

REVUE ROUMAINE DE B I O L O G I E

— SÉRIE DE ZOOLOGIE —

B I O L . I N V . 93

COMITÉ DE RÉDACTION

Rédacteur en chef :

EUGEN PORA, membre de l'Académie de la République Socialiste de Roumanie

Rédacteur en chef adjoint :

R. CODREANU, membre correspondant de l'Académie de la République Socialiste de Roumanie

Membres :

MIHAI A. IONESCU, MIHAI BĂCESCU, OLGA NECRASOV, GRIGORE ELIESCU, membres correspondants de l'Académie de la République Socialiste de Roumanie ; MARIA CALOIANU, secrétaire de rédaction.

Les manuscrits, les livres et les revues proposés en échange, ainsi que toute correspondance seront envoyés à la rédaction : 296, Splaiul Independenței, Bucarest, Roumanie.

La « Revue Roumaine de Biologie — série de Zoologie » paraît 6 fois par an.

Toute commande de l'étranger (fascicules ou abonnements) sera adressée à CARTIMEX, Boîte postale 131—135, Bucarest, Roumanie, ou à ses représentants à l'étranger.

TOME 12

1967

N° 3

SOMMAIRE

	Page
M. BĂCESCU, Further mysids from the Pacific Ocean collected during the XIth cruise of R/V "ANTON BRUUN", 1965	147
L. Г. ВОРОНИН, Г. АПОСТОЛ, Л. В. КАЛЮЖНЫЙ, Изменения ЭЭГ при условном ориентировочном и пищедобывательном рефлексах на цепной раздражитель у кроликов	161
P. JITARIU und N. TOPALĂ, Der Einfluß elektromagnetischer Felder niederer Frequenz und Intensität auf die Entstehungsdynamik der Antikörper	173
AL. LUNGU, MINODORA BUNEÀ, V. TEODORU, ANA CRISTOVĂNEANU, ALINA TACHE and I. DINU, Reactivity of the adrenal cortex in phenomena of meteorotropism in rams .	179
I. MOTELICĂ et N. ȘANTA, Influence de l'insuline sur la galactosémie provoquée chez la carpe (<i>Cyprinus carpio</i> L.) . . .	189
C. A. PICOS and M. CUCERZAN, Contributions to the study of the energetic metabolism of mollusca	195
V. PINTEA, N. CRISTA, E. PORA, L'influence du rapport K/Ca sur l'excitabilité des intérocepteurs intestinaux	203

BIOLOGIE
SERIE DE ZOOLOGIE
BIOLOGIE
SERIE DE ZOOLOGIE

FURTHER MYSIDS FROM THE PACIFIC OCEAN
COLLECTED DURING THE XIth CRUISE
OF R/V "ANTON BRUUN", 1965

BY
M. BĂCESCU

Three new Mysids, *Mysidetes peruana*, *Amblyops ewingi*, and *Hansenomysis tropicalis*, are described from specimens collected by the author from the Peru Trench during the XIth cruise of R/V "Anton Bruun". These, together with six new *Hansenomysis* species recently described by the same author from the same deep, raise the problem of migration of the benthic forms from both hemispheres along the great sea depths swept by the cold S-N currents.

In September and October 1965 I took part in an expedition devoted to the research of the benthic fauna of the deep Peru Trench aboard the research vessel "Anton Bruun". On that occasion benthic mysids were taken from trawls every 500 m to 6,300 m, maximum depth explored (Menzies R. J. and Chin, 1966).

The very first examination of the material revealed a particular feature of the Peru Trench (Milne Edwards Deep), namely the unexpected occurrence, in the vicinity of the equator, of members of some genera usually thriving either in the antarctic waters (*Hansenomysis*, *Mysidetes*) or in the arctico-boreal ones (*Amblyops*, *Boreomysis*).

Thus, 5 species only were so far known in the primitive genus *Hansenomysis* (3 antarctic ones and 2 arctico-boreal); then, from material taken with trawls from 500 to 2,500 m depths in the Peru Trench, the author described no less than six new species. In the present paper, three further species are described, namely *Mysidetes peruana* n. sp., *Amblyops ewingi* n. sp., and another *Hansenomysis*, *H. tropicalis* n.sp.

***Mysidetes peruana* n. sp.**

(Figs. 1 and 2)

Locality and material : Pacific Ocean, Peru Trench, 14 Oct. 1965, sta. 85, XIth Cruise R/V "Anton Bruun"; 7°52.5'S; 80°29.5'W. With a Menzies-trawl from hard, silty-sandy bottoms rich in Foraminifera, at

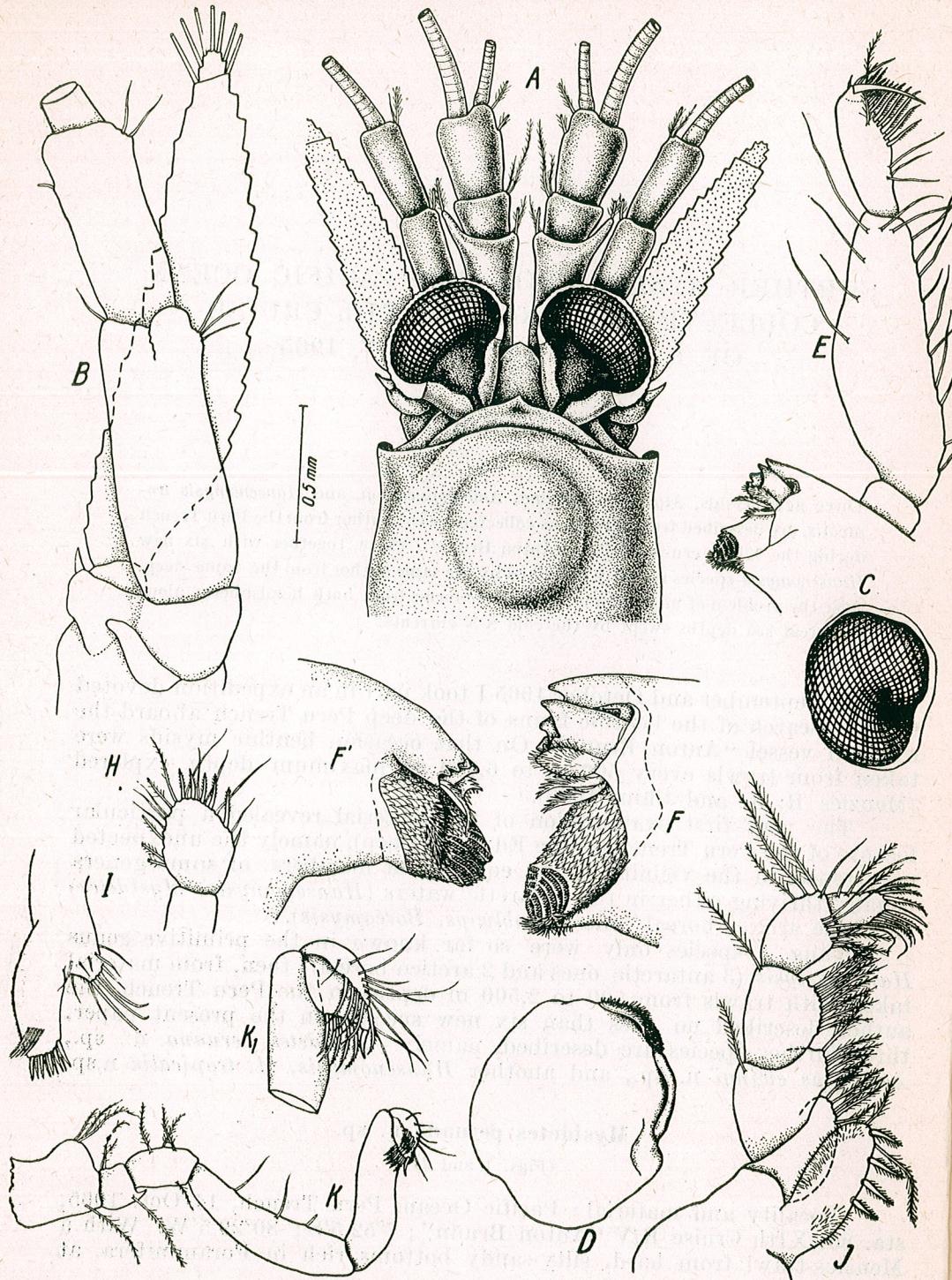


Fig. 1. — *Mysidetes peruviana* n.sp. ♀ = 8 mm;
A, Cephalic region from above; B, A₂; C, Eye, front view; D, Labrum; E, mandible; F, F', masticatory parts of symmetrical mandibles, enlarged; H, Maxilla I; I, terminal joint of palp of maxilla II; J, Maxillipede I; K, Maxillipede II; K₁, terminal part of the latter, enlarged (original).

520 m depth : 5 specimens : 2 adult ones (1♂, 1♀) and 3 juveniles. Type specimen (♀) and allotype deposited in the types collection of the "Gr. Antipa" Museum of Natural History, nos 109—110.

DESCRIPTION

Animals of extreme fineness, with integument so transparent that it is very difficult to examine microscopically the contours of the appendages after the red colour has faded away ; elegant in shape, fragile. Rostrum hardly outlined (Fig. 1A), anterolateral edges of carapace rounded. Posterior portion of carapace with deep narrow indentation uncovering the last 2 thoracic segments medio-dorsally only. Last abdominal segment as long as preceding 2 ones and slightly longer than telson.

The female. Antennule of usual type in the genus with long external projection in proximal joint of the sympodium, about as long as middle joint (Fig. 1A).

Peduncle of antenna as long as base of A₁, both hardly shorter than scale of A₂ (all three are actually situated in the same line, Fig. 1A); scale as usual in the genus, lanceolate and hairy all round. Its length 4.5—5 times its breadth. Apex minute but well separate, provided with 4 setae. On the sympodium, at the outer base of the scale there are only two small swellings (Fig. 1B) (instead of the double terminal thorns as in other species).

Eyes immense, conical in dorsal view ; volume of globular corneal part definitely larger than peduncular part ; cornea orange-brown, base of it bright red continued as red axis (Fig. 1A, dotted) in contrast with white peduncle. The eyeball appears slightly flattened in side view ; in front view the cornea appears as in figure 1 C. Eye with brown ommatidia fixed in a tissue that is easily broken if the slide is pressed upon the eye and the ocelli scatter then like match sticks. Stomach bright green, rich in filtering and triturating phanera. It is expected that morphologists should devote more attention to their study.

Labrum rounded (Fig. 1D). *Mandible* with usual palp (Fig. 1E) has *pars incisiva* composed of 3 teeth, one movable lacinia with 2 teeth near 2 massive serrate setae and a large, strongly scaled *pars masticatoria* that ends in a rasp with 6 rows of denticles (Fig. 1F). The opposing mandible is additionally provided with a row of thorny setae (Fig. 1F').

Maxilla I of the usual type (Fig. 1H) ; the same concerning *maxilla II* ; in the latter the distal joint of the palp is oval-circular in shape (Fig. 1 I) and has 6 poorly serrate thorns in outer terminal portion, which increase in length towards terminal part of the lamella (the first ones are simple thorns).

Maxillipede I (Fig. 1 J) is provided with weak carpoischial endite but with strong, hairy endite of the basipodite.

Maxillipede II foot-like in shape, weak (Fig. 1K), provided with strong dactylus covered with numerous double serrate phanera and with setae. The dactylus is strongly bent towards the propodeite and has the appearance of a pseudochela (something as a rake for bringing waste together, not for taking hold of the prey) (Fig. 1K₁).

