*. Z. wiss. Zool. 145: 389-399.
- 1937. *Regulation am Keim von Tubifex nach Ausschalten des ektodermalen Keimstreifs*. Z. wiss. Zool. 149: 86-130.
- WEBER, R. 1958. *Ueber die submikroskopische Organisation und die biochemische Kennzeichnung embryonaler Entwicklungsstadien von Tubifex*. Roux' Arch. Entw Mech. 150: 542-580.
- WOKER, H. 1944. *Die Wirkung des Colchicins auf Furchungsmitosen und Entwicklungsleistungen des Tubifexis*. Rev. suisse Zool. 51: 109-170.

N^o 21. **M. Lüscher und I. Walker**, — Zur Frage der Wirkungsweise der Königinnenpheromone bei der Honigbiene.¹ (Mit 4 Textabbildungen.)

Abteilung für Zoophysiologie, Zoologisches Institut der Universität Bern.

Die von BUTLER (1954), PAIN (1954) und VOOGD (1955) nachgewiesene Königinnensubstanz („queen substance“) hat verschiedene Wirkungen auf die Arbeiterinnen. Sie hemmt die Entwicklung von Eiern in den Ovarien und verhindert damit die Entstehung

¹ Mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds. Wir danken der Direktion der Bienenabteilung der Eidgenössischen Milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt Liebefeld-Bern, die uns in grosszügiger Weise Arbeitsplatz und Material zur Verfügung gestellt hat. Herrn W. Fyg danken wir herzlich für seine wertvolle Beratung.

von Afterweiseln (Drohnenmütterchen). Daneben beeinflusst sie das Verhalten, indem sie einerseits attraktiv wirkt, andererseits den Bau von Ersatzweiselzellen verhindert. Diese Wirkung auf den Bau von Ersatzweiselzellen ist einem Pheromon zuzuschreiben, der 9-Oxo-decen (2) carbonsäure, die vor kurzem synthetisiert werden konnte (BARBIER und LEDERER 1960, BARBIER, LEDERER und NOMURA 1960, CALLOW und JOHNSTON 1960). Die Eireifung wird jedoch durch diese Substanz nicht beeinflusst (PAIN 1961a). Die Ovarhemmung muss also auf der Wirkung eines weiteren, im Totalextrakt von Königinnen enthaltenen Pheromons beruhen. Für die Attraktivwirkung schliesslich scheint ein Gemisch mehrerer Substanzen des Totalextraktes notwendig zu sein. Die Wirkungen der Königinnensubstanz beruhen also auf der Wirkung mehrerer in ihr enthaltener Pheromone.

Über die physiologische Wirkungsweise dieser Pheromone ist bis jetzt nur wenig bekannt. Nachdem bei Termiten gezeigt werden konnte, dass die Pheromone der Geschlechtstiere mindestens zum Teil in das endokrine System der Larven eingreifen (LÜSCHER 1961), war anzunehmen, dass auch bei Bienen eine ähnliche Beziehung zwischen den Pheromonen und den Hormonen bestehen könnte. Wir haben nun diese Frage zunächst für das die Eireifung hemmende Pheromon untersucht.

Bei vielen, jedoch nicht bei allen Insekten sind die Corpora allata für die Eireifung notwendig. Auch bei Bienen bestehen Anhaltspunkte dafür, dass ein Hormon der Corpora allata an der Eireifung beteiligt ist. MÜSSBICHLER (1952) fand eine Volumenzunahme der Corpora allata bei eierlegenden Arbeiterinnen, den sog. Afterweiseln. MÜSSBICHLER konnte jedoch die Entstehung von Afterweiseln durch Implantation von Corpora allata nicht beeinflussen. ALTMANN (1952) dagegen erhielt nach Injektion von Corpora allata-Extrakten einen höheren Prozentsatz von Afterweiseln als bei den Kontrollgruppen. Damit scheint eine stimulierende Wirkung des Corpora allata-Hormons auf die Ovarentwicklung auch bei Bienen nachgewiesen zu sein.

Wir haben uns deshalb die Frage gestellt, ob das Bienenköniginnen-Pheromon durch eine Hemmung der Corpora allata die Eireifung bei den Arbeiterinnen verhindert. Zur Prüfung dieser Frage haben wir verwaisten Gruppen von etwa 100 Bienen Königinnen-Extrakt verabreicht und die Volumina der Corpora allata

in Versuchs- und Kontrollgruppen nach verschiedenen Zeitintervallen bestimmt. Versuchs- und Kontrollgruppen wurden jeweils dem gleichen Volk entnommen.

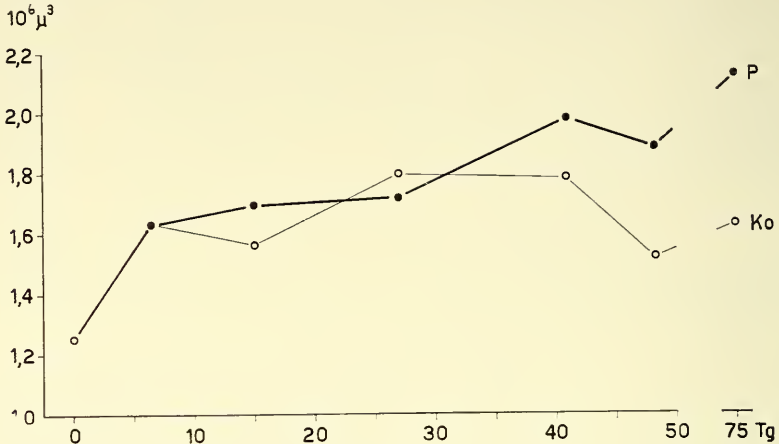


ABB. 1.

Gesamtvolumen der beiden Corpora allata in Millionen μ^3 von weisellosen Bienen in Abhängigkeit von der Nahrung.

Ko: Zucker-Honig-Gemisch — Kontrolle.

P: Zucker-Honig-Gemisch mit Pollenzusatz.

Tg: Tage nach Beginn der Weisellosigkeit (Stockentnahme).

Pro Kurvenpunkt wurden die Corpora allata von 6-18 Bienen gemessen.

Da die Versuche erst im letzten Winter begonnen wurden, standen uns nur Winterbienen zur Verfügung. Wir haben mit den Rassen „carnica“ und „nigra“ gearbeitet. Die Bienen wurden in sog. Liebefelder Kästchen bei 30°C gehalten und mit Honig und Zucker, zum Teil zusätzlich mit Pollen gefüttert. Der Königinnenextrakt war ein ungereinigter Extrakt, der uns im Jahre 1957 durch Herrn Dr. C. G. Butler zur Verfügung gestellt worden ist. Er war also schon über fünf Jahre alt. Der Extrakt wurde auf einer der extrahierten Königinnen verabreicht. Diese wurde getränkt, getrocknet und in das betreffende Kästchen gelegt.

Die Corpora allata wurden in Insekten-Ringer herauspräpariert und im Frischzustand in einer Zählkammer von 0,025 mm Tiefe gequetscht. Der Umriss des gequetschten Organs wurde mit dem Zeichenapparat gezeichnet. Die Fläche der Organs, aus der sich dann das Volumen berechnen liess, wurde durch Planimetrieren bestimmt.

Zur statistischen Bearbeitung wurden folgende Methoden benützt: der χ^2 -Vierfeldtest, der Test von Wilcoxon, die Sequentialanalyse und die Varianzanalyse (siehe Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen).

Der Prozentsatz der bei den Winterbienen in Kontrollkolonien entstandenen Afterweisel war von Volk zu Volk sehr verschieden und schwankte zwischen 4 und 66%, wobei ein Rassenunterschied nicht festgestellt werden konnte.

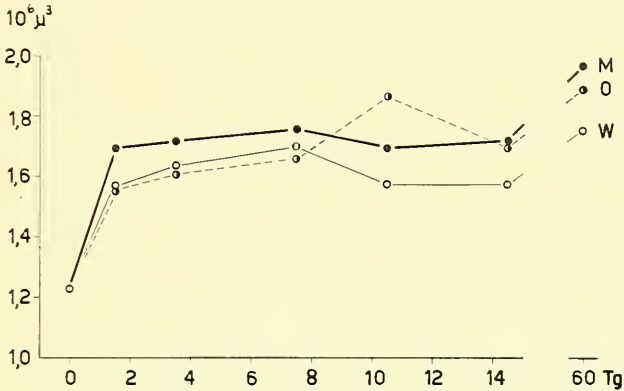


ABB. 2.

Die Einwirkung der Kästcheneinrichtung auf das Volumen der Corpora allata von weisellosen Bienen.

W: Kästchen mit normalen Bienenwachswaben.

M: Kästchen künstlicher Mittelwand.

O: Kästchen ohne Wabe und ohne Mittelwand.

Anzahl untersuchter Tiere pro Kurvenpunkt: 8.

Weitere Erklärungen siehe unter Abb. 1.

Wir haben zunächst das Verhalten der Corpora allata in weisellosen Gruppen unter verschiedenen Bedingungen ohne Verabreichung von Königinnensubstanz untersucht (Abb. 1, 2). Es zeigt sich durchwegs eine starke Volumenzunahme in den ersten Tagen. Später nimmt das Volumen nur noch wenig zu oder es bleibt konstant. Ein Zusatz von Pollen zur Nahrung hat zunächst keinen Einfluss auf die Corpora allata (Abb. 1). Nach etwa fünf Wochen jedoch werden die Corpora allata der pollernährten Bienen deutlich grösser als diejenigen der Kontrollen. Dagegen war der Prozentsatz der Bienen mit entwickelten Ovarien in der Kontrollgruppe höher (66%) als bei Pollenzusatz (45%). Für den Unterschied ergibt sich ein $P < 0,05$.

Dieses Ergebnis scheint den Befunden von PAIN (1961b), nach denen Proteinnahrung eine Voraussetzung für die Entwick-

lung von Eiern bei Arbeiterinnen ist, zu widersprechen und ist vielleicht auf den besonderen physiologischen Zustand der Winterbienen zurückzuführen.

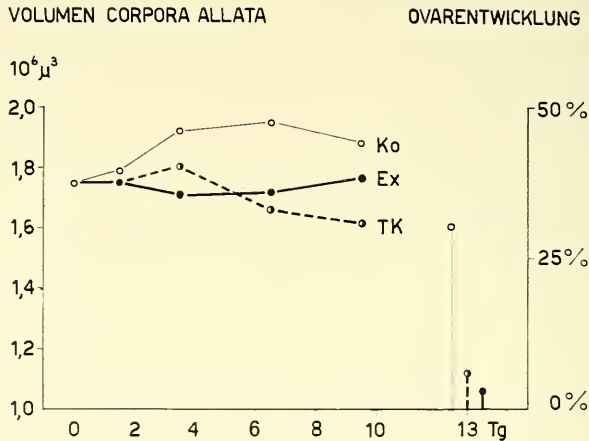


ABB. 3.

Erster Versuch über die Wirkung der Königinnensubstanz auf die Corpora allata und auf die Ovarentwicklung von weisellosen Bienen.
 Ex: Königinnenextrakt auf extrahierter Königin verabreicht.
 TK: Stockeigene tote Königin.
 Ko: Weisellose Kontrollen.
 Anzahl untersuchter Tiere pro Kurvenpunkt: 8, für die Ovarentwicklung: 66.
 Weitere Erklärungen siehe unter Abb. 1.

Wird der weisellosen Bienengruppe statt der vollständigen Wabe nur die Mittelwand mit künstlich eingepresstem Wabenmuster in das Kästchen gehängt, so werden die Corpora allata gesichert ($P < 0,01$) grösser als bei Kontrollgruppen mit normalen Waben (Abb. 2). Die Bienen entwickelten in diesem Versuch eine starke Bautätigkeit, indem sie Wachs von der Mittelwand abtrugen und damit Ritzen zwischen Glas und Holzrahmen verschlossen. Bei Bienen in leeren Kästchen ist die Volumenvergrößerung der Corpora allata unregelmässig und nicht gesichert verschieden von derjenigen der beiden andern Gruppen. In der Ovarentwicklung zeigten sich keine Unterschiede, doch war diese bei allen Gruppen äusserst gering (höchstens 6%).

Die Wirkung der Königinnensubstanz wurde in zwei Versuchen geprüft. Im ersten Versuch (Abb. 3) wurden einem kleinen Stamm-

volk, dessen Königin kurz vorher gestorben aber noch im Volk verblieben war, drei Gruppen entnommen, von denen eine Königinnen-substanz erhielt (Ex). Einer zweiten Gruppe wurde die dem Volk entnommene tote Königin in das Kästchen gegeben (TK).

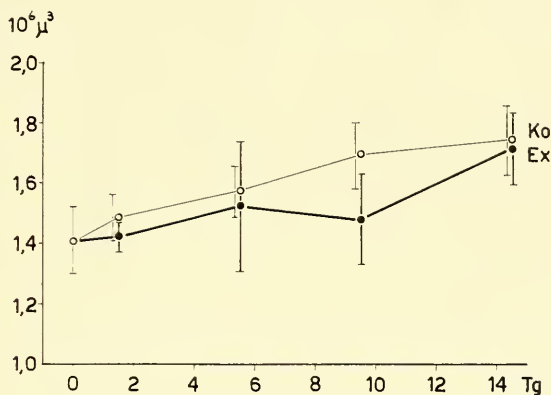


ABB. 4.

Zweiter Versuch mit Königinnensubstanz.
Erklärungen siehe unter Abb. 1 und 3.

Die Corpora allata waren schon zu Beginn des Versuchs sehr gross, wahrscheinlich infolge des Absterbens der Königin. Die Corpora allata der weiselosen Kontrollbienen nahmen jedoch nach Versuchsbeginn weiter an Volumen zu, während ihr Wachstum sowohl bei Verabreichung von Königinnensubstanz als auch durch die tote Königin gesichert ($P < 0,01$) gehemmt war. Auch die Hemmung der Ovaentwicklung in diesen Gruppen ist gesichert, und zwar für die Königinnensubstanz mit $P < 0,0001$, für die tote Königin mit $P < 0,001$. Diese scheint also an ihrer Oberfläche noch Königinnensubstanz aufgewiesen zu haben.

Für den zweiten Versuch (Abb. 4) wurden die Bienen einem normalen grossen Volk entnommen und in zwei Gruppen aufgeteilt, von denen die eine Königinnensubstanz erhielt und die andere als Kontrolle weiselos blieb. In beiden Gruppen zeigte sich mit der Zeit eine Volumenzunahme der Corpora allata, doch waren auch hier diejenigen der Versuchsgruppe im Vergleich mit der Kontrolle gehemmt ($P < 0,05$). In diesem Versuch wurde eine Vergrösserung der Streuung unter der Einwirkung von Königinnen-

substanz beobachtet ($P < 0,01$). Zudem sind einzelne s-Werte innerhalb der Versuchsgruppe voneinander gesichert verschieden. Diese Befunde deuten darauf hin, dass die Corpora allata nur teilweise und unregelmässig gehemmt wurden. Der Prozentsatz der Bienen mit Ovaentwicklung betrug bei den Kontrollen 8%, bei den Versuchsbienen 0%, doch ist dieser Unterschied nicht gesichert.

Die Versuche zeigen, dass bei Verabreichung von Königinnensubstanz eine normalerweise nach der Isolierung von der Königin auftretende Vergrößerung der Corpora allata der verwaisten Arbeiterinnen verhindert oder zumindest gehemmt wird, während gleichzeitig die Eireifung in den Ovarien ebenfalls verhindert oder gehemmt wird. Nach Untersuchungen bei anderen Insekten darf aus einer Volumenzunahme der Corpora allata im allgemeinen auf eine Aktivierung derselben geschlossen werden. Es ist deshalb anzunehmen, dass die Wirkung des ovarhemmenden Pheromons der Bienenkönigin die Corpora allata der Arbeiterinnen in ihrer Hormonproduktion hemmt, und dass die Eireifung infolge des Fehlens des sog. gonadotropen Hormons der Corpora allata unterbleibt.

Innerhalb der Gruppen die keine Königinnensubstanz erhielten ergab sich jedoch keine Korrelation zwischen der Grösse der Corpora allata und der Ovaentwicklung (107 geprüfte Tiere, wovon 61 Ovaentwicklung zeigten). Dies weist darauf hin, dass trotz Aktivierung der Corpora allata die Ovarien mindestens bei Winterbienen nicht immer zur Eibildung fähig sind, dass also ein Ausbleiben der Eireifung in Abwesenheit der Königinnensubstanz nicht einer Mangelfunktion der Corpora allata zuzuschreiben ist.

Für eine Wirkung der Königinnensubstanz auf die Corpora allata sprechen auch unveröffentlichte Befunde bei Termiten, die zeigen, dass bei diesen die Corpora allata nach Verfütterung von Bienen-Königinnensubstanz gehemmt werden, und dass die Wirkung dieser Substanz auf die Bildung von Ersatzgeschlechtstieren derjenigen von Juvenilhormonextrakten entgegengesetzt ist.

SUMMARY

The corpora allata of worker honey-bees increase in volume during the first days after their removal from the queen. The "queen substance" significantly inhibits this growth of the corpora

allata. These results suggest that the inhibition of ovary development by the pheromone contained in the "queen substance" is brought about by an action upon the corpora allata which are thereby prevented from secreting the "gonadotropic" hormone.

LITERATURVERZEICHNIS:

- ALTMANN, G. 1952. *Die Lokalisation der Sexualwirkstoffe bei der Honigbiene*. Z. Bienenforsch. 1: 124-127.
- BARBIER, M. und LEDERER, E. 1960. *Structure chimique de la « substance royale » de la reine d'abeille (Apis mellifica)*. C.R. Acad. Sci., Paris, 250: 4467-4469.
- BARBIER, M., LEDERER, E. und NOMURA T. 1960. *Synthèse de l'acide céto-9 décène-2-trans oïque (substance royale) et de l'acide céto-8 nonène-2-trans oïque*. C.R. Acad. Sci., Paris, 251: 1133-1135.
- BUTLER, C. G. 1954. *The method and importance of the recognition by a colony of honeybees of the presence of its queen*. Trans. R. ent. Soc. London, 105: 11-29.
- CALLOW, R. K. und JOHNSTON, N. C. 1960. *The chemical constitution and synthesis of queen substance of honeybees*. Bee world, 41: 152-153.
- LÜSCHER, M. 1961. *Social control of polymorphism in termites*. In J.S. KENNEDY: *Insect polymorphism*, London, pp. 57-67.
- MÜSSBICHLER, A. 1952. *Die Bedeutung äusserer Einflüsse und der Corpora allata bei der Afterweiselentstehung von Apis mellifica*. Z. vergl. Physiol., 34: 207-221.
- PAIN, J. 1954. *Sur l'ectohormone des reines d'Abeilles*. C.R. Acad. Sci., Paris, 239: 1869-1870.
- PAIN, J. 1961a. *Sur la phéromone des reines d'Abeilles et ses effets physiologiques*. Thèse, Paris.
- PAIN, J. 1961b. *Sur quelques facteurs alimentaires, accélérateurs du développement des œufs dans les ovaires des ouvrières d'Abeilles (Apis m. L.)*. Ins. Soc., 8: 31-93.
- VOOGD, S. 1955. *Inhibition of ovary development in worker bees by extraction fluid of the queen*. Experientia, 11: 181-184.
-

N^o 22. **R. Martin**¹ und **P. Tardent**, — Kultur von Hydroiden-Zellen in vitro. (Mit 2 Tafeln.)

Stazione Zoologica, Napoli und Zoologisches Institut der Universität Zürich.

1. EINLEITUNG

Die Interpretation der aussergewöhnlichen morphogenetischen Potenzen der Coelenteraten bietet grosse Schwierigkeiten, weil u.a. die formbildenden Prozesse auf zellulärer Ebene bis jetzt entweder nur am fixierten Objekt oder nur unter ungünstigen technischen Voraussetzungen am lebenden Tier beobachtet werden konnten (TARDENT 1963). Es handelt sich in erster Linie darum, die morphogenetischen Potenzen einzelner Zelltypen zu ermitteln. Die wenigen Versuche, dieses Problem auf dem Wege der Gewebs- und Zellkulturen zu lösen, sind grossen technischen Schwierigkeiten begegnet und haben noch keine schlüssigen Resultate gezeitigt (SANYAL und MOOKERJEE 1960, PHILLIPS 1961).

Seit zwei Jahren haben wir an der Zoologischen Station von Neapel, in Zusammenarbeit mit Dr. A. NECCO, die zahlreichen methodischen Hindernisse zu überwinden versucht, die sich einer „in vitro“ — Kultur von Geweben und Zellen mariner Invertebraten in den Weg stellen (vergl. NECCO und MARTIN 1963). Die vorliegende Arbeit beschränkt sich auf die neuesten Beobachtungen an Reinkulturen von Cnidoblasten der kolonialen Hydroide *Tubularia larynx*.

Die in verschiedenen Typen auftretenden Nesselzellen sind bei *Tubularia* in der ganzen ektodermalen Schicht verteilt, wo sie in kleinen Gruppen an der Basis der Epithelmuskelzellen liegen (TARDENT und EYMANN 1959). Die zahlreichen, im Stielteil (Hydrocaulus) lokalisierten Nematoblasten bilden, da sie durch das Aussenskelett am Ausüben ihrer Funktion gehindert werden, eine dem Hydranthen bestimmte Reserve (HADŽI 1909).

¹ Diese Arbeit wurde durch die grosszügige Unterstützung der „National Institutes of Health in Bethesda Maryland USA“ (Kontrakt C 3402) ermöglicht.

Die Cnidoblasten sind zu ausgedehnten Wanderungen befähigt, wobei sie sich amoeboid zwischen den Epithelmuskelzellen bewegen (TARDENT und EYMANN 1959). Nach den Beobachtungen von LEHN (1954) führt ihre Differenzierungsgeschichte auf die interstitiellen Zellen zurück, die auch noch zu anderen Differenzierungsleistungen fähig sind (TARDENT 1963). Die strukturellen Aspekte der komplexen Nematocysten-Differenzierung wurden kürzlich von SLAUTTERBACK und FAWCETT (1959) elektronenoptisch untersucht.

2. MATERIAL UND METHODE

Das für die Kulturen verwendete, alle ektodermalen und entodermalen Zelltypen enthaltende Coenosarcmaterial wird sorgfältig aus dem Hydrocaulus herausgepresst, nachdem dieser von Epibionten befreit und einer 24-stündigen Behandlung mit Antibiotica ausgesetzt wurde. Die auf diese Weise isolierten Gewebsfragmente werden in ein halbsynthetisches Medium übertragen. Dieses besteht aus: Natürlichem gepuffertem Meerwasser (pH 7.5), dem die Aminosäuren Serin, Taurin und Glycin (FAULHABER und TARDENT 1959) sowie Hefeextrakt („Yeastolate“, „Difeo“) und Glucose beigefügt wurden. Diese Lösung wird in Kombination mit Blutplasma der Languste (*Palinurus vulgaris*) verwendet. Dieses hat bakterio-statische Eigenschaften und bildet lockere Koagulate, in denen sich die Zellen festsetzen. Als Kulturtechnik wird das Verfahren des hängenden Tropfens und der „roller tubes“ angewendet.