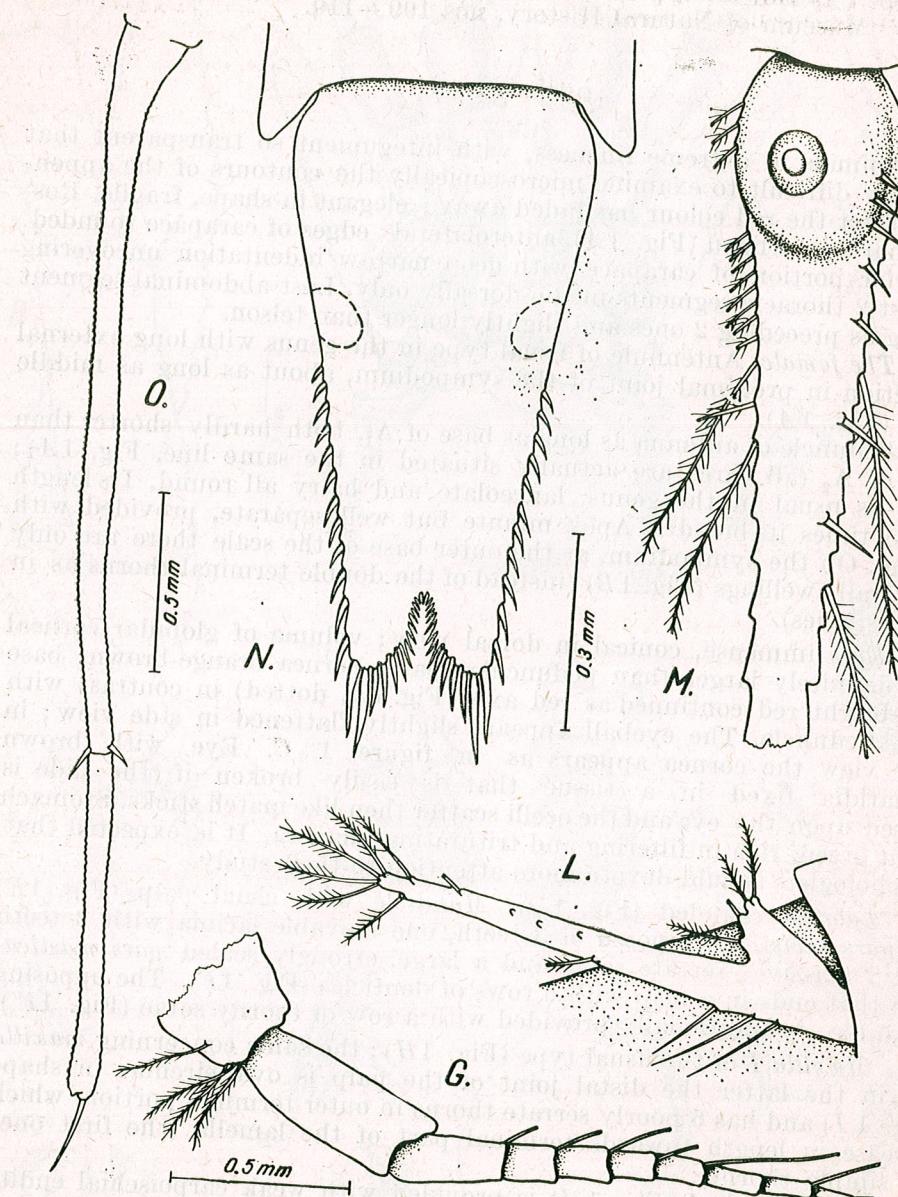


Fig. 2.—*Mysidetes peruana* n. sp. (continued);
G, exopodite of pereiopod IV, broken; L, pleopod V♀; M, uropodal endopodite; N, telson; O, penis, ♂ = 7.8 mm (original).

The pereiopods are broken in all five specimens. They are extremely fine and fragile; therefore one cannot state the number of the carpopropodal joints; one can only infer their length from the size of the exopod of propodus VI whose flagellum is 7-jointed (Fig. 2G). Well developed oostegites.

Female pleopod — similarly as the male pleopod in the genus *Mysidetes* — uniramed, provided with strong pseudobranchial lobe, short in the first pairs, reaching 2/3 length of last pleonite in the 6th pair (Fig. 2L).

Uropod longer than telson; being fine they are broken in three specimens. Endopodite provided with large statocyst and bearing a row of 7–8 strong, set far apart and well outlined spines which increase in length towards the distal area (Fig. 2M) where they overreach the half of the lamella; 3 spines on the swelling of the statocyst.

Telson evidently shorter than last pleonite, robust, twice longer than maximum length (Fig. 2N). Edges of telson straight, armed with 11–13 spines situated in the distal half. These are strong and increase in length towards the apex of the lamella; no alternating thorns between them.

The apical sinus is one of the shortest among those described in the members of the genus; its lobes (terminal spines not included) occupy 1/7 only of length of the lamella, its end does not overreach the 3rd pair of lateral spines; only in *M. microps* is the sinus shorter (1/10 of length of telson). The sinus has 8 to 9 laminae (unarticulated phaneroid projections) occupying and nearly closing its space; the laminae grow into 3 subapical spines which gradually pass into the 3 apical spines of the telsonal lobes; the middle spine is the longest (Fig. 2N).

The male. The male does not differ from the marsupiferous female either in the pleopod or in A₁ (which has no ♂ lobe either in the adult animal) (does it develop only during copulation?). The morphology of the male parts is generally similar to that of the female parts. However, it differs obviously by the huge copulatory organ, reddish-brown in the live animal. When bent posteriorly it reaches the base of the telson whereas when bent anteriorly its tip reaches the scale apex. Its appearance is that of a fine tube, folded throughout its length, slightly dilated at the tip which ends in a simple seta and at the base; absolute length 3.5 mm in a male having 7.8 mm total length (cf. Fig. 2O).

Length of specimens examined: ♂ = 7.8 mm; ♀ with marsupial pouch = 8 mm; by their sizes they resemble only the population of *M. kerguelensis* studied by O. Tattersall (1955).

Coloration in the live animal. As a whole these animals are impressively transparent, however, all appendages are red to basis; a red dorsal stripe along the digestive tube and red areas at the articulation of the pleonites; all oral parts to maxillipede II included bright red. Eyes bright red with shining orange phosphorescent-like centres that look like two beacons. The line that divides the eye from its peduncle is blood-red and serves as orange floodlight for the cornea (in fact, when unloosen, the ommatidia are brown-yellow in coloration). A coloration peculiarity of the species makes that the gastric area looks black-red when viewed from above while the stomach is of a beautiful emerald green. All the stomach lining and its rich inner structure — hairs and paired claws and all kinds

of serrate setae, some of these phanera being grouped as tufts — are of the same green colour. However, the bright coloration of the live animal fades away a few hours after the capture; as soon as they are killed the animals become transparent with red cephalothorax, then the body becomes opaque.

After five months of preservation in the dark, they still retain a general pink appearance, while the eyes and penis preserve a blood-red coloration and the stomach its emerald green colour.

I dealt rather extensively with coloration in this animal since, except for the single European member of the genus (*M. farrani*), the colour of the live animal had not been described in any one of the species.

The blood-red coloration of this animal recalls that of the *Hemimysis* species from European waters. These resemble moreover *M. peruana* also in the scale of A₂. In addition, the coloration of this mysid is quite similar to that of an unidentified *Mysidetes antarctica* photographed in colours by J. H. Dearbon and reproduced by O. Tattersall (1965 a, p. 8).

REMARKS

The main features of *Mysidetes peruana* are extreme fineness and frailty, small size (*M. kerguelensis* alone has individuals less than 10 mm long), enormous length of the male copulatory organ, to which one should add the presence of immense globular eyes, minute telsonal sinus, and antennal scales reaching tips of bases of A₁ and A₂.

By the length of its penis — capable to overreach the apex of A₂ — the new species resembles only the recently described *M. antarctica* O. Tatt. 1965 and *M. kerguelensis*; moreover, the small number of spines of the uropodal endopodite (8—11) spaced along the lamina is also a common feature of both species. However, the new species differs from the former species by its scale of A₁, which overreaches the antennal base as well as by the row of latero-proximal spinules of the telson; from the latter species it differs by its superficial sinus (1/7 of the lamella) provided with over 60 minute laminae and a broad scale of A₂ (its length only 3 times its breadth), to mention only these features.

From all the remaining species provided with globular eyes and with scales that reach the tip of the sympodia of A₁ and A₂ (for example, *M. macrops*), the new species differs firstly by its enormous penis and the superficial sinus of the telson as it results also from the papers of O. Tattersall, published from 1955 to 1965, which are the most substantial studies on the genus. The last study includes also a key to the 13 known species.

An interesting fact is that the single male specimen of *M. peruana* studied appears to be a perfectly adult individual according to all data (cf. O. Tattersall 1955, p. 1942), however, there is no trace whatsoever of a male lobe of A₁ (it is hard to state whether that is a characteristic feature of the species) or the lobe — as well as its hairs — develop only during the copulation period.

Mysidetes appears as an antarctic and Peruvian alternative to the boreal-Mediterranean *Hemimysis*. It is now convenient to reflect upon the conclusion — which the present author also accepted — that colour in *Hemimysis* is due to its living among the red algae; certainly, the deter-

mining factor for the blood-red coloration is darkness; the darkness of the caves or of the anfractuosities of the rocks in the case of *Hemimysis*, the eternal darkness of depths beyond 300 m in the case of *Mysidetes*.

A most interesting fact is the occurrence of *Mysidetes*, a well-known antarctic genus, in localities situated not farther than 7°—8° South of the equator.

Indeed, of 13 known species belonging to this genus, 2 are circumantarctic ones, 8 are cantoned between Tierra del Fuego and the Antarctic continent or in other antarctic seas, none of them overreaches the latitude of 48°N; one species only, *M. farrani*, is known from the northern hemisphere (Ireland waters, West Mediterranean, Canary Islands). The gap between 25°N and 48° S is now filled with the present finding, off the shores of Peru in full cold Humboldt current, of the first tropical member of the group. And this number is expected to increase when the benthic faunas of the Peru-Chile deep or of the West African waters bathed by the Benguela current are further explored.

While occurring in the vicinity of the Kerguelen islands the genus could hardly lack on the bottoms between South Africa and the mentioned islands whence one member of it reached northwards with the help of the cold currents and became *M. farrani*. A curious fact, however, is that the modelling of *M. peruana* resulted as a form resembling *M. kerguelensis* rather than the Falkland-Georgian species. Not till the benthic Malacostraca of the oceanic depths are better known will one be able to understand the true origin of other antarctic mysids from the Canary islands-Ireland area (*Hanseomysis fyllae*, *Pseudomma*, *Boreomysis inermis*, a.o.).

Amblyops ewingi n. sp.

(Figs. 3 and 4)

Locality and material : Peru Trench, Pacific Ocean, Sta. 105, XIth. Cruise R/V "Anton Bruun"; 2,519 m depth; 8°18'S; 80°43'W; 17 Oct. 1965, 1 ♀ = 18 mm; holotype (dissected) no 111 in the types collection of the "Gr. Antipa" Museum of Natural History.

DESCRIPTION

Massively shaped, recalling *A. durbani* O. Tatt. Cephalothorax as in figure 3 A, B, folded; gastric area evidently prominent. The animal seems to possess eyes; however, on closer examination these appear to be two free moving plates with posterior portion fused with lower part of the frontal area of carapace; moreover, a depression situated in front of an anterior outer lobe still marks the site of the corneal part of the reduced eyes. This part is perfectly rounded at the outside, deeply excavated below (not spherical as in the usual type of eyes of the mysids) and does not possess sight elements. In the live animal the pseudocornea of *A. ewingi* is red in colour; when preserved, it becomes white. This peculiar "eye" is perfectly smooth, having no phanera or dactyloid projections.

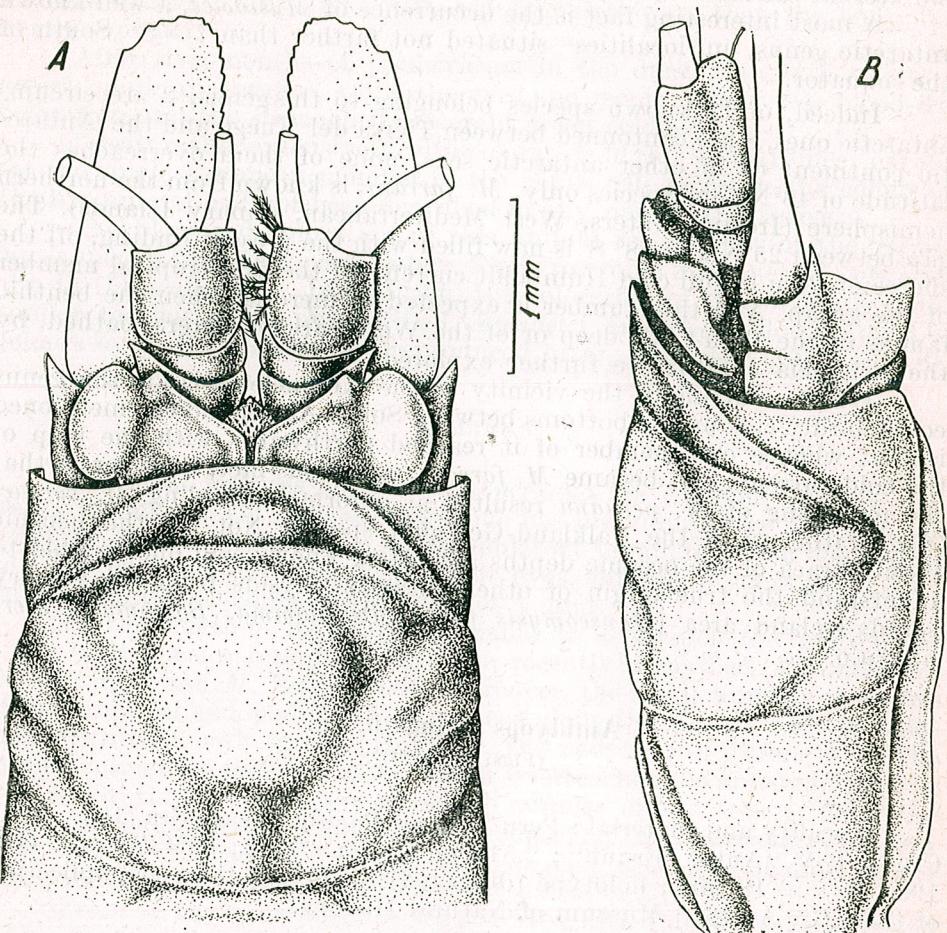


Fig. 3. — *Amblyops ewingi* n.sp. ♀ = 18 mm;
A, Cephalothorax from above; B, idem, side view (original).

Antennule short and stout, half shorter than scale of A_2 , even though it is broken in the examined specimen (Figs. 3 A and 4A). Proximal joint long and narrow, largely overreached by the broad terminal joints covering it as a bonnet; in side view A_1 looks as if having an enormous step at the level of that joint (Fig. 4 A). A_2 with broad scale which is broken; after the length of its nude outer edge it is evident that

it is of the short apex type, not of the *Amblyopsoides* type (*sensu* O. Tattersall, 1955). Mandible with one massive-looking part armed with 3 strong teeth; one movable, bifurcate, Y-shaped lacinia followed by a series of 10–12 bifid thorns; the masticatory part consists of 10 concentrical rows of very typical serrate phanera; the palp of the mandible (Fig. 4B) with enormously broad proximal joint; terminal joint tapering abruptly.

Maxillipedes I (Fig. 4D) and II (Fig. 4E, G) of the usual generic type. The last one is foot-like, typical of the abyssal benthic forms (*Boreomysis*, etc.). Pereiopods broken; two only were preserved (Fig. 4F). The articulation between propodus and carpopodite is specifically oblique (Fig. 4 H).

Pleopod generally short (fig. 4 I). Three pairs of marsupial plates, the anterior one very small (1/10 of those of the 2nd pair).

Uropod (Fig. 4J) with endopodites (Fig. 4L) armed with 5 long proximal spines, all on the statocyst. O. Tattersall (1965, p. 15) stated only 1–2 spines characteristic for the genus.

Telson broad, tongue-shaped, slightly longer than its supporting pleonite and presenting a unique characteristic in the members of the genus: its sides are completely armed (to the proximal area) with about 37 spinules on each side plus 14 larger ones on the apex; the latter has 2 central laminae that are flanked by two long plumose setae (Fig. 4K).

Another characteristic of the species seems to be the occurrence, between the bases of the pereiopods, of 6 prominent plates that are somehow triangular-semicircular in shape, with free margin forward directed; they appear as a succession of scales on each sternite, emerging from the posterior chitinized edge, that is gold in colour, of each sternite.

Colour in the preserved animal is mustard yellow, except for the marsupial plates which are dull white, in strong contrast with the oral parts and the bases of the pereiopods, which are green. In the live animal the chitinous part of the mandible is golden, however, this species too has red hues but only in the anterior half of the carapace. It also has a splendid red spot on the outer side of each eye plate; six months after preserved state these spots become dull white.

REMARKS

Amblyops ewingi was taken together with another entirely red *Amblyops* and 2 *Boreomysis* all undetermined. Numerous *Vemakylindrus* show the special faunal unit of the upper edges (2,500 m depth) of the Peru Trench. The species under consideration is easily distinguished from the remaining ten species by the presence of 5 spines on the uropodal statocyst as well as by the presence of lateral spinules of the telson, which reach the proximal part of the latter.

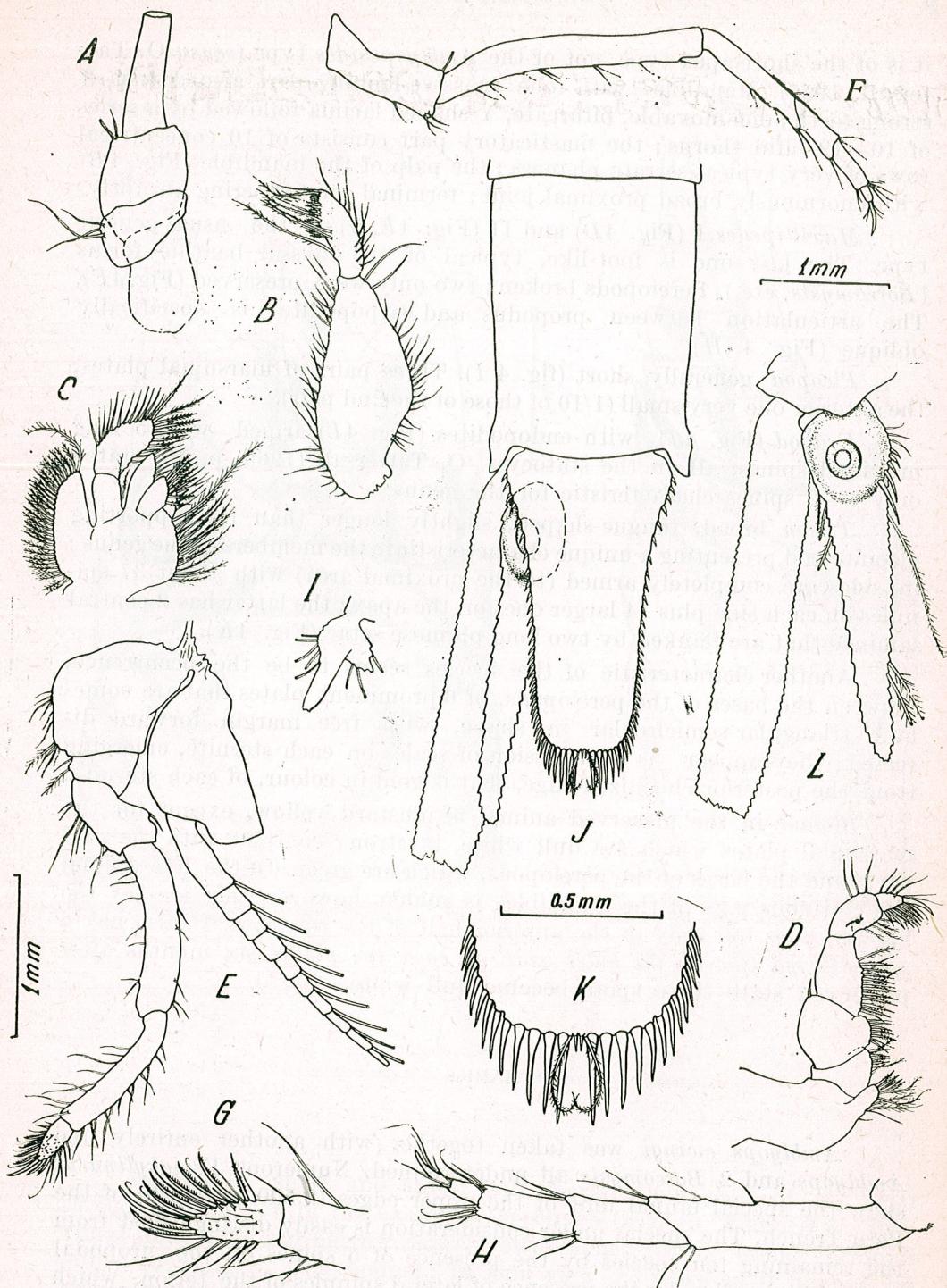


Fig. 4. — *Amblyops ewingi* n. sp.
A, Antennule in dorso-interior view; B, palp of the mandible; C, maxilla II; D, maxilliped I; E, maxilliped II; G, its dactylus, enlarged; I, pleopod II ♀; J, last pleonite and caudal plate; K, tip of telson, enlarged; L, uropod (original).

The present species is the first *Amblyops* known from the tropical region of the Pacific Ocean; its occurrence there raises some interesting zoogeographic problems since the genus inhabits cold waters and is cantoned at higher latitudes in both hemispheres. The new species is the third one known from the great depths, after *A. magna* and *A. aequispina* Birstein et Chindonova (1958).

Hansenomysis tropicalis n.sp.

(Fig. 5)

Locality and material: Peru Trench, East Pacific, XIth Cruise R/V "Anton Bruun", Sta. 101, 8°12.51'S; 81°09'W; 1965; 1 ♀ juv. = 8 mm, deposited in the types collection of the "Gr. Antipa" Museum of Natural History; no 112 (holotype).

DESCRIPTION

Carapace 2 mm long; its integument with folds but lacking phanera. From below its frontal part emerges the oval-shaped eye plate provided with 2 well-defined prominences, not "horns" as in the members of the *H. peruvianus*-group. The plates of the *Tattersall's organ* (Fig. 5B) are small, oval in shape and they fill the space between the eye plate and the base of A_2 . Antennule strong with base (measuring 1.5 mm) composed of 3 subequal joints, fairly overreaching the scale of A_2 and even the base of the latter (Fig. 5B). Proximal joint of A_2 movable, more or less rhombic, characteristic of the genus; antennal scale lancet-shaped with apical area longer than nude outer edge which ends in a strong thorn (Fig. 5A).

The appendages of the cephalothorax do not present any particular differences from the species previously described by the author from the same locality (Băcescu, 1966).

First pleopods of the usual type; last pleopod (the 5th) biarticulated, its tip reaching 1/2 length of the telson (Fig. 5C); its 2 joints more or less equal. The uropodal endopodite lacks statocysts and is longer than the exopodite. The latter has one large distal segment and 2 latero-terminal spines near the diaresis, the remainder of the outer edge is nude.

The telson, damaged, is armed with large lateral spines in the 2/3 of the distal part, lacking intermediate spines.

Thoracic sternites bear large blunt tubercles. The preserved material is ivory in colour. Coenosis: the species was taken from muddy bottom together with 6 new *Hansenomysis* species recently described by the author (Băcescu, 1967).

REMARKS

By its somehow bi-horned eye lobe and the shortness of the antennal scale — or should one rather say by the enormous length of the symposium of A_1 and even of A_2 — as well as by the spinulation of the telson, *H. tropicalis* belongs in the *H. peruvianus* group which includes species of bright violet coloration in the live animals (*H. birsteini* Băcescu, *H. tattersallae* Băcescu, a.o.).

By the morphology of the female pleopod V the new species is closer to *H. peruvianus* Băcescu.

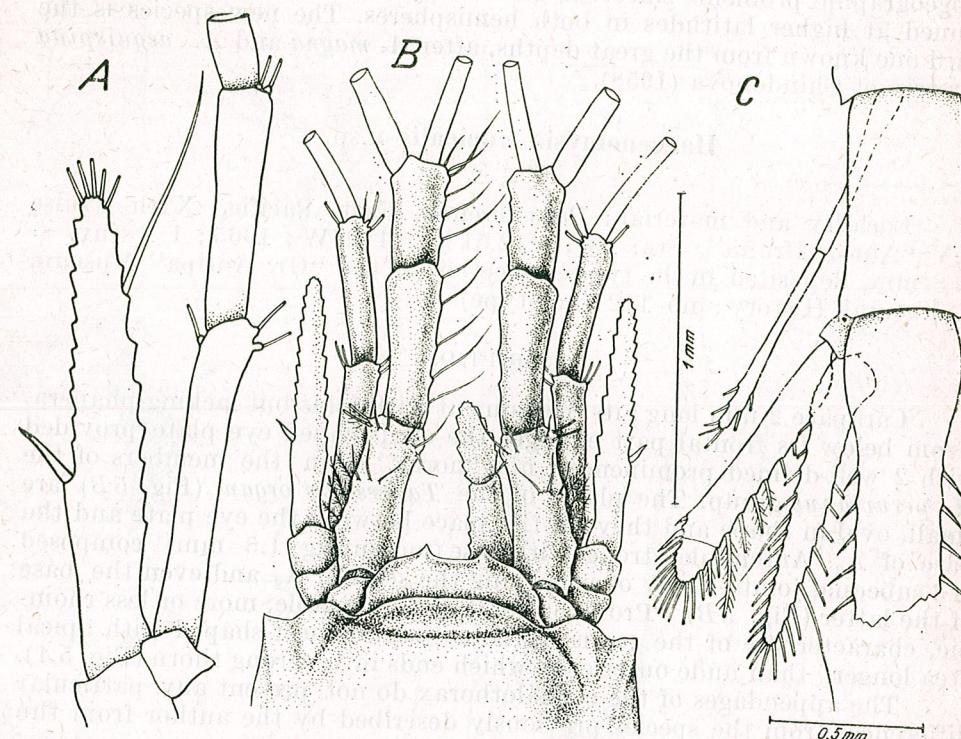


Fig. 5. — *Hansenomysis tropicalis* n.sp. ♀ juv. = 8 mm;
A, antenna; B, frontal part of carapace and antennae; C, last abdominal segment, pleopod V and caudal plate (original).