3. ERGEBNISSE

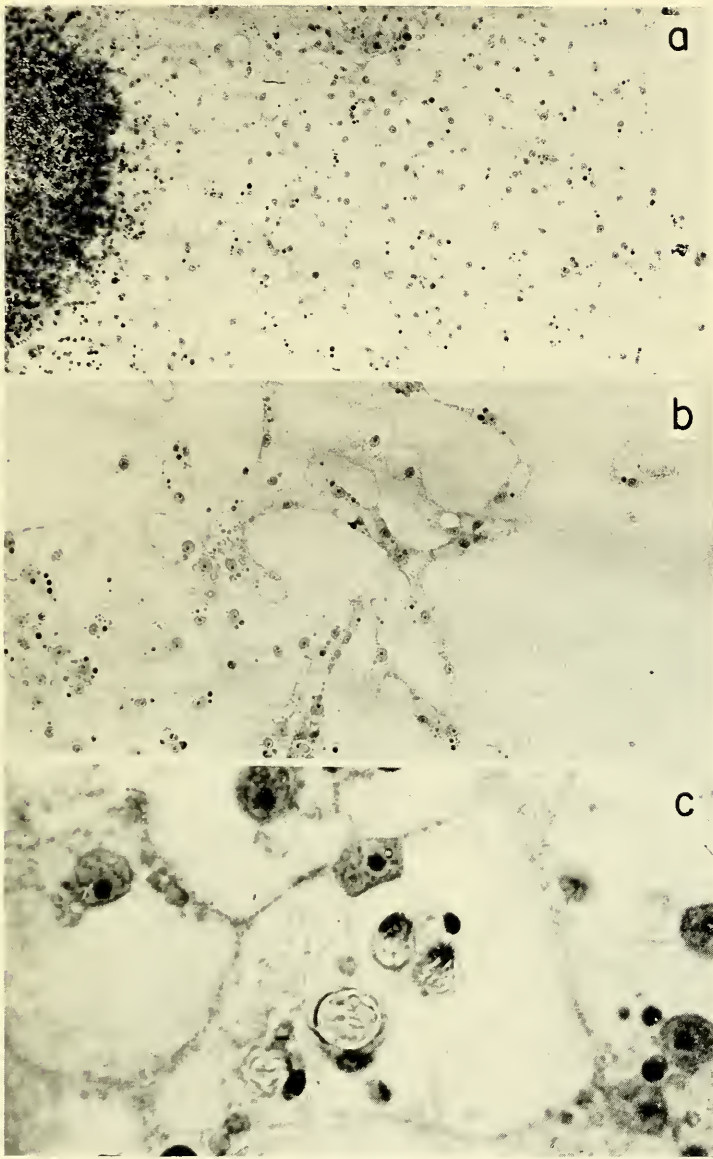
Die ersten 24 Stunden nach Ansetzen der Kulturen sind durch eine rege Wanderung der Zellen gekennzeichnet, wobei diese das Explantat verlassen und sich zentrifugal über die mit Plasma-koagulat bedeckte Glasfläche ausbreiten (Abb. 1a). Es betrifft dies vor allem die grossen entodermalen Epithelmuskelzellen, die grosse Vakuolen einschliessen und z.T. schlagende Geisseln tragen (Abb. 1b). Sie sind in diesem Zustand stark abgeflacht und bilden ein Netzwerk, in dem die einzelnen Zellen unter sich einen engen Kontakt aufrechterhalten. Auffallenderweise liegen von Anfang an, vor allem aber einige Tage nach Kulturbeginn, dicht neben den Kernen dieser Zellen kleine Gruppen von Cnidoblasten mit Nematocysten unterschiedlichen Entwicklungsgrades (Abb. 1c). Ob diese Cnidoblasten zusammen mit den anderen Zellen aus dem

Explantat ausgewandert sind oder ob sie sich an Ort und Stelle differenziert haben, ist noch nicht abgeklärt.

Diese Primärkulturen, in denen mehrere Zelltypen vertreten sind, zeigen meistens nach 4-5 Tagen, spätestens aber nach 8 Tagen, Depressionserscheinungen, die sich dadurch äussern, dass die bisher abgeflachten Zellen eine Kugelform annehmen und sich von der Unterlage ablösen. Eine kleine Zahl von Cnidoblasten überdauert diesen Zerfallsprozess. Diese beginnen sich nach 2-3 Tagen plötzlich ausserordentlich stark zu vermehren, sodass die Wände der rotierenden Röhrchen schon ein bis zwei Tage später dicht mit Cnidoblasten besetzt sind. Die relativ lange Zeitspanne, die zwischen dem Kulturbeginn und der explosionsartigen Vermehrung dieser Zellen liegt, kann als Anpassungsperiode interpretiert werden; eine Erscheinung, die bei Gewebekulturen häufig auftritt. Wie die Abbildung 2 a zeigt, enthalten die Kulturen von diesem Zeitpunkt an nur noch Cnidoblasten. Nachkommen dieser Zellen leben seit 50 Tagen in 4 verschiedenen Stämmen in Reinkultur, ohne dass sich die sehr hohe Vermehrungsrate verändert hätte.

Nach wöchentlich einmaliger Erneuerung des Kulturmediums finden sich nach 32 Kulturtagen — 2 Tage nach der letzten Erneuerung — kleine, langgestreckte ovale Zellen, deren basophiles Plasma kleine, optisch leere Blasen aufweist (Abb. 2b). Es handelt sich um frühe Differenzierungsstadien von Cnidoblasten. Nach weiteren 2 Tagen haben sich in der gleichen Kultur Grösse und Struktur eines Teiles dieser Zellen verändert (Abb. 2c). Das Bläschen im Plasma ist herangewachsen und hat die Form einer Penetrante angenommen, die noch mit basophilem Plasma überzogen ist. Der Kern wird, wie es für weitgehend differenzierte Cnidoblasten charakteristisch ist, durch die heranwachsende Kapsel verdrängt.

Ueberraschenderweise konnte festgestellt werden, dass sich diese Cnidoblasten in diesem fortgeschrittenen Differenzierungsstadium noch mehrmals teilen. Es finden sich nämlich als Teilungsprodukte zahlreiche Zweier-, seltener auch Dreier- und Vierergruppen, die zunächst noch von einer gemeinsamen Plasmahülle umgeben sind (Abb. 2c). In gefärbten Präparaten von solchen Kulturen finden sich oft freie Kapseln ohne Kern und Plasma, die offenbar von der Zelle ausgestossen wurden. Es gilt noch abzuklären, ob ein und dieselbe Zelle nacheinander mehrere

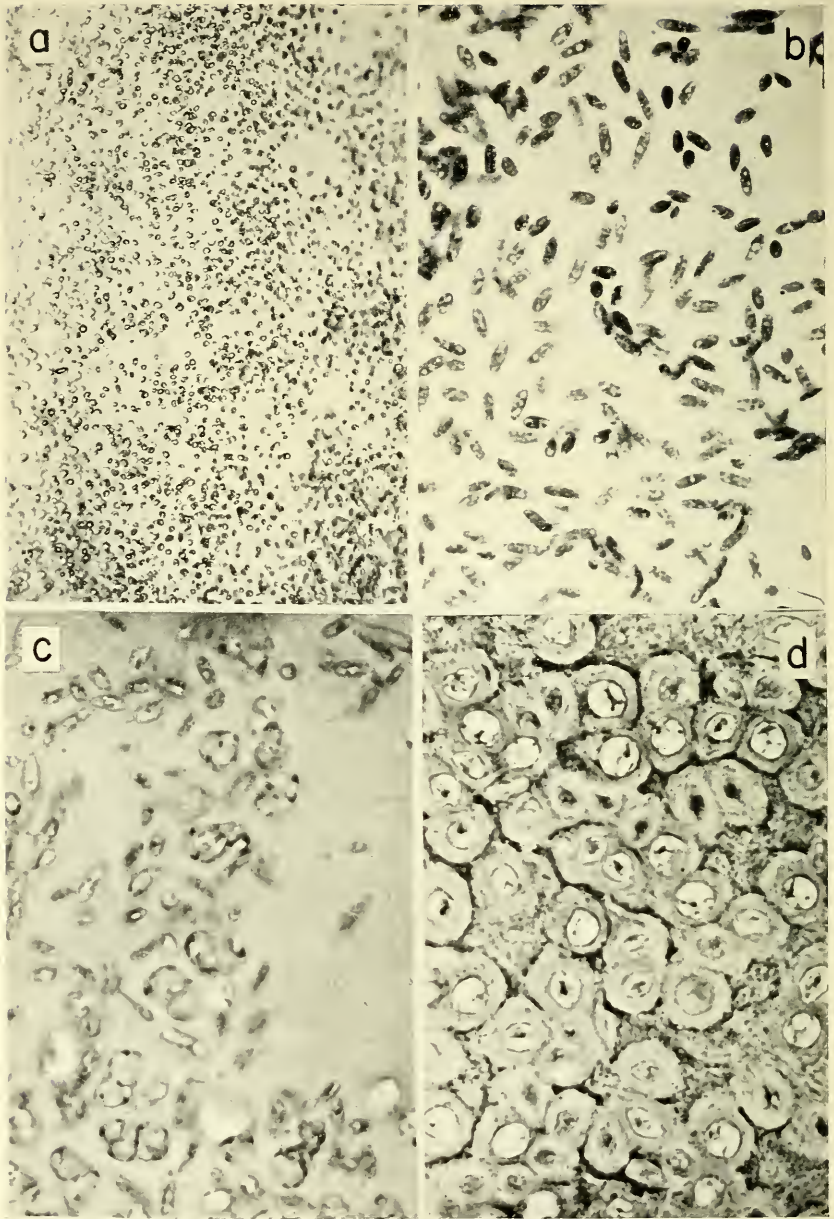


Eine 4-tägige Kultur eines Coenosarcstückes von *Tubularia* mit ausgewanderten Epithelmuskelzellen.

a) Das Explantat mit ausgewanderten Zellen (300 x, Häm. Eos.).

b) Detail der Abb. 1 a (480 x, Häm. Eos.).

c) Eine Epithelmuskelzelle des gleichen Präparates mit einer Gruppe von 7 Cnidoblasten (1230 x, Häm. Eos.).



Reinkulturen von Cnidoblasten.

- a) Lebendaufnahme einer 21 Tage alten Kultur, in „roller tubes“ (480 x).
 b) 32 Tage alte Kultur bestehend aus undifferenzierten Cnidoblasten, 2 Tage nach Erneuerung des Mediums (1230 x, Häm. Eos.).
 c) 34 Tage alte Kultur von weitgehend differenzierten Cnidoblasten, Medium 4 Tage vorher gewechselt (1230 x, Häm. Eos.).
 d) Cnidoblasten mit weitgehend differenzierten Nematocysten, 11 Tage alte Kultur, Medium nicht erneuert (1230 x, Häm. Eos.).

Nematocysten bilden kann oder ob diese Leistung für jede Zelle einmalig ist.