CONCLUSIONS

Even the first examination of the material showed that the Milne Edwards Deep and undoubtedly the Chilean portion of the East Pacific Trench represent a particularly important zoogeographic unit. The hadal zone of this unit shelters mysids of the most primitive type (*Petalophthalmus*, *Boreomysis*, *Mysimenzies*, a.o.) while the less deep zones (500–3,000 m) are inhabited by some archaic forms as *Hansenomysis* (whose very genetical centre appears to be in that zone), together with other endemic genera (the cumacean *Vemakylindrus*, cf. Băcescu, 1962) and with species showing antarctic affinities (*Mysidetes peruana* mihi) or arctic ones (*Amblyops ewingi* mihi). The occurrence of *Mysidetes peruana* and of other cold abyssal water crustaceans in the vicinity of the equator would appear at least as a paradox, should one not admit the possibility of an active exchange of animals — even of benthic animals — from antarctic to arctic waters via the cold Humboldt current in the west of

South America and via the Benguela current in the west of South Africa.

When one finds at 6° S of the equator species previously considered as arctic or (especially) antarctic, one cannot but adhere to Ekman's conclusion (1953, p. 149) that "Before true bipolarity is established, we must first make sure that there are no present-day communications along these two routes" (that is along the coasts of West America or West Africa).

With regard to the antarctic mysids that reached for example the south of Ireland it is rather the case of longitudinal distribution than bipolarity. Anyhow, the advancement in the exploration of the great depths brings about new intermediate localities of distribution of forms formerly considered as having bipolar distribution. The fauna from the Chile-Peru Deep — cradle of such living fossil as *Neopilina* — is expected to have more surprises in store for the biologist.

REFERENCES

1. BĂCESCU M., Deux espèces nouvelles de *Makrokylindrus* sous-genre *Vemakylindrus* n. sg. (Crustacés Cumacés) des eaux tropicales du Pacifique (côte américaine). Rev. Biol., 1962, 6, 3, 325–333.
2. BĂCESCU M., Contributions to the study of the genus *Hansenomysis* and descriptions of six new species from Peru Trench (Pacific Ocean), 1967, Duke Univ.
3. БИРШТЕЙН Я. А., ЧИНДОНОВА Ю. Г., Глубоководные мизиды северо-западной части Тихого океана, Тр. Инст. Океан. АН СССР, 1958, 27, 281–355.
4. EKMAN S., Zoogeography of the Sea. London, 1953.
5. II NAOIOSI, 1964, *Mysidacea*, in "Fauna Japonica", Tokyo, 1–650.
6. MENZIES, R. J., EDW. CHIN, Cruise report, Research Vessel Anton Bruun, Cruise XI, 1966.
7. TATTERSALL OLIVE, *Mysidacea*, Discovery Reports, 1955, 28, 1–190.
8. TATTERSALL O., *Mysidacea of the Ross Sea*, N. Z. Dep. Sci. Industr. Res. Bull., 1965, 167, 9–25.
9. TATTERSALL W. M., TATTERSALL OLIVE, *The British Mysidacea*, London, 1951, p. 1–460.

Museum of Natural History "Gr. Antipa"
Bucharest

Received January 10, 1967

ИЗМЕНЕНИЯ ЭЭГ ПРИ УСЛОВНОМ ОРИЕНТИРОВОЧНОМ
И ПИЩЕДОБЫВАТЕЛЬНОМ РЕФЛЕКСАХ
НА ЦЕПНОЙ РАЗДРАЖИТЕЛЬ У КРОЛИКОВ *

Л. Г. ВОРОНИН, Г. АПОСТОЛ, Л. В. КАЛЮЖНЫЙ

В последнее время появился ряд работ, показывающих, что у животных в условиях свободного передвижения при выработанном условном рефлексе в коре и некоторых областях подкорки в ответ на сигнал возникают четкие изменения ЭЭГ. Так, у кроликов эти изменения характеризуются вспышкой синхронизированных колебаний с частотой 8—10 кол/сек, регистрирующихся как при пищевой (Л. Г. Воронин, Б. И. Котляр [8], Sadowski B., Longo V. G. [17]), оборонительной (Л. Г. Воронин, Б. И. Котляр [9], Б. И. Котляр, Л. В. Калюжный [14]), так и при условноориентированной деятельности (Г. Апостол [1]). У кошек при оборонительном рефлексе наблюдались колебания биопотенциалов с частотой 2—4 кол/сек (М. М. Атаев [2]), а при пищевом — 35 кол/сек (Wyrwicka W. [18]). Эти факты свидетельствуют, что данные изменения ЭЭГ могут служить индикатором образования временной связи между внешним сигналом и безусловным подкреплением.

В то же время известно, что при укреплении цепных условных рефлексов происходит как бы синтез условных сигналов, когда элементы сложного раздражителя воспринимаются как одно целое, и животное не отвечает положительной реакцией на изолированное их применение (Л. Г. Воронин [5]), хотя ранее такая реакция наблюдалась.

Задачей настоящего исследования было проследить изменения ЭЭГ при выработке и укреплении условного ориентировочного и пищедобывательного рефлексов на трехчленную цепь последовательно применяемых сигналов.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на 5 кроликах в условиях свободного передвижения животных (Б. И. Котляр [13]) с записью биопотенциалов от слуховой и зрительной областей коры, дорзального гиппокампа, ретикулярной формации среднего мозга, латерального и, у отдельных живот-

* Работа была представлена на Первой сессии по физиологии животных (Клуж, 25—28 мая 1965 г.).

ных, вентромедиального ядер гипоталамуса. Нихромовые электроды толщиною в 500 микронов для коркового отведения вживлялись в кости черепа. Для подкоркового отведения использовались нихромовые электроды с толщиной кончика до 25 микронов. Электроды покрывались винилфлексовой изоляцией за исключением кончика длиною 1—2 мм. Электроды вживлялись биполярно, с межэлектродным расстоянием 1—1,5 мм, и запись производилась на 16-канальном электроэнцефалографе Ленинградского завода «Биофизприбор».

Условный ориентировочный рефлекс вырабатывался на последовательно применяемые три раздражителя: стук 300 ударов/мин, свет, тон 400 гц. Длительность каждого раздражителя составляла 10 сек. Указанные раздражители применялись не более 10 раз в ходе одного опыта. Условный пищевой рефлекс вырабатывался по пищедобывающей методике (Л. Г. Воронин [6]) на цепной раздражитель, состоящий из света, стука 300 ударов/мин и тона 400 гц. В конце опытов производилось гистологическое исследование мозга кроликов с целью уточнения месторасположения кончиков электродов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прежде всего обнаружилось, что у кроликов, впервые попавших в обстановку экспериментальной камеры, т.е. при сильной ориентировочной деятельности, в ЭЭГ коры, гиппокампа и ретикулярной формации среднего мозга наблюдались частые вспышки синхронизированных колебаний биопотенциалов с частотой 8—10 кол/сек, чередующиеся с более медленными колебаниями 5—7 кол/сек. В отведениях латерального ядра гипоталамуса в это время регистрировалась медленноволновая активность с частотой 3—5 кол/сек (рис. 1 а).

При первых применениях цепи внешних раздражителей у кроликов возникала двигательная ориентировочно-исследовательская реакция в сторону предъявляемых сигналов, а в ЭЭГ всех изучаемых областей появлялись вспышки синхронизированной активности с частотой 8—10 кол/сек (рис. 1 б). Эти вспышки наблюдались в начале действия раздражителей и исчезали к концу их. Данный факт свидетельствует, что ориентировочно-исследовательская реакция кроликов возникала на каждый сигнал без какой-либо связи с предыдущим или последующим. Однако уже при четвертом-пятом предъявлении трехчленного цепного раздражителя было отмечено возникновение вспышки синхронизированных колебаний биопотенциалов с частотой 8—10 кол/сек не только в начале действия первого сигнала, но и в конце его, тогда как на второй раздражитель этой вспышки не отмечалось (рис. 1 в). Характерно, что поведенческая ориентировочно-исследовательская реакция кролика на второй раздражитель наблюдалась уже в конце действия первого. Однако в ответ на третий раздражитель кролик реагировал еще отдельно. Особенно четко эти изменения наблюдались во время 10—12 сочетаний. На рис. 1 г видно, что синхронизированная ритмика с частотой 8—10 кол/сек в ответ на второй сигнал возникает уже в конце действия первого раздражителя и продолжается еще некоторое время при действии второго, тогда как на третий раздражитель изменения ЭЭГ

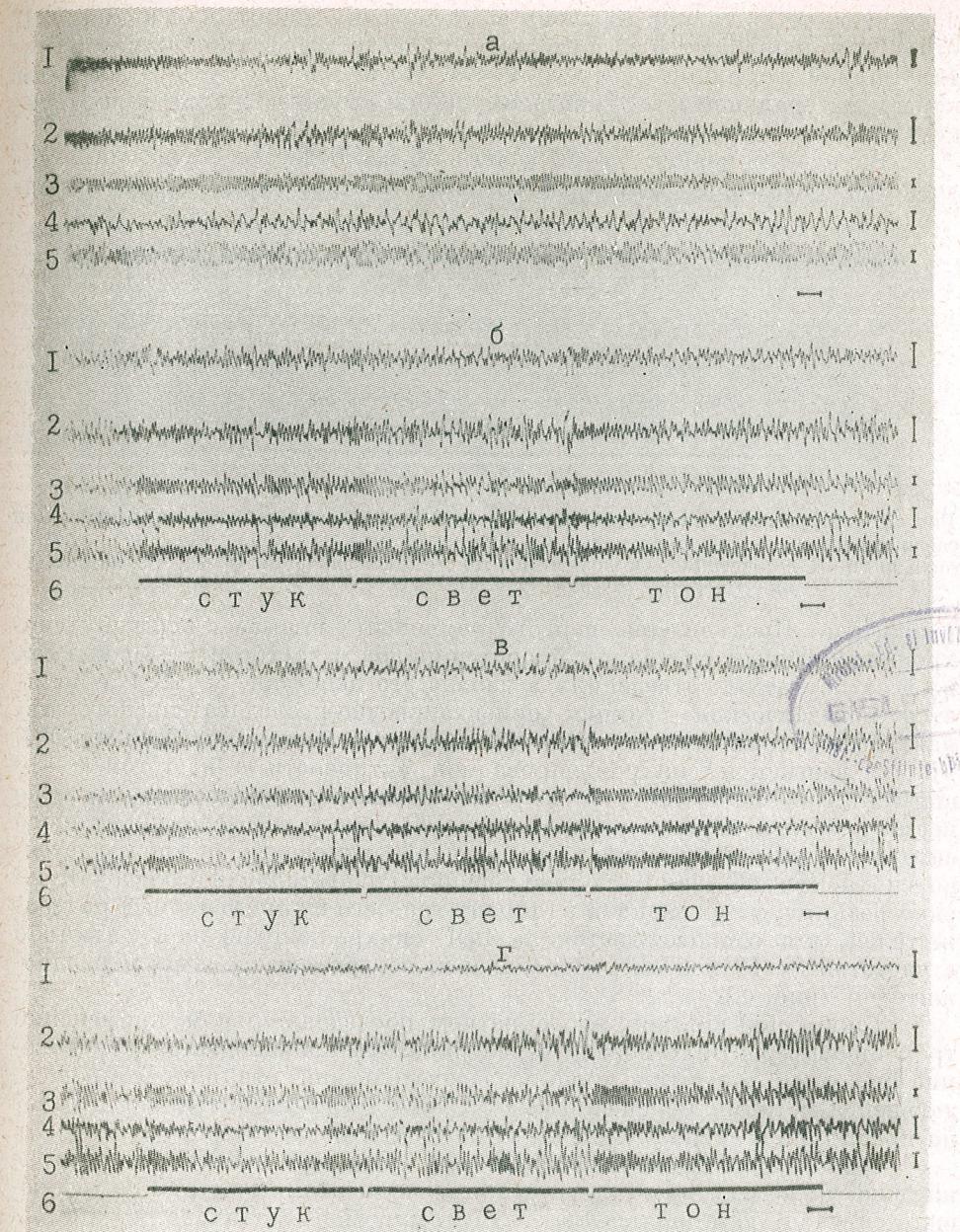


Рис. 1. — Динамика изменения электрической активности при выработке временной связи между тремя индифферентными раздражителями: стук 300 ударов/мин — свет — тон 400 гц.

а — фоновая активность, б — при 3-м сочетании, в — при 4-м сочетании, г — при 10-м сочетании. Объяснения в тексте. Условные обозначения: 1 — слуховая область коры, 2 — зрительная область коры, 3 — дорзальный гиппокамп, 4 — латеральное гипоталамическое поле, 5 — ретикулярная формация среднего мозга, 6 — отметка действия внешних раздражителей. Калибровка всегда равна 100 мкв, отметка времени — 1 сек.

наступают четко только во время его действия. Данные изменения ЭЭГ отчетливо проявляются в зрительной области коры, гиппокампе и ретикулярной формации среднего мозга, тогда как в слуховой области коры и латеральном поле гипоталамуса они выражены хуже или отсутствуют (рис. 1 а—г).

Наконец, в период 15—17 сочетаний наблюдается образование условного ориентировочного рефлекса на все три звена цепного раз-

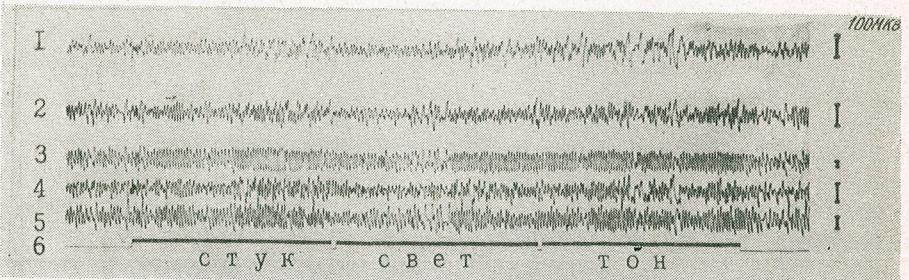


Рис. 2. — Динамика изменения электрической активности при выработке временной связи между тремя индифферентными раздражителями: стук 300 ударов/мин — свет — тон 400 Гц. 16-е сочетание. Объяснения в тексте. Обозначения те же, что на рис. 1.

дражителя. Предъявление первого компонента вызывает вспышку синхронизированных колебаний биопотенциалов с частотой 8—10 кол/сек во всех изучаемых отведениях в начале его действия, а затем появляется поведенческая реакция ориентированно-исследовательского характера в сторону второго раздражителя, что сопровождается на ЭЭГ второй вспышкой синхронизированной активности с частотой 8—10 кол/сек. Как видно из рис. 2, эта вспышка регистрируется еще во время действия первого раздражителя. В начале же действия второго сигнала данных изменений электрической активности не наблюдается, но в конце его действия у кролика возникает двигательная исследовательская реакция, направленная в сторону третьего из применяемых раздражителей, что сопровождается на ЭЭГ синхронизированной ритмикой с частотой 8—10 кол/сек, совпадающей во времени со вторым раздражителем (рис. 2).

Таким образом, при многократном последовательном применении трех индифферентных внешних раздражителей наблюдается образование условной ориентированно-исследовательской реакции, сопровождающейся четкими изменениями ЭЭГ. Этот рефлекс возникает в ответ на предыдущий сигнал, хотя он относится к последующему.

Образование временной связи при таком сочетании трех раздражителей доказывается не только «предвосхищением» действия последующего сигнала, но и проявлением «ходу» пищедобывательной реакции на один из сигналов, если на другой был выработан пищевой условный рефлекс. Так, если у этих же животных на тон 400 Гц вырабатывался условный пищедобывательный рефлекс, то в ответ на этот раздражитель возникала не только двигательная реакция животного в виде нажима на педаль, но и изменение ЭЭГ коры, гиппокампа и латерального ядра гипоталамуса в виде вспышки синхронизированных колебаний биопотенциалов с частотой 8—10 кол/сек (рис. 3 б). Если после выработки такого

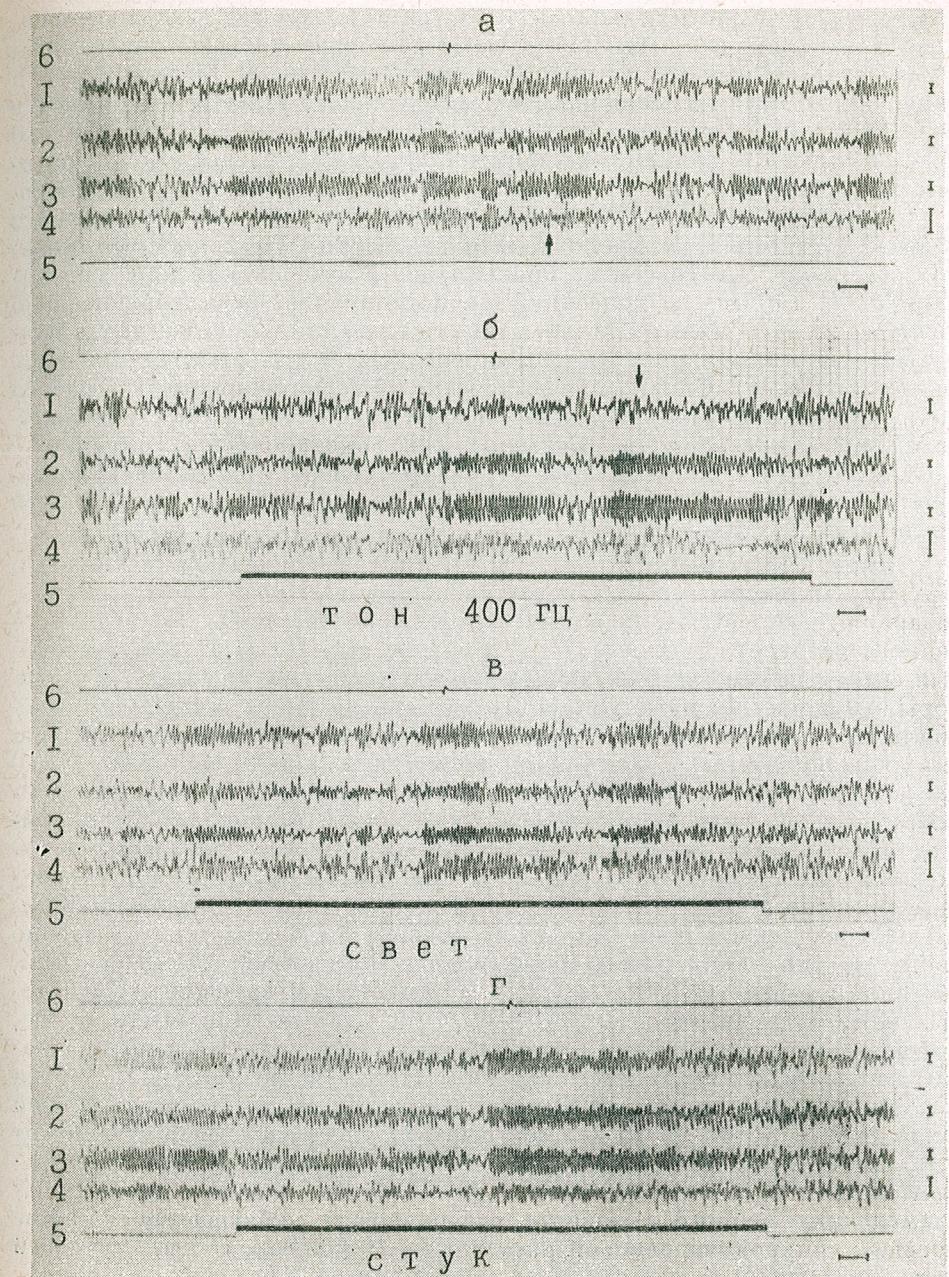


Рис. 3. — Изменения электрической активности при выработке условного пищедобывательного рефлекса на тон 400 Гц.
а — изменения электрической активности при выработанном пищедобывательном рефлексе (педаль — кормушка), б — 85-е применение условного сигнала, в — изменения электрической активности при применении светового раздражителя, ранее сочетавшегося с условным сигналом, г — изменения электрической активности при применении звукового раздражителя (стук 300 ударов/мин), ранее сочетавшегося с условным сигналом. Объяснения в тексте. Условные обозначения: 1 — слуховая область коры, 2 — дорзальный гиппокамп, 3 — латеральное гипоталамическое поле, 4 — ретикулярная формация среднего мозга, 5 — отметка действия внешнего раздражителя, 6 — отметка нажима на педаль. Стрелка — отметка подачи пищи. Калибровка везде равна 100 мкв, отметка времени — 1 сек.

рефлекса экстренно применялся один из двух других раздражителей, ранее сочетавшихся при выработке условного ориентировочного рефлекса, то в ответ на них возникало как пищедобывательное движение, так и изменения ЭЭГ коры, гиппокампа и латерального ядра гипоталамуса в виде синхронизированных колебаний биопотенциалов с частотой 8—10 кол/сек (рис. 3 в, г). Если же применялись другие раздражители, которые ранее не сочетались, то пищедобывательной реакции не наблюдалось.

Следует отметить, что при выработке условного ориентировочного рефлекса вспышка синхронизированной активности с частотой 8—10 кол/сек плохо или совсем не проявлялась в латеральном ядре гипоталамуса, и амплитуда колебаний биопотенциалов была сравнительно низка — 70—100 мкв, тогда как размах колебаний биопотенциалов гиппокампа и ретикулярной формации среднего мозга достигал 200—250 мкв (рис. 1 а—г). Однако при выработке условного пищевого рефлекса наблюдается заметное усиление электрической активности латерального ядра гипоталамуса. Вспышка синхронизированной ритмики с частотой 8—10 кол/сек в этой структуре теперь проявлялась постоянно и отчетливо, а амплитуда электрических колебаний этой области увеличилась до 200—250 мкв.

Сходные закономерности изменения электрической активности структур головного мозга в ответ на последовательное сочетание трех раздражителей наблюдались нами и при выработке пищедобывательного цепного условного рефлекса. Так, в начале выработки в ответ на каждый сигнал возникало пищедобывательное движение кролика, а в ЭЭГ коры, гиппокампа, ретикулярной формации среднего мозга, вентромедиальном и латеральном ядрах гипоталамуса появлялась вспышка синхронизированных колебаний биопотенциалов с частотой 9—10 кол/сек (рис. 4 а). Эти изменения ЭЭГ наблюдались точно во время действия каждого сигнала. Следовательно, данная стадия выработки пищедобывательного рефлекса аналогична первой фазе образования условного ориентировочного рефлекса при сочетании трех индифферентных агентов (рис. 4 б). Однако по мере дальнейших предъявлений пищевой трехчленной цепи (30—40 сочетаний) было отмечено смещение вспышки синхронизированной активности с частотой 9—10 кол/сек, соответствующей третьему сигналу, в промежуток времени между вторым и третьим раздражителями (рис. 4 б). Судя по этой ЭЭГ картине, можно сказать, что кролик не дожидается включения третьего раздражителя, хотя осуществляет пищедобывательную реакцию в ответ на соответствующий сигнал. В дальнейшем вспышка синхронизированной ритмики с частотой 9—10 кол/сек еще больше смещается в сторону от третьего ко второму раздражителю и как бы начинает слияться со вспышкой на второй раздражитель (рис. 4 в). Наконец, при дальнейших применениях цепного условного раздражителя наблюдается слияние вспышек синхронизированной ритмики 8—10 кол/сек, соответствующей третьему сигналу со вспышкой на второй сигнал (рис. 4 г).