Abbildung 2 d zeigt eine 11-tägige Kultur, in der das Medium nie erneuert wurde. Die Cnidoblasten mit gut ausgebildeten Kapseln liegen — meist in Zweiergruppen — dicht gepackt im alten denaturierten Langustenplasma. Auch hier scheinen sich die sich differenzierenden Nematocysten noch zu teilen.

In allen bis jetzt untersuchten Kulturen konnte nur selten eine vollständige Differenzierung der Nematocysten zu funktionstüchtigen Organellen festgestellt werden. Die Grösse der Kapsel erreicht in der Regel nur $\frac{3}{4}$ derjenigen einer normalen Penetrante und zeigt, soweit bis jetzt festgestellt werden konnte, noch nicht die für die letztere typischen Feinstrukturen (SLAUTTERBACK und FAWCETT 1959).

4. DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Die hier beschriebene Isolation von Cnidoblasten beruht — wie angenommen werden muss — auf einem Selektionsprinzip, wobei sich dieser Zelltypus durch eine höhere Resistenz unzulänglichen Kulturmedien gegenüber auszeichnet. Diese Eigenschaft und die Tatsache, dass sich die Cnidoblasten von *Tubularia* ausserhalb des normalen Zellverbandes derart stark vermehren und auch weitgehend differenzieren, deutet auf die fortgeschrittene physiologische und funktionelle Autonomie dieser Zellen hin (Vergl. TARDENT 1963). Entgegen den Erwartungen sind auch weitgehend differenzierte Cnidoblasten noch zur Teilung befähigt. Es ist zu hoffen, dass die geplanten Beobachtungen an Monokulturen von Cnidoblasten uns Einzelheiten über den Teilungsmechanismus und die Frage, ob eine Zelle in der Lage ist, mehrere Kapseln zu bilden, liefern werden.

SUMMARY

The authors report about a successful attempt to culture Hydroid cells in vitro. Explants of the coenosarc of *Tubularia larynx* are kept in a semi-artificial culture medium in which the cnidoblasts, after the death of all other cell types, have multiplied at a fast

rate for at least 50 days. Partial differentiation of Nematocysts has been observed in culture, and the Cnidoblasts have been found to divide even when the nematocyst capsule was already well developed.

LITERATURVERZEICHNIS

- BURNETT, A. L. and LENTZ, I., 1960 *The nematocysts of Hydra. III. The migration pathways of nematocysts in Hydra*. Ann. Soc. roy. Zool. Belg. 90: 281-294.
- FAULHABER, J. and TARDENT, P., 1959. *Das Verhalten der freien Aminosäuren im Verlauf der normalen und gehemmten Regeneration bei Tubularia*. Rev. suisse Zool. 66: 295-308.
- HADŽI, J., 1909. *Ueber die Nesselzellenwanderung bei Hydroidpolyphen*. Arb. Zool. Inst. Wien. 17: 65-94.
- LEHN, H., 1951. *Teilungsfolgen und Determination von I-Zellen für die Cnidenbildung von Hydra*. Z. Naturf. 66: 388-391.
- LENHOFF, H. M., 1959. *Migration of C₁₄ labeled cnidoblasts*. Exp. Cell Res. 17: 570-573.
- NECCO, A. and MARTIN, R., 1963. *Behaviour and estimation of the mitotic activity of the white body cells in Octopus vulgaris cultured in vitro*. Exp. Cell Res. (in press).
- PHILLIPS, J. H., 1962. *Isolation and Maintenance in Tissue Culture of Coelenterate Cell Lines*. In: *The Biology of Hydra*, University of Miami Press. p. 245-254.
- SANYAL, S. and MOOKERJEE, S., 1960. *Experimental dissociation of cells from Hydra*. Roux' Arch. Entw. Mech. 152: 131-136.
- SLAUTTERBACK, D. B. and FAWCETT, D. W., 1959. *Development of cnidoblasts in Hydra. An electron microscopic study of cell differentiation*. J. Biophys. Biochem. Cytol. 5: 441-452.
- TARDENT, P., 1963. *Regeneration in Hydroids*. Biol. Rev. (in press).
- TARDENT, P. und EYMANN, H., 1959. *Experimentelle Untersuchungen über den regenerationshemmenden Faktor von Tubularia*. Roux' Arch. Entw. Mech. 151: 1-37.
-

N^o 23. **H. Mislin**, Mainz. — Zur Funktionsanalyse des Hilfsherzens (*Vena portae*) der weissen Maus (*Mus musculus* f. *alba*). (Mit 9 Textabbildungen und 3 Tabellen.)

Herrn Professor Alexander von Muralt zum 60. Geburtstag gewidmet.

Bei fast allen Wirbeltiergruppen sind neben dem Herzen, dem „Hauptmotor“ für den Bluttransport, im Gebiet der Gefässe, Hilfsherzen zur Ausbildung gekommen. Es handelt sich dabei, um rhythmische Spontankontraktionen (aktiver Gefässpuls) von Venen und Arterien. Zu erwähnen sind: 1. „Peripheres Herz“ der Flughautvenen bei Chiropteren (MISLIN 1959). 2. „Portalherz“ bei Cyclostomen (CARLSON 1904). 3. „Gefässperistaltik“ (Arterien und Venen) bei Vögeln und Säugern. (ATTARDI 1955a). 4. „Leberherz“ der Vena portae bei Nagetieren und Vögeln (ATTARDI 1955b, c, BOOZ 1959). Neben diesen ausgesprochenen Hilfsherzen, die eine funktionelle Sonderstellung im Gesamtkreislauf einnehmen, hat man bei ausgeschnittenen Arterien phasische Tonusschwankungen und rhythmische Kontraktionen registrieren können, die eine autonome Funktion und Herzpotenz dieser Gefässe beweisen (MONNIER 1944). In neuerer Zeit haben sich vorallem ATTARDI (1955b) und im besonderen BOOZ (1959) mit der autorhythmischen Kontraktilität der Pfortader befasst und eine Reihe von anatomischen, histologischen und physiologischen Befunden erhoben. Aus ihren Beobachtungen ergibt sich, dass die Vena portae der Muriden als Hilfsherz funktioniert und die Propulsion des Blutes durch das Kapillarnetz der Leber offenbar so reguliert wird, dass eine gleichmässige Durchblutung der verschiedenen Leberlappen garantiert ist. Als erster hat Booz die isolierte Pfortader der weissen Ratte untersucht und orientierende Druck und Temperaturversuche durchgeführt, deren vergleichende Besprechung wir bis zur ausführlichen Arbeit zurückstellen wollen. Im Rahmen der eigenen vergleichend-physiologischen Untersuchungen an aktiv pulsierenden Gefässen, wurde die Vena portae der weissen Maus als günstigstes Versuchsobjekt erkannt (Abb. 1). Mit der von mir für kleinste Gefässe entwickelten Synchronregistrierung von Elek-

troangiogramm und Myogramm, konnte die Funktionsanalyse der Portalvene der Mäuse Erfolgversprechend unternommen werden. (Abb. 2).

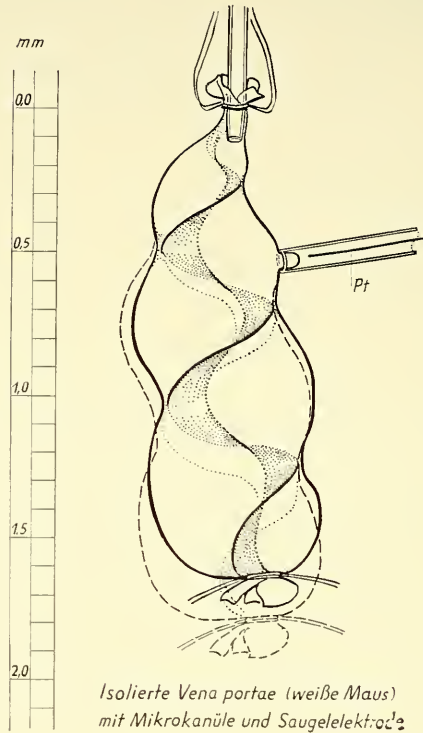


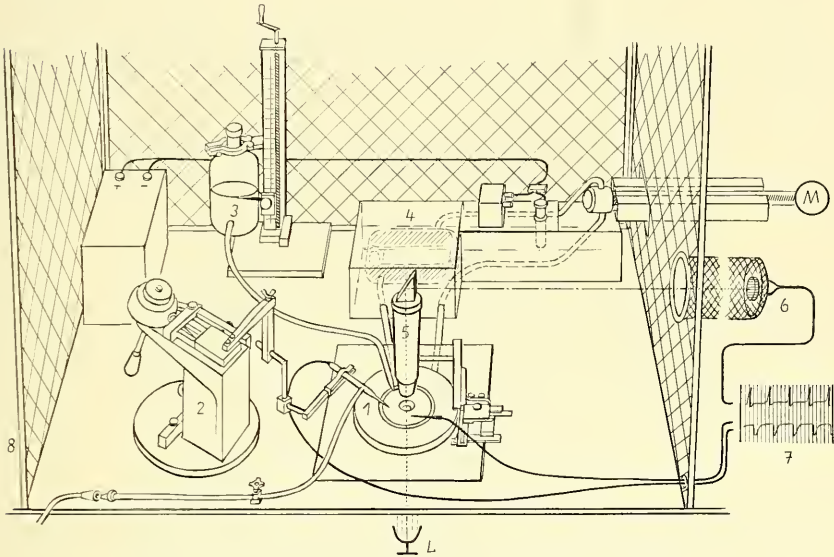
ABB. 1.

Isolierte Vena portae (weiße Maus) mit Mikrokanüle und Saugelektrode. Lebernah eingebundene Mikrokanüle zur Einstellung des Binnendruckes. Portalvene distal, vor abgehenden Gefäßen abgebunden. Vene ist leicht tordiert und lässt Spiralfalte erkennen. Links Saugelektrode mit Platindraht und ca. 150 μ d. aspiriertem Wandungspfropf der Portalvene.

METHODISCHES

Die Vena portae wird im mit Aether abgetöteten Tier freipräpariert, ausgeschnitten und in Ringerlösung (MISLIN 1961) aufs Versuchsgefäß übertragen. Die Einbindung der Mikrokanüle und das Abbinden der Vene erfolgt wie üblich (MISLIN 1947). Als Versuchstemperatur wurde 38° C gewählt. Zur Ableitung des Elektrovenogramms (Evg) wurden mit Vorteil Platin-Saugelektroden

benützt. Die Ansaugung wird an verschiedenen Stellen der Gefäßoberfläche vorgenommen und von der Wasserstrahlpumpe aus reguliert. Für die Synchronregistrierung der Aktionspotentiale und der



Versuchsanordnung der Registrierung aktiv pulsierender Gefäße

ABB. 2.

Versuchsanordnung der Registrierung aktiv pulsierender Gefäße.
(Photoelektrische Mikroprojektion und Synchronregistrierung von Elektroangiogramm und Myogramm bei Niederfrequenter Direktschreibung)

1. Versuchsgefäß mit Objekt.
2. Mikromanipulator mit Aspirationselektrode.
3. Drucksystem zum Blutgefäß.
4. Thermoregulator und Umwälzpumpe.
5. Objektiv mit Projektionsprisma
6. Gitterrohr mit Photoelement
7. Direktschreibung EEG (Schwarzer)
8. Faraday-Käfig.

Pulsbewegungen wird jeweils die der Ansaugstelle dichtanliegende Pulsstelle verwendet. Die Objektabbildung auf der Photozelle erfolgt mit rechtwinklig abgelenktem Strahlengang über ein Projektionsprisma, bei Scharfeinstellung der Gefäßwand.