Обращает на себя внимание факт, что при первых применениях трехчленного цепного раздражителя вспышка синхронизированной активности 8—10 кол/сек возникает во всех отведениях (стадия генерализации) (рис. 4 а, б), а по мере укрепления рефлекса эта активность проявляется в коре, гиппокампе и латеральном ядре гипоталамуса, тогда

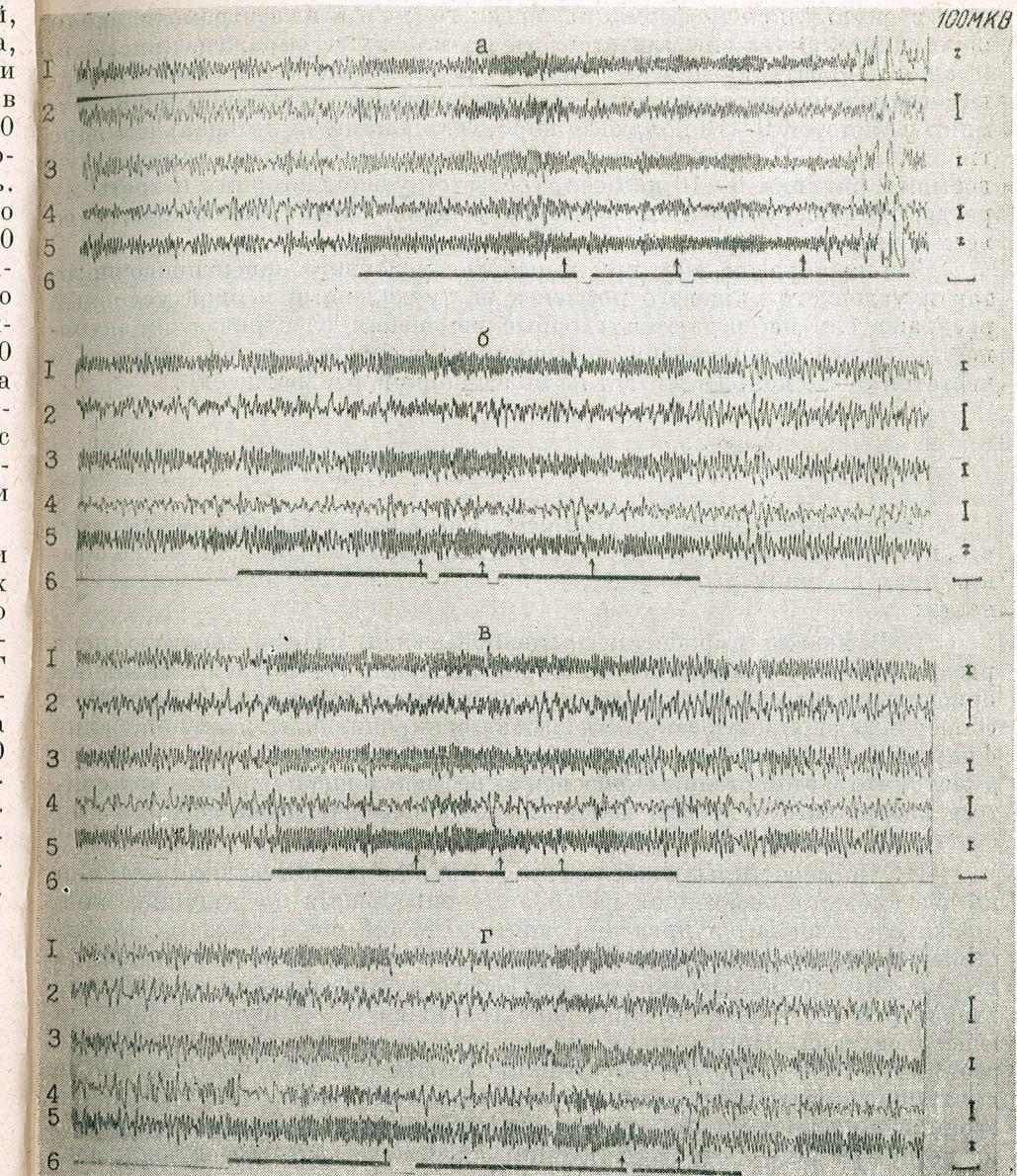


Рис. 4. — Изменения электрической активности при применении цепного трехчленного условного пищевого раздражителя.

а — при 7-м применении, б — при 35-м применении, в — при 77-м применении, г — при 102-м применении. Условные обозначения: 1 — зрительная область коры, 2 — вентромедиальное ядро гипоталамуса, 3 — латеральное ядро гипоталамуса, 4 — ретикулярная формация среднего мозга, 5 — дорзальный гиппокамп, 6 — отметка действия условного раздражителя. Стрелкой обозначен момент нажима животным педали. Калибровка везде равна 100 мкв, отметка времени — 1 сек.

как в ретикулярной формации среднего мозга и вентромедиальном ядре гипоталамуса она или отсутствует, или хуже выражена (рис. 4 в) (стадия концентрации). При слиянии же двух вспышек в ответ на первый сигнал наблюдается фаза концентрации синхронизированной ритмики с частотой 9–10 кол/сек в коре, гиппокампе и латеральном ядре гипоталамуса. В ответ же на второй сигнал, где имеется слияние двух вспышек ритмики 9–10 кол/сек, соответствующих второму и третьему раздражителю, вышеупомянутые изменения ЭЭГ наблюдаются во всех отведениях (рис. 4 г).

Таким образом, как при выработке условного ориентировочного так и условного пищевого рефлекса на трехчленный цепной условный раздражитель наблюдаются сходные изменения электрической активности в виде перемещения вспышки синхронизированной ритмики с частотой 8–10 кол/сек в ответ на более ранний раздражитель.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Описанные в данной статье результаты исследования показывают, что при образовании условного рефлекса на последовательные сочетания трех внешних раздражителей наблюдались следующие закономерности:

I. В начале выработки временной связи на трехчленную цепь раздражителей, независимо от того, является ли рефлекс условным ориентировочным или пищевым, поведенческая реакция кролика и сопровождающая эту реакцию вспышка синхронизированных колебаний с частотой 8–10 кол/сек возникают отдельно на каждый сигнал. Можно думать, что в этой стадии образования рефлекса еще не происходит синтеза раздражителя в одно целое. Каждая поведенческая реакция для своего проявления еще требует своего сигнала.

II. По мере укрепления рефлекса происходит интеграция реакции на два смежные звена цепи раздражителей: каждый предыдущий раздражитель становится предваряющим сигналом последующего. Вследствие этого после реакции на первый сигнал возникает реакция на второй еще до включения последующего раздражителя. Однако эта вторая реакция является лишь «предвосхищением» появления последующего сигнала. Предыдущий сигнал еще не является сигналом двух реакций, а только первой. Отражая эту закономерность, вспышка ритма синхронизированных колебаний биопотенциалов с частотой 8–10 кол/сек возникает на предыдущий сигнал дважды: один раз, отражая реакцию на него, другой — отражая реакцию на последующее звено цепи раздражителей. В этой стадии выработки, таким образом, имеет место фаза подготовки к полному синтезу всех звеньев цепи раздражителей.

III. Наконец, происходит синтезирование последовательных раздражителей, т.е. в ответ на один сигнал подопытное животное отвечает двумя реакциями: не только соответствующей применяемому раздражителю, но и второй — адекватной последующему. Доказательством установления такого синтеза могут быть следующие три факта: во-первых, наличие в ЭЭГ только одной вспышки синхронизированной активности с частотой 8–10 кол/сек, именно на предыдущий сигнал, несмотря

на осуществление двух поведенческих реакций; во-вторых, образование этой вспышки в результате слияния двух вспышек синхронизированной ритмики, возникающих на предыдущий и последующий сигналы, и, в-третьих, появление стадии генерализации синхронизированных колебаний снова после стадии концентрации. Последний факт следует обсудить более подробно.

Ранее было показано, что при выработке условного рефлекса у кроликов синхронизированная активность с частотой 8–10 кол/сек в первые 20–30 сочетаний наблюдается во многих структурах (фаза генерализации), а по мере укрепления рефлекса эти изменения ЭЭГ концентрируются в определенных структурах головного мозга (фаза концентрации), непосредственно принимающих участие в данном виде рефлекса (Л. В. Калюжный [11]). В дальнейшем оказалось, что если после стадии концентрации к условному раздражителю присоединить новый агент с целью образования двухчленной цепи условных раздражителей, то немедленно возникает стадия генерализации как на «новый», так и на «старый» сигналы, свидетельствующая, что комбинация «нового» и «старого» раздражителей превращается в общий «новый» раздражитель (Л. Г. Воронин, Л. В. Калюжный и И. Н. Захарова [7]). Такие же закономерности наблюдались и в настоящих опытах. Первые сочетания трехчленного цепного раздражителя пищевого и условно-ориентировочного рефлексов вызывали появление вспышки синхронизированных колебаний биопотенциалов 8–10 кол/сек во всех изучаемых отведениях. По мере укрепления рефлекса наблюдалась стадия концентрации: при пищевом рефлексе данные изменения ЭЭГ наблюдались лишь в коре, гиппокампе и латеральном ядре гипоталамуса, при условном ориентировочном — в коре, гиппокампе и ретикулярной формации среднего мозга. Однако при развитии процесса синтеза двух последовательных раздражителей снова возникает фаза генерализации. Этот факт мы рассматриваем как третье доказательство синтеза компонентов сложного цепного раздражителя. При этом вспышка синхронизированной активности с частотой 8–10 кол/сек, отражая реакцию на два «старых» раздражителя, возникала во всех изучаемых отведениях, что наблюдалось как при условном ориентировочном, так и при пищедобывающем рефлексах. В то же время этот факт указывает на то, что в результате синтеза двух «старых» раздражителей возникает «новый», единый раздражитель.

В связи с этим нелишне вспомнить давно установленные факты, показывающие, что в процессе тренировки условного рефлекса на сложный раздражитель, компоненты этого раздражителя сливаются в единый, цельный сигнал (А. Г. Иванов-Смоленский [10]), всякий раз возбуждающий «функциональный комбинационный центр» (И. П. Павлов [15]). На основании исследования сложных условных рефлексов у собак и двигательных рефлексов у обезьян на трехчленную цепь раздражителей, одним из нас (Л. Г. Воронин [4]) еще в 1948 г. было высказано предположение, что в этом случае образуются параллельные связи между пищевым «центром» и «центрами» компонентов цепного условного раздражителя, которые затем сменяются последовательной связью, объединяющей отдельные условные «центры» с пищевым «центром». В связи с чем образуется как бы новая временная связь. Таким образом,

фактические данные настоящего сообщения подтверждают факт наличия параллельных и последовательных связей между очагами условного и безусловного возбуждений (И. С. Беритов [3]), а также смену параллельных связей последовательной, по мере тренировки условного рефлекса (Л. Г. Воронин [4], [5]).

Вероятно, процесс выработки любого условнорефлекторного акта происходит по закономерности синтезирования двух последовательных раздражителей, потому что при применении так называемых одиночных условных раздражителей действует цепь раздражителей, формирующаяся из элементов экспериментальной обстановки. Именно этим синтезом, с переносом ответной реакции с последующего раздражителя на первый, и объясняется появление вспышки синхронизированных колебаний биопотенциалов с частотой 8–10 кол/сек в ответ уже на условный сигнал, а скажем не на звук врачающейся кормушки.

Наконец, вызывает интерес факт локализации синхронизированных ритмов ЭЭГ в зависимости от безусловного основания временных связей. Как показало предыдущее исследование (Л. Г. Воронин, Л. В. Калюжный и И. Н. Захарова [7]), при условном пищевом рефлексе вспышка синхронизированных колебаний биопотенциалов всегда отчетливо регистрируется в латеральном ядре гипоталамуса, наряду с большой амплитудой колебаний. При выработке же рефлекса на другом подкреплении, например на оборонительном, высокочастотная электрическая активность латерального ядра гипоталамуса исчезает и сменяется медленноволновой активностью (Л. В. Калюжный [11], Wyrwicka Wanda [18]). Этот факт свидетельствует о правильности высказанных ранее предположений, что пищевые реакции животных связаны с возбуждением латерального ядра гипоталамуса (Anand B., Dua S., Shoenberg K. [16], Л. В. Калюжный [12] и др.). При других же поведенческих реакциях роль латерального ядра гипоталамуса несущественна. В настоящих экспериментах этот факт получил дальнейшее подтверждение. Так, ритмика 8–10 кол/сек в латеральном поле гипоталамуса наблюдалась постоянно и отчетливо при пищедобывающем рефлексе, но отсутствовала или была плохо выражена у тех же животных при выработке условного ориентировочного рефлекса. Одновременно наблюдалась и низкая амплитуда колебаний биопотенциалов латерального ядра гипоталамуса при последнем виде рефлекса. Появление вспышки синхронизированной ритмики в данной структуре гипоталамуса при условном ориентировочном рефлексе четко имело место только в период генерализации, что наблюдается и при других видах рефлекса. Отсюда следует, что латеральное ядро гипоталамуса, принимая участие в проявлении пищевых реакций животного, для формирования ориентировочно-исследовательской деятельности не играет существенной роли.

ЛИТЕРАТУРА

1. АПОСТОЛ Г., Электроэнцефалографическая характеристика безусловного и условного ориентировочного рефлекса. Автореф. дисс., М., 1964.
2. АТАЕВ М. М., Изменение электрической активности коры и подкорковых структур головного мозга в процессе образования оборонительных условных рефлексов. Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова, 1964, **14**, 3, 503–511.