Die vorliegende Mitteilung beschränkt sich auf erste experimentelle Daten zur Charakterisierung der biologischen und physio-

logischen Eigenschaften der Vena portae der weissen Maus: 1. Erregbarkeit, 2. Eigenfrequenz, 3. Temperaturabhängigkeit, 4. Druckabhängigkeit, 5. Jonale Beeinflussung, 6. Div. Pharmaka.

Diverse Pulsformen mit Aktionspotential bei Druck 0cm H₂O

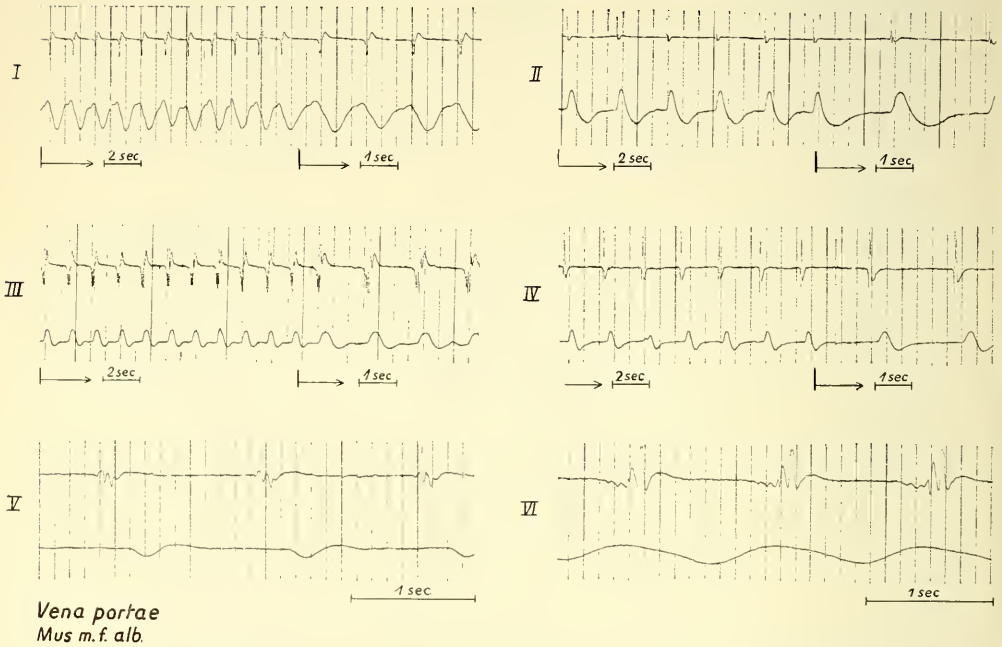


ABB. 3a.

1. Die Erregbarkeit. (Elektrovenogramm Evg).

Mit jeder Tätigkeit der Portalvene ist das Auftreten eines Aktionspotentials verknüpft, das wir in der Regel mit Platindraht-Saugelektroden physikalisch am einwandfreiesten ableiten konnten. Höhe und Form der Zacken sind bekanntlich von sehr verschiedenen, besonders physikalischen Ableitungsbedingungen abhängig. Auf diese methodisch bedingten Veränderungen des Aktionspotentials soll aber erst nach weiteren systematischen Untersuchungen eingegangen werden. In diesem Zusammenhang sind die histologischen Untersuchungen von Booz (1959) an der Rattenpfortader zu erwähnen, der gezeigt hat, dass der Wandbau dieses Gefäßes kompliziert

ist. Er findet besonders vielschichtige Muskellagen in der Adventitia, ein komplexes Netz längsverlaufender, circular angeordneter Muskelemente mit spiralliger Richtung. Ebenso eine auffallende Aehnlichkeit mit dem „syncytialen Aufbau der Herzmuskulatur“. Die strukturellen Verhältnisse bei der Mäusefortader scheinen sehr ähnlich zu sein. Für die Beurteilung der resultierenden Potentiale müssten die Faserrichtung der Venenmuskulatur, die Leitungs-

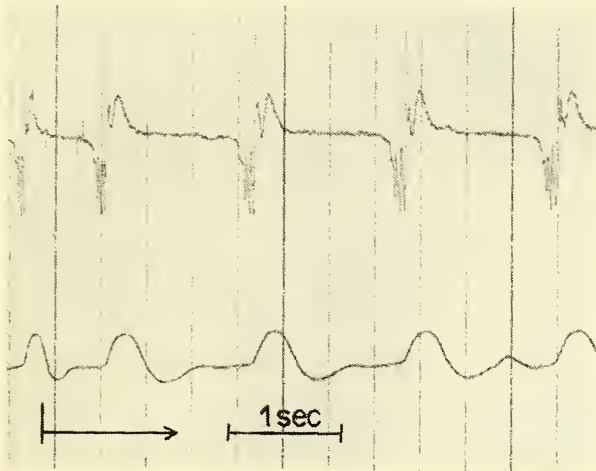


Abb. 3b.

zeit, die Dauer des Erregungsablaufs in den Längsfasern, die Unterschiede im Erregungsbeginn in den verschiedenen Muskelbezirken und die Art der syncytialen Verbindung der verschieden erregten Teile der Muskulatur berücksichtigt werden. Wir begnügen uns vorerst mit der allgemeinsten Charakterisierung des Zackenverlaufs. Am Evg lassen sich regelmässig bei diphasischem Aktionsstrom mehrere charakteristische Schwankungen unterscheiden. Die Abbildung 3a (I-VI) lässt in der Hauptsache zwei Vorgänge erkennen: Erstens ein Komplex schnell ablaufender Initialwellen (Vorschläge) und zweitens eine in die Länge gezogene Nachwelle. Der schnelle Zackenkomplex kann 2-4 gipflig sein. Der Ausschlag nach positiv ist in der Regel vorherrschend. Wir erhalten Amplituden des Potentials von 40-80 μ V. Meist ist die Zacke unmittelbar vor der Nachwelle am stärksten ausgeprägt (Abb. 3b). Letztere ist der eigent-

lichen Kontraktionswelle zugeordnet. Ueber die reale Gestalt der Zackenform kann beim gegenwärtigen Stand der Untersuchung nichts Endgültiges ausgesagt werden. Der Vergleich mit neueren Untersuchungen über Elektroangiogramme (RODDIE u. KIRK 1961) wird hier weiterführen.

2. *Eigenfrequenz der isolierten Portalvene.*

Die Majorität der isolierten Venen zeigt (Tab. 1) bei gleichen Versuchsbedingungen relativ geringe Frequenzunterschiede. Die für ein Gefäß typische Eigenfrequenz ändert sich auch über mehrere Stunden hinweg bei konstanten Bedingungen nur unwesentlich.

TABELLE 1.

Pulsfrequenzen diverser Portalvenen

(38° C, 0 cm H₂ O Druck)

Protokoll Nr.	Frequenz (f/min)
V.p. III 1	34
2	36
4	38
6	36
7	39
17	34
19	37
20	36
22	34
23	33
29	40
30	36
35	38

Mus m.f. alb.

3. *Temperaturabhängigkeit der Pulsfrequenz.*

Der biokinetische Temperaturbereich liegt für die Vena portae der weissen Maus zwischen 7° C und 47° C. Das Frequenzmaximum liegt bei 43° C. Zwischen 28° C und 39° C scheint die Frequenz (Abb. 4) ziemlich konstant zu bleiben. Es dürfte sich in diesem Temperaturgebiet um das Frequenzoptimum handeln. Die Tempe-

raturempfindlichkeit der Vena portae ist am ausgesprochensten oberhalb 39° C und unterhalb 28° C. Systematische Konditionierungsversuche sind an diesen Gefässen noch nicht durchgeführt worden, aber der Einfluss der Temperaturanpassung scheint gross zu sein.

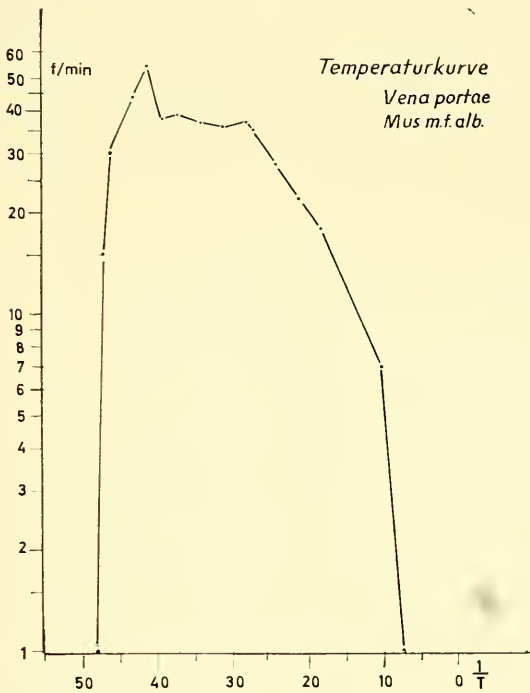


ABB. 4.

4. Druckversuche.

Die Portalvene der Maus ist durch eine ausgesprochene Druckempfindlichkeit gekennzeichnet. Beim kontinuierlichen Druckversuch (Tab. 2) ergibt zunehmender Binnendruck regelmässig eine Frequenzsteigerung bis auf 48/min. bei 6 cm H₂O. Höhere, unmittelbar anschliessende Druckstufen führen stets zur Abnahme der Pulsfrequenz. Bei direkt folgender Drucksenkung fällt die Frequenz gleichmässig ab und liegt aber wesentlich unter dem Ausgangs-

wert. Aus der Abbildung 5 ist zu sehen, dass bei extrem hohem Binnendruck (unterste Kurve links) ein erneuter Frequenzanstieg erfolgen kann.

5. *Jonale Beeinflussung der Portalvene.*

Hier fehlen noch die systematischen Versuche. Wir stellen durch K^+ -Überschuss eine deutliche Frequenzsteigerung fest mit einer regelmässigen Vergrösserung der Amplitude des Aktionspotentials (Abb. 6) Mit Ca -Überschuss erhalten wir eine schwache Pulshemmung, bei unverändertem Aktionspotential. Bemerkenswert ist hier die starke unregelmässige Beeinflussung der Pulsform.

TABELLE 2.

Druckversuche (38° C)

Druck (cm H ₂ O)	Frequenz (f/min)	Amplitude	Druck (cm H ₂ O)	Frequenz (f/min)	Amplitude
10	40	—	10	40	
9	44	—	9	42	(+)
8	45	—	8	39	=
7	44	—	7	39	=
6	48	—	6	33	=
5	45	=	5	33	+
4	45	=	4	30	+
3	42	=	3	30	+
2	39	=	2	30	(+)
1	39	—	1	28	+
0	39		0	27	+

Vena portae
Mus m.f. alb.