3. БЕРИТОВ И. С., Индивидуально-приобретенная деятельность центральной нервной системы. Гос. изд., Тифлис, 1932.
4. ВОРОНИН Л. Г., Анализ и синтез сложных раздражителей нормальными и поврежденными полуширами головного мозга собаки. АМН СССР, М., 1948.
5. ВОРОНИН Л. Г., О механизмах цепных временных связей. Труды 15-го Совещания по проблемам высшей нервной деятельности, посвященного 50-летию учения акад. И. П. Павлова об условных рефлексах. М.-Л., 1952, 184–195.
6. ВОРОНИН Л. Г., Сравнительная физиология высшей нервной деятельности. Изд-во МГУ, М., 1957.
7. ВОРОНИН Л. Г., КАЛЮЖНЫЙ Л. В., ЗАХАРОВА И. Н., Электроэнцефалографические данные о роли латерального и вентромедиального ядер гипоталамуса в пищевой условнорефлекторной деятельности у кроликов. Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова, 1965, **15**, 2, 364.
8. ВОРОНИН Л. Г., КОТЛЯР Б. И., Биоэлектрическая активность некоторых отделов головного мозга при выработке и угашении пищедобывающего условного рефлекса. Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова, 1962, **12**, 3, 547–554.
9. ВОРОНИН Л. Г., КОТЛЯР Б. И., Кортикальная электрическая активность в процессе становления и укрепления двигательных пищевых и оборонительных условных рефлексов. Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова, 1963, **13**, 5, 917–927.
10. ИВАНОВ-СМОЛЕНСКИЙ А. Г., Об анализе последовательно четырехчленного звукового условного раздражителя. Труды физиол. лабор. акад. И. П. Павлова, 1927, **2**, 1, 47–90.
11. КАЛЮЖНЫЙ Л. В., К вопросу о роли гипоталамуса в разнородных условнорефлекторных реакциях. Автореф. дисс., М., 1963.
12. КАЛЮЖНЫЙ Л. В., К вопросу о химических механизмах некоторых форм поведения. Усп. соврем. биол., 1964, **57**, 2, 232–244.
13. КОТЛЯР Б. И., Методика регистрации биотоков мозга у свободно передвигающихся кроликов. Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова, 1963, **49**, 9, 1115–1116.
14. КОТЛЯР Б. И., КАЛЮЖНЫЙ Л. В., Изменения электрической активности коры и некоторых структур подкорки при условном оборонительном (неизбегаемом) рефлексе у кроликов. Науч. докл. высш. школы. Биол. науки, 1964, **4**, 56–60.
15. ПАВЛОВ И. П., Двадцатилетний опыт объективного изучения высшей нервной деятельности (поведения) животных — условные рефлексы. (Статьи, доклады, лекции, речи). Полное собрание трудов, Медгиз, М., 1938, 365.
16. ANAND B. K., DUA S. and SHOENBERG KATE, Hypothalamic control of food intake in cats and monkeys. J. Physiol., 1955, **127**, 1, 143–152.
17. SADOWSKI B. and LONGO V. G., Electroencephalographic and behavioural correlates of an instrumental reward conditioned response in rabbits. A physiological and pharmacological study. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 1962, **14**, 4, 465–476.
18. WYRICKA WANDA, Electrical activity of the hypothalamus during alimentary conditioning. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 1964, **17**, 2, 164–176.

Московский государственный университет,
Кафедра физиологии высшей нервной деятельности
Институт биологии им. Траяна Севулеску,
Секция физиологии животных

DER EINFLUSS ELEKTROMAGNETISCHER FELDER
NIEDERER FREQUENZ UND INTENSITÄT
AUF DIE ENTSTEHUNGSDYNAMIK DER ANTIKÖRPER *)
VON
P. JITARIU und N. TOPALĂ

The rectangular electromagnetic fields with impulses, applied with one-second breaks at 3-second interval, during 3 minutes daily within 15 days, exercise a tremendous stimulative influence on the formation of hemolysin in rabbits. In these experimental conditions, the circulating blood maintains its antibodies for a very long time, at a higher titre, as compared to the control animals.

In letzter Zeit korreliert man die Forschungen über die Entstehungsdynamik der Antikörper mit den allgemeinen Biosyntheseprozessen der Eiweißstoffe. Diese Wechselbeziehung wurde zum ersten Male im Jahre 1949 von Bernet und Fenner [1] aufgestellt. Sie behaupteten, daß die Entstehung der Antikörper aufgrund eines matrizenartigen genetischen Prozesses abläuft, der spezifisch, unter dem Einfluß der Antigeninformation hervorgerufen wird. Angesichts der Tatsache, daß die Entstehungsdynamik der Antikörper mengenmäßig nicht unveränderlich ist, u.zw. sich je nach dem Zustand des Organismus verändert und anpaßt, beweist Zdrodovski in einer Reihe von Arbeiten [2], [3], daß die Aktivität des genetischen Matrizenmechanismus unter der Kontrolle des Hypothalamo-Hypophysen-Adreno-Kortikalsystems steht und letzten Endes unter der Kontrolle der Hirnrinde. Die Stimulation oder Hemmung dieses Systems durch verschiedene physikalische, chemische oder biologische Einflüsse, ändert den dynamischen Aspekt des immunologischen Prozesses. Der Einfluß chemischer Faktoren mit unspezifischer Adjuvantienwirkung wurde schon 1925 von Ramon [4] gezeigt und 1962 von Farthing aufs neue bestätigt.

In den letzten Jahren wurde in der wissenschaftlichen Forschung den physikalischen, magnetischen und elektromagnetischen Faktoren immer größere Bedeutung zugesprochen. So hat Gross [6] bei Mäusen das Wachstum der Geschwülste, unter dem Einfluß relativ gleichförmiger

*) Diese Arbeit wurde auf der ersten Tagung für Tierphysiologie vorgetragen (Cluj, 25.-28. Mai 1965).

Magnetfelder von 4000 G untersucht und dabei festgestellt, daß der Schutzmechanismus gegen die Geschwulst mit Ehrlichschem Aszites unter dem Einfluß des Magnetfeldes alteriert wird. Gleichzeitig stellt er eine Verringerung der Antikörper bei den im Magnetfeld gehaltenen Mäusen fest.

Jitariu, Topala und Aliese [7] sowie Jitariu, Topala u.a. [8] benützten durch gleichgerichteten Strom von 50 und 100 Hz hervorgerufene pulsatile elektromagnetische Felder von schwacher Intensität, 100 Oe mit oder ohne Pause, und stellten eine eindeutige Begünstigung der immunologischen Antwort bei Hasen und Meerschweinchen, sowohl den Mikroben als auch den Toxinen gegenüber, fest.

Da bei den elektromagnetischen Feldern von niedriger Frequenz die elektrische Komponente, im Vergleich zur magnetischen, unbedeutend ist, haben wir die Ergebnisse der magnetischen Komponente zugesprochen und den Ausdruck Magnetfeld benutzt.

In vorliegender Arbeit haben wir die Forschungen auch auf die Entstehung der Hämolsine erstreckt, die durch ihre Wirkungsweise eine besondere Kategorie von Antikörpern darstellen.

MATERIAL UND ARBEITSMETHODE

Die Versuche wurden auf 14 Hasen der Rasse Chinchilla, im Gewicht von 2,5–3,0 kg, durchgeführt.

Die Hasen wurden in zwei Gruppen geteilt:

- erste Gruppe: 6 Tiere (4 männliche und 2 weibliche),
- zweite Gruppe: 8 Tiere (6 männliche und 2 weibliche).

Beide Gruppen wurden mit gewaschenen und mit 0,85%igem NaCl auf das ursprüngliche Volumen gebrachten Schafbockerytrozyten immunisiert. In einem Zeitraum von 3 Tagen wurden zweimal je 3 ml Erythrozytensuspension in die Seitenvene des Ohres injiziert.

Die erste Gruppe wurde als Vergleichsgruppe angesehen. Die Tiere der zweiten Gruppe wurden nach der ersten Antigeninjektion dem Einfluß der elektromagnetischen Felder ausgesetzt. 15 Tage hindurch wurden sie je 3 Min. lang innerhalb von 24 Std. behandelt. Die benützten elektromagnetischen Felder hatten eine Durchschnittsintensität von 100 Oe, wurden von gleichgerichtetem Strom von 14 A vorgerufen und in Form von rechteckigen Impulsen angewandt.

5, 10, 15, 20 und 30 Tage nach der ersten Behandlung mit Antigen wurde von beiden Tiergruppen Blut genommen und der Hämolsintiter im Serum bestimmt.

DISKUSSION

Aus unseren Versuchen geht hervor (Tabelle 1), daß bei den Tieren der Vergleichsgruppe 5 Tage nach der ersten Antigeninjektion die Hämolsine im Serum anwesend sind und ihr Titer zwischen 1/1000 und 1/1500, im Durchschnitt bei 1/1250 liegt. Den größten Titer erreichen die Hämolsine nach 10 Tagen. Bis ungefähr zum 15. Tag bleibt er konstant (nach 10 Tagen 1/2900). Danach nimmt er ab und nach 30 Tagen liegt er bei 1/400.

Bei den mit elektromagnetischen Feldern beeinflußten Tieren ist der Titer der Serumhämolsine viel größer als bei den Vergleichstieren. 5 Tage nach der ersten Antigeninjektion beträgt der Durchschnittstiter

1/3000, nach 10 Tagen 1/6000, nach 15 Tagen 1/4560, nach 20 Tagen 1/3310 und nach 30 Tagen 1/2060 (s. Tabelle 1). Das bedeutet eine Erhöhung der Vergleichsgruppe gegenüber um 132% nach 5 Tagen, um 106% nach 10 Tagen, um 71% nach 15 Tagen, um 99% nach 20 Tagen und um 347% nach 30 Tagen (Abb. 1).

Tabelle 1

Schwankungen des Hämolsintitors bei den mit elektromagnetischen Feldern beeinflußten Tieren, im Vergleich zu normalen Tieren

GRUPPE TAGE	5	10	15	20	30
Normalgruppe	1/1000	1/3000	1/2500	1/1000	1/400
	2	1/2500	1/2000	1/1000	1/400
	3	1/3000	1/3000	1/1500	1/500
	4	1/3000	1/2500	1/1000	1/400
	5	1/3000	1/3000	1/1500	1/500
	6	1/3000	1/3000	1/1000	1/400
DURCHSCHNITT	1/1250	1/2900	1/2660	1/1160	1/460
3 Sek. täglich im Verlaufe von 15 Tagen mit elektromagnetischen Feldern beeinflußte Gruppe	1/3000	1/7000	1/6000	1/5000	1/2500
2	1/2500	1/5000	1/3500	1/2500	1/2000
3	1/3000	1/5000	1/3500	1/2500	1/2500
4	1/3000	1/7000	1/5500	1/3500	1/2500
5	1/3500	1/5500	1/4500	1/2500	1/2000
6	1/3000	1/5000	1/3500	1/2500	1/2000
7	1/3000	1/6500	1/5000	1/3500	1/1500
8	1/3000	1/7000	1/6000	1/4500	1/2000
DURCHSCHNITT	1/3000	1/6000	1/4560	1/3310	1/2060

Aus diesen Ergebnissen ist eine eindeutige Stimulation der Entstehungsdynamik der Hämolsine durch die elektromagnetischen Felder ersichtlich. Diese Stimulation tritt besonders in den ersten 5 Tagen auf, also in der ersten Phase des Immunitätsprozesses, wonach sie abklingt.

Die Tatsache, daß 20 Tage, aber insbesondere 30 Tage nach der ersten Antigeninjektion der Hämolsintiter bei den mit elektromagnetischen Feldern beeinflußten Tieren um 99% bzw. um 347% größer als bei den Normaltieren ist, läßt sich durch das längere Verbleiben der größeren Konzentration der Antikörper im Blutkreislauf dieser Tiere erklären, während in der gleichen Zeit die Hämolsine bei den Vergleichstieren rasch abnehmen.

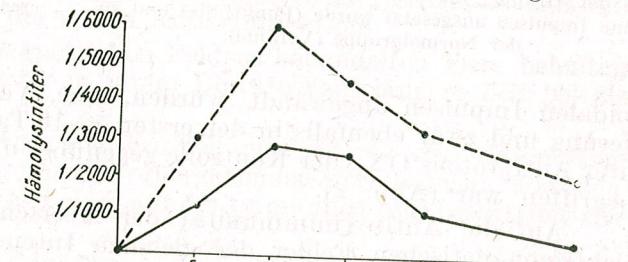


Abb. 1. — Entstehungsdynamik der Hämolsine bei den Hasen, die der dem elektromagnetischen Felde mit Impulsen ausgesetzten Gruppe angehören (Strichlinie) im Vergleich zu den Hasen der Normalgruppe (Volllinie).

Diese Versuchsergebnisse bestätigen unsere vorhergehenden Forschungen über den Einfluß der elektromagnetischen Felder auf die antimikrobielle und antitoxine Immunität.