6. *Pharmaka.*

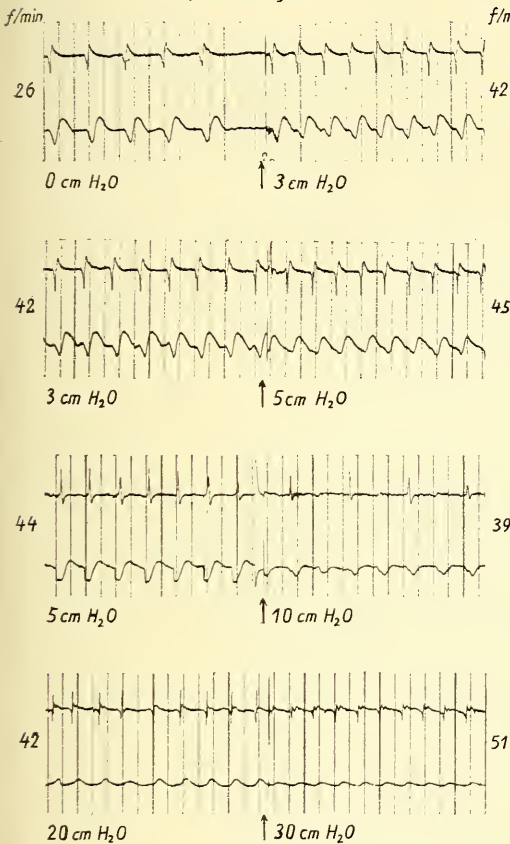
Es wurde eine grössere Zahl von pharmakologischen Substanzen an der isolierten Portalvene getestet (Abb. 7). Wir stellen die Ergebnisse hier zunächst ohne eingehendere Detailbesprechung zusammen. Mit Ausnahme von Papaverin (Abb. 7) und Antistin nach Hista-

min (Abb. 8) haben wir keine besonders wirksamen Hemmsubstanzen bis jetzt feststellen können.

Die beiden Abbildungen (Abb. 7 und 8) bringen ausgewählte Kurvenbeispiele für die Beeinflussung von Evg und Myogramm

Druckversuche

a) aufsteigend



b) absteigend

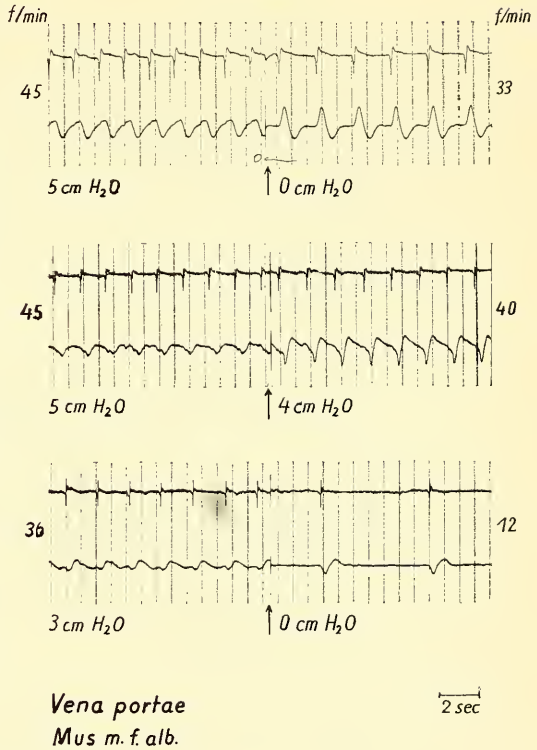


ABB. 5.

durch Pharmaka. Wie die Uebersicht schon gezeigt hat, haben die meisten der untersuchten Pharmaka erregend gewirkt. Besonders deutliche Anregung sehen wir bei Histamin und Noradrenalin. Letztere Substanz bei direkter Applikation allerdings erst bei

einer höheren Dosis. Besonders auffallend ist nun die Beeinflussung der Portalvene durch Acetylcholin. Bereits bei der sehr hohen Verdünnung 10^{-10} erhalten wir einen starken und langfristigen Effekt auf die Frequenz und Amplitude der Vene. Für die

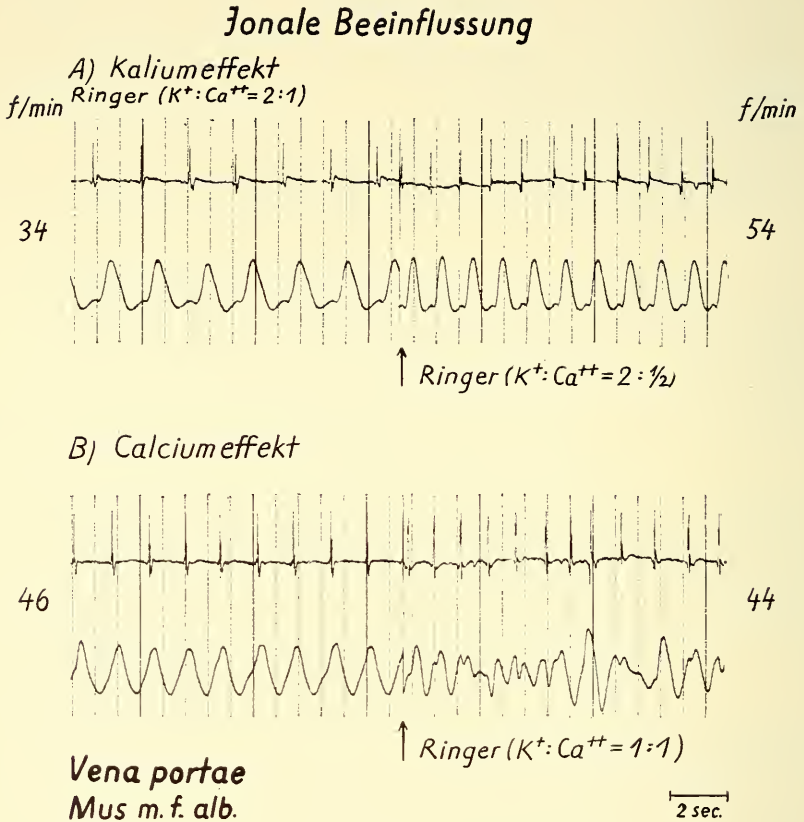


ABB. 6.

Dosisabhängige Wirkung des ACh bringt Abb. 9 vier Kurvenbeispiele. Bei einer Konzentration der Substanz von 10^{-7} erfolgt nach einer kurzfristigen aber auffallend starken Zunahme der Frequenz des Aktionsstromes bald Pulsstillstand in Diastole. Mit Physostigmin lässt sich eine deutliche Sensibilisierung der Portalvene für Acetylcholin erreichen. (Abb. 8, Kurve links oben.) Als bisheriges

Einwirkungen von Acetylcholin

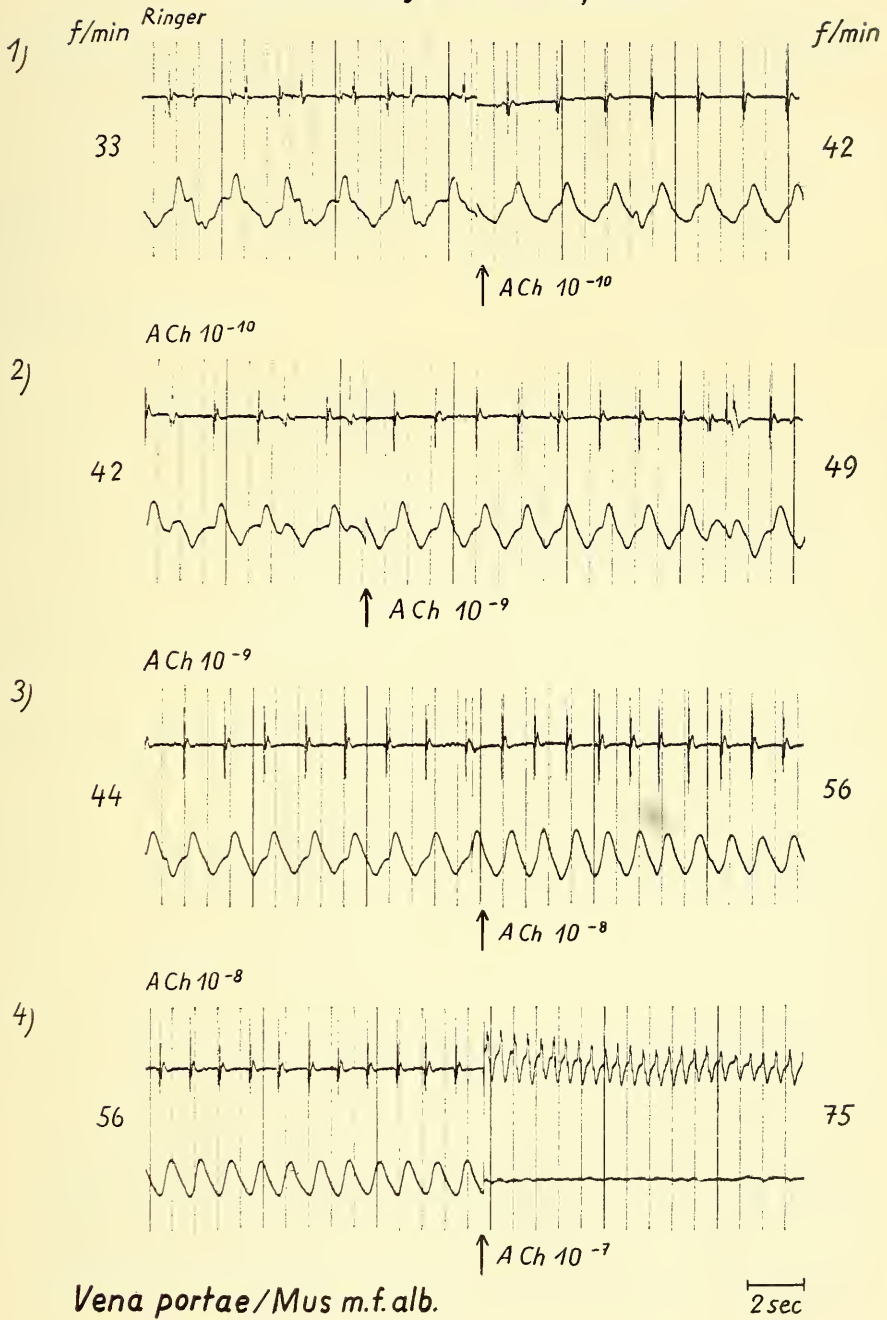


ABB. 7.

Hauptergebnis der Beeinflussung durch Pharmaka ist die ausgesprochen erregende und positiv inotrope Wirkung von Acetylcholin hervorzuheben. Die Versuche mit dem Acetylcholinhemmer

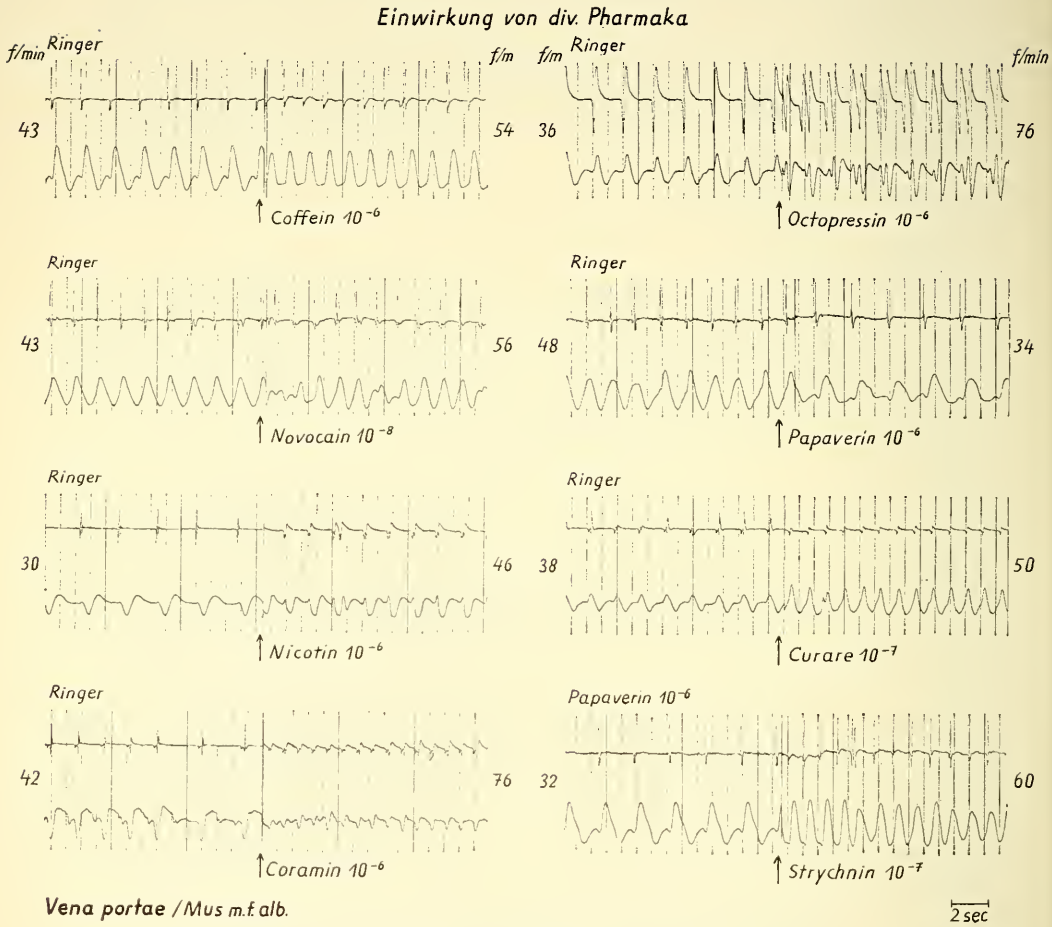


ABB. 8.

Atropin ergaben ein eindeutiges Ergebnis. Der spezifische Acetylcholineffekt konnte durch Atropin nicht unterdrückt werden. Wurde Atropin allein gegeben, so tritt eine positiv chronotrope wie inotrope Wirkung hervor, allerdings nur bei hoher Konzentration wie die Uebersichtstabelle (Tab. 3) zeigt. Der weitere Befund

ist hierzu von Bedeutung, dass Nicotin erregend wirkt (Abb. 7.) Atropin und Nicotinversuche sprechen dafür, dass die Innervation der autorhythmischen Portalvene adrenerg ist, dass also am Endorgan Arterenol (Nor-Adrenalin) freigesetzt wird. Wie die meisten postganglionären Fasern des Sympathikus erweisen sich auch die Fasern der Portalvene nicht als cholinerg. Die Vagus-

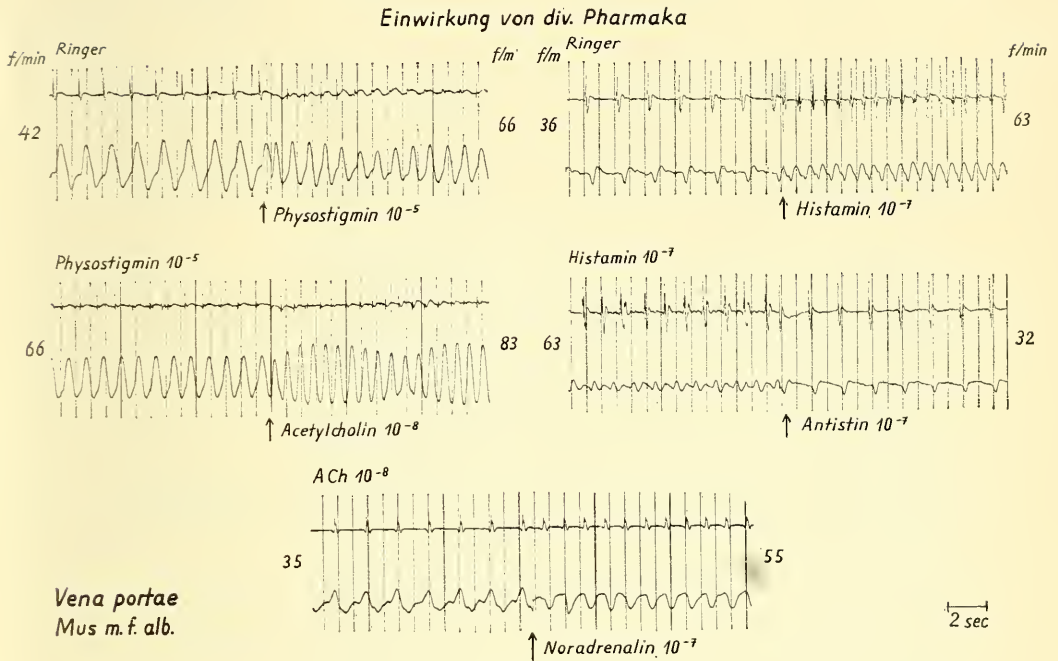


ABB. 9.

komponente fehlt dieser Vene. In dieser Hinsicht unterscheidet sich das Leber-Hilfsherz vom echten Herzen. Eine gewisse Verwandtschaft scheint zur Coronargefässinnervation zu bestehen. (Arterenol als Ueberträgerstoff). Es scheint in funktioneller Hinsicht eine Mittelstellung zwischen Herzmuskulatur und Koronargefässmuskulatur einzunehmen. Endgültiges kann auch hier erst nach eingehender elektrophysiologischer Untersuchung ausgesagt werden, die Aufschluss über die weiteren biologischen Eigenschaften der Vena portae geben werden.

TABELLE 3.

Einfluss diverser Pharmaka auf Rhythmus und Tonus der Vena portae
(Mus m.f. alb.)

Substanz	Verdünnung	Frequenz f/min	Amplitude	Spezifische Effekte	Bemerkungen (Aktionsstrom)
Acetylcholin	10 ⁻¹⁰	30 → 42	=	pos. chronotr.	sinuide Spindeln
Acetylcholin nach Physostigmin	10 ⁻⁸	66 → 83	+	pos. chronotr.	
Physostigmin	10 ⁻⁵	42 → 66	—	pos. inotrop	Sensib. ACH
Pilocarpin	10 ⁻⁷	39 → 62	+	pos. chronotr.	
Atropin	10 ⁻⁶	42 → 58	+	pos. inotrop	pos. chronotr.
Noradrenalin	10 ⁻⁹	35 → 55	=	pos. inotrop	
Adrenalin	10 ⁻⁸	48 → 45	=	pos. chronotr.	pos. chronotr.
Ergotamin	10 ⁻⁵	33 → 38	+	pos. chronotr.	
Histamin	10 ⁻⁷	36 → 63	=	pos. inotrop	pos. chronotr.
Antistin hoch	10 ⁻⁷	63 → 32	(+)	pos. chronotr.	
Histamin	10 ⁻⁶	43 → 54	—	pos. chronotr.	monophasisch
Coffein	10 ⁻⁸	43 → 56	=	pos. chronotr.	
Novocain	10 ⁻⁶	30 → 46	=	pos. chronotr.	monophasisch
Nicotin	10 ⁻⁶	60 → 72	(—)	pos. chronotr.	
Adenylphos.	10 ⁻⁵	44 → 62	=	pos. chronotr.	monophasisch
Coramin	10 ⁻⁶	42 → 76	—	pos. chronotr.	
Octopressin	10 ⁻⁶	36 → 76	+	pos. chronotr.	doppelgipfl.
Vasopressin	10 ⁻⁶	40 → 46	—	pos. inotrop	
Kallidin	10 ⁻⁶	20 → 28	(+)	neg. inotrop	pos. chronotr.
Papaverin	10 ⁻⁶	48 → 34	—	neg. chronotr.	
Curare	10 ⁻⁷	38 → 50	+	neg. inotrop	monophasisch
Strychnin nach Papaverin	10 ⁻⁷	32 → 60	+	pos. chronotr.	

Meiner technischen Assistentin Fräulein Renate Krause spreche ich für hervorragende Mitarbeit, wie auch der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die gewährte Unterstützung den besten Dank aus.

LITERATUR

- ATTARDI, G. 1955a. *Spontaneous peristaltic contractility in arteries and veins of adult birds and mammals (Rodentia), cultivated in vitro. Demonstration in vivo of a peristaltic activity in the portal of Rodents.* Compt. rend. Assoc. Anatom. Paris.
- D. ATTARDI-GANDINI, 1955b. *Spontaneous peristaltic activity of chick embryos and newly hatched chickens explanted in vitro.* Exper. 11, 37.
- 1955c. *Demonstration in vivo and in vitro of peristaltic contraction of the portal vein of adult mammals (Rodents)* Nature, 176.
- BOOZ, K. H. 1959. *Experimentelle und morphologische Beobachtungen an der Vena portae der weissen Ratte.* Annales Universitatis Saraviensis Med. 116-154.
- CARLSON, A. J. 1904. *Contributions to the physiology of the heart of the California hagfish (Bdellostoma dombeyi).* Zeitschr. allgem. Physiol. 4, 259.
- MISLIN, H. 1947. *Das Präparat des Venensäckchens.* Helv. Physiol. Acta 5, C 3- C 4.
- 1959. *Zum Problem der Selbstregulation des Venenherzens (Chiroptera)* Helv. Physiol. Acta 17, C 27- C 31.
- 1961. *Zur Funktionsanalyse der Lymphgefässmotorik (Cavia porcellus L)* Rev. suisse Zool. 68, 228-238.
- MONNIER, M. 1944. *Erregungsleitung in der Arterienwand.* Helv. physiol. Acta 2, 279.
- RODDIE, J. C. and KIRK, S. 1961. *Transmembrane action potentials from smooth muscle in turtle arteries and veins.* Science p. 736.

N° 24. **Verena Uehlinger**, — Un nouveau cas de ségrégation anormale des nucléoles chez le batracien anoure *Xenopus laevis*. (Avec 1 figure dans le texte.)

Station de Zoologie expérimentale, Université de Genève.

Le type sauvage du batracien anoure *Xenopus laevis* porte dans le noyau de chacune de ses cellules deux nucléoles. Quelquefois ces 2 nucléoles se fusionnent en un seul corps de volume double. Cette fusion se présente avec des fréquences caractéristiques pour les différents tissus du corps (WALLACE thèse 1961: « indice de fusion

nucléolaire»). La formation du nucléole est présidée par l'organisateur nucléolaire, localisé sur une des 18 paires de chromosomes de *Xenopus laevis*. Un nombre plus élevés que deux nucléoles ne se rencontre que dans les individus polyploïdes.

L'absence ou l'inactivité de cet organisateur nucléolaire se transmet sous forme de mutation mendélienne, selon le mode monohybride, et est indépendant du sexe:

$$\begin{array}{ccccccc}
 +/+ & \times & +/+ & & +/m & \times & +/+ & & & & +/m & \times & +/m \\
 & & \downarrow & & & & \downarrow & & & & & & \downarrow \\
 100\% & & +/+ & & 50\% & +/m, & 50\% & +/+ & & & 25\% & +/+, & 50\% & +/m, & 25\% & m/m
 \end{array}$$

Une souche de *Xenopus laevis* présentant cette anomalie a été obtenue par ELSDALE, FISCHBERG et SMITH (1958) à partir d'une femelle hétérozygote, importée d'Afrique. On ignore s'il s'agit d'une mutation spontanée de cette femelle, ou d'un facteur nucléolaire inhérent à certaines souches sauvages. Les auteurs s'étaient servi du nombre nucléolaire comme indice de polyploidie. L'apparition d'une femelle privée de l'un des deux organisateurs nucléolaires avait pour résultat la création d'une souche hétérozygote à un seul nucléole dans tous les noyaux de l'individu. La descendance des hétérozygotes présente la ségrégation de 2 hétérozygotes à un nucléole, pour 1 homozygote du type sauvage à deux nucléoles. Une létalité cellulaire précoce élimine les embryons homozygotes ne portant aucun nucléole (FISCHBERG et WALLACE 1960).

Pour déterminer le pourcentage exact de chaque groupe de ségrégation nous avons effectué trois séries de croisements: entre femelles hétérozygotes et mâles sauvages, entre femelles sauvages et mâles hétérozygotes et entre femelles et mâles hétérozygotes. Les résultats consignés dans le tableau 1 montrent un très bon accord entre les fréquences observées et les valeurs théoriques mendéliennes (test du χ^2 pour conformité).

Les triploïdes et tétraploïdes spontanés sont compris dans les groupes des embryons à deux nucléoles. Le risque d'inclure un polyploïde issu d'un hétérozygote est faible; mais il est toujours possible qu'un polyploïde issu du dédoublement du chromosome porteur de l'organisateur nucléolaire chez l'hétérozygote, simule un individu porteur de 2 nucléoles.

Dans tous les croisements effectués, les résultats se situent à l'intérieur des limites de variation d'une répartition binomiale avec un seuil de sécurité relativement élevé de 10%.

TABLEAU 1.

Ségrégation normale du facteur nucléolaire

Parents ♀♂		Nombre de croisements	Embryons examinés						Conformité		
			0 nucléole nombre %		1 nucléole nombre %		2 nucléoles nombre %		total	χ^2	p
1 nu	2 nu	8	—	—	461	48,7	486	51,3	947	0,7	45%
2 nu	1 nu	8	—	—	465	48,0	503	52,0	968	1,9	17%
1 nu	1 nu	9	346	24,6	706	50,2	354	25,2	1406	0,1	94%
contrôles: 2 nu 2 nu		4	—	—	—	—	193	100,0	193		

Cependant, un cas exceptionnel s'est présenté lors du croisement d'une des femelles hétérozygotes avec un mâle sauvage: les embryons obtenus portaient tous un seul nucléole par noyau. L'examen de 28 embryons au stade neurula, 15 au stade de l'éclosion et 71 au stade de nutrition donnait au total 114 embryons uninucléolés, sans exception. Une centaine d'embryons de ce croisement particulier ont été élevés aux fins de l'analyse génétique. Pour déterminer le parent auteur de ce résultat inattendu, le mâle (2 nucléoles) a été croisé avec une femelle à deux nucléoles également. Les 100 embryons examinés étaient tous binucléolés. De son côté, la femelle (1 nucléole) croisée avec un mâle également hétérozygote (1 nucléole) donnait 50% d'embryons hétérozygotes à 1 nucléole et 50% d'embryons homozygotes sans nucléole (cf. tableau 2).

TABLEAU 2.

La ségrégation anormale du facteur nucléolaire, entre deux parents hétérozygotes

Nombre de nucléoles/noyau	Embryons examinés	Embryons classés suivant le syndrome	Total
0 nu	133	114 (syndrome 0 nu)	247 = 49,7%
1 nu	124	122 (normaux)	246 = 50,3%

L'arbre généalogique de cette famille est représenté dans la figure 1.

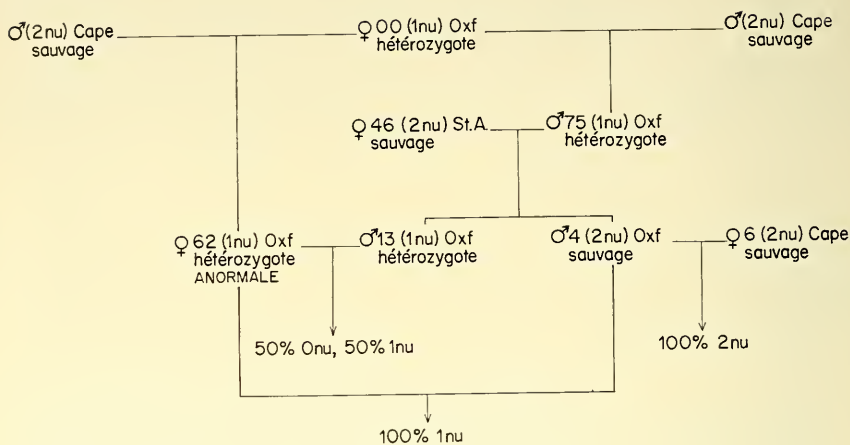


FIG. 1.

Arbre généalogique de la femelle 62 (1nu) Oxf.

Par l'observation de ces croisements nous pouvons conclure que la femelle hétérozygote 62 (Oxf. 1 nu) produit des ovules dont aucun n'apporte un organisateur nucléolaire au zygote. La femelle-même présente un nucléole dans les noyaux des cellules épithéliales et porte donc l'organisateur nucléolaire. Nous avons constaté le développement jusqu'au stade neurula de tous les œufs fécondés triés et observés. Ceci exclut d'emblée la possibilité d'une élimination d'un groupe d'embryons à un stade très jeune. 70% des œufs d'une ponte se développent normalement; ce pourcentage est trop élevé pour admettre que la moitié des œufs de la femelle ne serait pas fécondable. En outre, nous ne sommes pas en présence d'un facteur véhiculé par le chromosome contenant l'organisateur nucléolaire, qui provoquerait la fusion des nucléoles: par le croisement d'un tel hétérozygote avec un hétérozygote normal nous aurions dû obtenir 25% d'embryons sans nucléoles et 75% d'embryons avec un seul nucléole.

La seule hypothèse en accord avec toutes nos observations doit impliquer la perte de l'organisateur nucléolaire au courant de l'ovogénèse ou au moment de la réduction chromatique. BLACKLER

(communication personnelle) vient de montrer récemment que des cellules germinales primordiales, homozygotes pour l'absence du facteur nucléolaire, dépérissent et sont incapables de subir le processus de l'ovogenèse. Un organisateur nucléolaire au moins (c.-a.-d. le segment du chromosome qui fait défaut dans la souche uni-nucléolée) est indispensable à la formation de l'ovule. Les divisions de maturation ont lieu au courant de l'ovulation et une demi-heure après la fécondation respectivement. C'est à ce moment que l'organisateur nucléolaire semble toujours être éliminé du pronucléus femelle. Par l'étude cytologique qu'entreprend actuellement M^{lle} J. REYNAUD à la Station de Zoologie expérimentale, nous savons qu'il n'y a pas de perte d'un chromosome. Parallèlement à cette analyse chromosomique, il nous reste maintenant à compléter l'analyse génétique par les croisements inter se des F₁ qui atteindront la maturité sexuelle dans quelques mois. Elle nous révélera si cette anomalie de la ségrégation du facteur nucléolaire est héréditaire, ou due à une particularité individuelle non-transmissible.

BIBLIOGRAPHIE

- ELSDALE, T. R., M. FISCHBERG and S. SMITH, 1958. *A mutation that reduces nucleolar number in Xenopus laevis*. Exp. Cell Res. 14, 642-3.
- FISCHBERG, M., and WALLACE, H. 1960. *A mutation which reduces nucleolar number in Xenopus laevis*. In "The Cell Nucleus", ed. J. S. Mitchell. London, Butterworth.
- WALLACE, H., 1961. *Observations on the nucleolus in Xenopus laevis and on the effects of its absence in a new mutant strains*. Thèse, Oxford.
-



N° 17.	H. SÄGESSER und W. HUBER, Metrische Beziehungen der Rosenstöcke zum Geweih und zur Frontalnaht beim Reh (<i>Capreolus capreolus</i>). Mit 6 Textabbildungen	277
N° 18.	H. HUGGEL, A. KLEINHAUS, M. HAMZEHPOUR, Composition du sang de <i>Salmo gairdneri irideus</i> et <i>Squalius cephalus</i> . Avec un tableau dans le texte	286
N° 19.	Yvette KUNZ, Die embryonale Harnblase von <i>Lebistes reticulatus</i> (Guppy). Mit 7 Textabbildungen	291
N° 20.	F. E. LEHMANN und M. HENZEN, Zur Mikrocytologie der Meiose und Mitose von <i>Tubifex</i> . Mit 2 Textabbildungen und 2 Tafeln	298
N° 21.	M. LÜSCHER und I. WALKER, Zur Frage der Wirkungsweise der Königinnenpheromone bei der Honigbiene. Mit 4 Textabbildungen	304
N° 22.	R. MARTIN und P. TARDENT, Kultur von Hydroiden-Zellen in vitro. Mit 2 Tafeln	312
N° 23.	H. MISLIN, Zur Funktionsanalyse des Hilsherzens (<i>Vena portae</i>) der weissen Maus (<i>Mus musculus</i> f. <i>alba</i>). Mit 9 Textabbildungen und 3 Tabellen	317
N° 24.	Verena UEHLINGER, Un nouveau cas de ségrégation anormale des nucléoles chez le batracien anoure <i>Xenopus laevis</i> . Avec 1 figure dans le texte	331



PUBLICATIONS
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

En vente chez **GEORG & Cie**, libraires à Genève.

CATALOGUE DES INVERTÉBRÉS DE LA SUISSE

Fasc. 1. SARCODINÉS par E. PENARD	Fr. 12.—
Fasc. 2. PHYLLOPODES par Th. STINGELIN	» 12.—
Fasc. 3. ARAIGNÉES par R. DE LESSERT	» 42.—
Fasc. 4. ISOPODES par J. CARL	» 8.—
Fasc. 5. PSEUDOSCORPIONS par R. DE LESSERT	» 5.50
Fasc. 6. INFUSOIRES par E. ANDRÉ	» 18.—
Fasc. 7. OLIGOCHÈTES par E. PIGUET et K. BRETSCHER	» 18.—
Fasc. 8. COPÉPODES par M. THIÉBAUD	» 18.—
Fasc. 9. OPILIONS par R. DE LESSERT	» 11.—
Fasc. 10. SCORPIONS par R. DE LESSERT	» 3.50
Fasc. 11. ROTATEURS par E.-F. WEBER et G. MONTET	» 38.—
Fasc. 12. DÉCAPODES par J. CARL	» 11.—
Fasc. 13. ACANTHOCÉPHALES par E. ANDRÉ	» 11.—
Fasc. 14. GASTÉROTRICHES par G. MONTET	» 18.—
Fasc. 15. AMPHIPODES par J. CARL	» 12.—
Fasc. 16. HIRUDINÉES, BRANCHIOBDELLES et POLYCHÈTES par E. ANDRÉ	» 17.50
Fasc. 17. CESTODES par O. FUHRMANN	» 30.—
Fasc. 18. GASTÉROPODES par G. MERMOD	» 68.—

LES OISEAUX DU PORT DE GENÈVE EN HIVER

par F. DE SCHAECK

Avec 46 figures dans le texte. Fr. 6.—

En vente au Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

CATALOGUE ILLUSTRÉ DE LA COLLECTION LAMARCK
APPARTENANT AU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

1^{re} partie. — FOSSILES — 1 vol. 4^o avec 117 planches. Fr. 300.—

COLLEMOLENFAUNA EUROPAS von H. GISIN

312 Seiten, 554 Abbildungen Fr. 24.—