Im Falle der antimikrobiellen Immunität bei Hasen bewirken die elektromagnetischen Felder schwacher Intensität, die in Form von sinu-

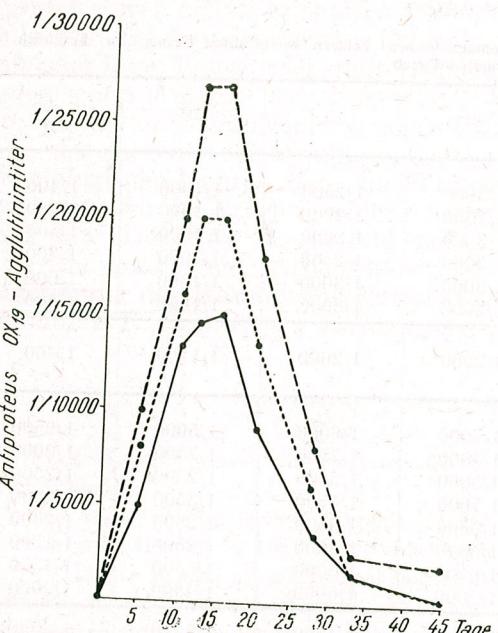


Abb. 2. — Die Entstehungsdynamik der Antiproteus OX₁₉-Agglutinine bei den Hasen, die der Gruppe angehören die mit elektromagnetischem Felde mit Impulsen behandelt wurde (Strichlinie) im Vergleich zu der Gruppe, die dem elektromagnetischen Felde ohne Impulsen ausgesetzt wurde (Punktlinie) und zu der Normalgruppe (Volllinie).

soidalen Impulsen angewandt wurden, eine Verstärkung der Immunisierung und zwar ebenfalls in den ersten 5—10 Tagen, als der Agglutinintiter Antiproteus OX₁₉ der Kontrolle gegenüber um 60—100 % im Steigen begriffen war (Abb. 2).

Auf die Antitoxinimmunität der Meerschweinchen bewirkten die elektromagnetischen Felder der gleichen Intensität, aber in Form von geradlinigen Impulsen angewandt, eine Steigerung des Antitetanus-Antitoxins um 83—160 %, und im Falle des Hinzufügens von CaCl₂ zum Tetanusantitoxin, das als Antigen benutzt wurde, betrug die Steigerung des Antitoxintiters im Vergleich zur Kontrolle 250 % (Abb. 3).

Daraus entnehmen wir, daß die elektromagnetischen Felder schwacher Intensität, die in Form von Impulsen angewandt sind, unter den oben besprochenen Bedingungen, auf die Immunität im allgemeinen eine wichtige Stimulation ausüben.

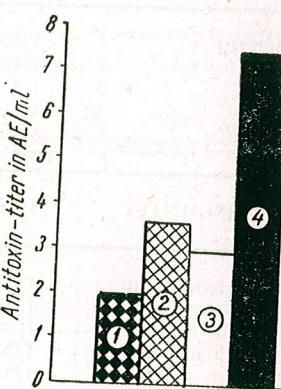


Abb. 3. — Einfluß von Magnetfeldern mit Impulsen auf die Bildung der Antitetanus-Antitoxine bei Meerschweinchen :

- 1, Normalgruppe (Vergleichsgruppe) ;
- 2, die mit Elektromagnetfeld beeinflußte Gruppe ;
- 3, die mit Antitetanus-Anatoxin + CaCl₂ injizierte Gruppe ;
- 4, die mit Antitetanus-Anatoxin + CaCl₂ injizierte und dem Elektromagnetfeld ausgesetzte Gruppe.

Aus den Ergebnissen geht klar hervor, daß die Codierung unter dem Einfluß der von uns benutzten elektromagnetischen Felder schwacher Intensität abgeändert wird. Unter unseren Versuchsbedingungen nimmt die Antigeninformation eine andere Tragweite an und dadurch wird die Entstehungsdynamik der Antikörper, sowohl im Falle einer Antimikroben- oder Antitoxinimmunität, als auch im Falle der Bildung von Hämolsinen, eindeutig stimuliert und zeitlich verlängert.

Ebenso ist es von großem Interesse zu zeigen, daß man unter dem Einfluß von Magnetfeldern anderer Stärke die entgegengesetzte immunologische Antwort erhält. Deswegen sind sowohl diese Ergebnisse als auch unsere vorhergehenden den Feststellungen von Leo Gross entgegengesetzt, der unter dem Einfluß statischer Magnetfelder von 4000 G ein Vorherrschen der Immunitätsantwort bei Mäusen erzielte.

Wir glauben, daß die biologischen Effekte der elektromagnetischen Felder durch die Stärke und wahrscheinlich auch durch die Form der benutzten Felder beeinflußt werden, da die Anwendung von elektromagnetischen Feldern in Form von geradlinigen Impulsen viel wirksamer ist als ihre Anwendung in Form von Sinusoidimpulsen oder ohne Impulsen. Dadurch läßt sich auch die bedeutsame Verstärkung der Immunisierung bei der Entstehung von Antitoxinen und Hämolsinen im Vergleich zur Bildung von Agglutininen erklären.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

1. Die durch gleichgerichteten elektrischen Strom hervorgerufenen elektromagnetischen Felder schwacher Intensität, die in Form von geradlinigen Impulsen von 3 Sekunden mit Pausen von 1 Sekunde, je 3 Minuten täglich, in einer Zeitspanne von 15 Tagen angewandt wurden, bewirken eine wichtige Stimulation der Hämolsinbildung bei Hasen.

2. Die Stimulation durch elektromagnetische Felder tritt besonders in der ersten Immunisationsphase zum Vorschein und erreicht das Maximum 5 bis 10 Tage nach der ersten Antigeninjektion.

3. Die mit elektromagnetischen Feldern behandelten Tiere behalten den erhöhten Antikörpertiter in ihrem Blutkreislauf längere Zeit bei als die Vergleichstiere.

4. Die Ergebnisse über die Entstehungsdynamik der Hämolsine sind im gleichen Sinne wie unsere vorhergehenden Forschungen über den Einfluß elektromagnetischer Felder auf die Immunität und bestätigen sie.

LITERATUR

1. BERNET, FENNER, zitiert nach [2].
2. П. Ф. ЗДРОДОВСКИ, Современные данные об образовании защитных антител, его регуляции и неспецифической стимуляции. Журнал микробиол. эпидем. иммунобиол., 1964, 5, 6.
3. — Вопросы инфекции, иммунитета и аллергии. Медгиз, 1963, S. 420-424.
4. G. RAMON, C. R. Acad. Sci., 1925, 181, 157.

5. J. R. FARTHING, L. B. HOLT, J. Hyg. (London), 1962, **60**, 411.
6. LEO GROSS, Nature, 1962, **195**, 4842, 662.
7. P. JITARIU, N. TOPALĂ, C. ALIESEI, Revue Roumaine de Biologie. Série de Zoologie, 1966, **9**, 3, 163.
8. P. JITARIU, N. LAȘCU, N. TOPALĂ, M. LAZĂR, Revue Roumaine de Biologie, Série de Zoologie, 1965, **10**, 1, 33.

Universität Al. I. Cuza Iași,
Laboratorium für Human- und Tierphysiologie
und Laboratorium für allgemeine Mikrobiologie

REACTIVITY OF THE ADRENAL CORTEX IN PHENOMENA OF METEOROTROPISM IN RAMS*

BY

AL. LUNGU, MINODORA BUNEA, V. TEODORU,
ANA CRISTOVEANU, ALINA TACHE and I. DINU

The study of the daily variations of the urinary 17-KS and 17-HOCS in castrated rams for periods of 20 days and the reference of the hormonal data to meteorological indexes showed :

- a) the presence of a single sense of variation of 17-KS and 17-HOCS in the animals studied simultaneously;
- b) constant coincidence of moments with strong wind with marked increases of the 17-KS and 17-HOCS;
- c) the existence of a higher average level of hormonal values on the days with average temperature below 0°C in comparison with the days with temperature over 0°C as well as in the days with atmospheric precipitations as compared to those without precipitations, these two correlations being nevertheless not dependent of one another.

The part played by the adrenal cortex in adaptation processes of higher organisms to the physical factors of the environment has been proved by a considerably large number of researches in which either artificial conditions were applied (usually during acute experiments), or criteria of climate and season employed for the appraisal of the results.

We undertook to detect possibly existent correlations between meteorological variations under natural conditions and the daily oscillations of adrenocortical function in animals, bearing in mind that in this way it is possible to avoid to a considerable extent the interference of the complex effects of other oecological elements with the meteorological influences [5].

* Work presented at the First Session of Animal Physiology (Cluj, 25–28 May 1965).

MATERIAL AND METHOD

The animals used for our study were castrated rams, since their urine has the advantage of not containing hormones of testicular origin in its steroid mixture. The rams had been castrated before reaching the age of one year and, at the time of the experiment, were 3 1/2 to 4 years old, weighing 50 to 60 kg. The observation was carried out in two periods of 20 days each, and on two different groups of animals: the first lot of three animals, from December 16, 1964 to January 4, 1965, and the second group of two animals, from February 16, 1965 to March 7, 1965.

Adrenocortical hormones were determined in the urine every day. In the first group 17-ketosteroids (17-KS) were determined by the procedure of Drekter-Zimmermann (60 determinations in all), and in the second group 17-KS and 17-hydroxycorticosteroids (17-HOCS) were determined by the method of Porter-Silber (40 determinations in all). The urine of the animals was collected with the aid of a special collecting device for metabolic investigations in domestic animals.

The animals were kept under natural conditions, in a shelter made of brick-walls, without artificial heating and without doors.

Both in the period preceding the test and during the investigation their food was strictly standardized, representing 0.9 nutritional units and 72 g digestible protein daily.

The daily values of hormonal indexes were noted in connection with the variations of current meteorological indexes.

For anemographic dynamics we reported the diagrams representing the strength of winds to hormonal curves.

As the direct confrontation of hormonal variations with atmospheric temperature and moisture was inconclusive, we divided the days of each period of investigation according to their average temperature either below or above 0°C and according to the presence or absence of precipitations.

During the first investigation period the daily mean temperatures oscillated between -2.4°C and +4.9°C (six days below 0°C and 14 days above 0°C), and during the second period they were between -6.6°C and +5.3°C (13 days below 0°C and 7 days above 0°C).

Atmospheric precipitations were present during the first experimental period for 11 days, and during the second one for 12 days.

Daily values of 17-KS and 17-HOCS were referred to the various categories of days mentioned above, both regarding the whole group and each individual animal, calculating the respective mean values and appraising the significance of differences by finding out standard errors and the *p* index.

Similar procedures were tried also for establishing some relations between hormonal indexes on the one hand, and atmospheric pressure and relative moisture on the other.

RESULTS

During the investigation; the hormonal values displayed large variations, occasionally exhibiting massive rises or falls from one day to the next. It could be seen that, generally, the variations in hormonal indexes were parallel in each of the groups, there being a striking agreement in the sense and the intensity of oscillations, particularly in the case of large amplitudes of the latter.

The reference of hormonal indexes to some current meteorological indexes revealed a number of correlative links which demonstrate the participation of the adrenal cortex in the meteorotropic adaptation of animals.

A. Correlations between anemographic dynamics and daily oscillations of steroids in the urine.

In anemographic dynamics three indexes were considered: (1) the speed of the wind taken at four moments in 24 hours (at 1, 7, 13 and 19 hrs); (2) its mean maximum speed; and (3) the intensity of maximum gusts of wind in 24 hours. The results obtained show that 17-KS indexes are distributed in a certain relationship with anemographic graphs. The times of strong wind invariably coincide with elevated 17-KS levels, a phenomenon recorded in both groups of animals during both periods of investigation (Figs. 1 and 2). A similar correlative relationship exists also as regards 17-HOCS oscillations which were measured in the second group, with the observation that the peaks of hormonal curves occurred with a certain delay (24 to 48 hours) after the maximum intensities of wind (Fig. 3).

B. Correlations between air temperature and hormonal indexes.

Considering the hormonal levels in relationship with average daily temperature, we found that on days having mean temperatures below 0°C, the 17-KS and 17-HOCS levels were constantly higher than hormonal indexes found on days with a mean temperature exceeding 0°C (Figs. 4 and 5).

The mean values of 17-KS were 11.5 mg as against 5.8 mg in the first group, and 11.6 mg as against 9.5 mg in the second group, with significant statistical differences. The mean values found in each of the animals equally show higher values of 17-KS on days with lower temperatures, with statistically significant figures in four of the five experimental animals (tables 1 and 2).

The same applies to 17-HOCS, and though in one of the animals of group 2 the difference is not statistically significant, in the total of 40 determinations, the statistical significance appears as *p* < 0.003 (table 3 and Fig. 6).

Hence, under our research conditions, cold was found to be fostering the enhancement of adrenocortical activity, as could be seen from the increased urinary elimination of 17-KS and 17-HOCS.

C. Correlations between atmospheric precipitations and hormonal indexes.

Referring the hormonal indexes to days with and without atmospheric precipitations we found in the first group a mean value of 11.6 mg of 17-KS on days with precipitations as against 5.2 mg on the other days, and in the second group 11.6 mg on the average as against 10.3 mg respectively. In both cases the differences were statistically significant.

Considered in each of the animals separately, the upper level of 17-KS on days with precipitations was found statistically significant in 3 cases (tables 4 and 5, Figs. 7 and 8).

As regards 17-HOCS, both animals investigated displayed a higher level of hormonal indexes, statistically significant, on days with precipitations (table 6 and Fig. 9).

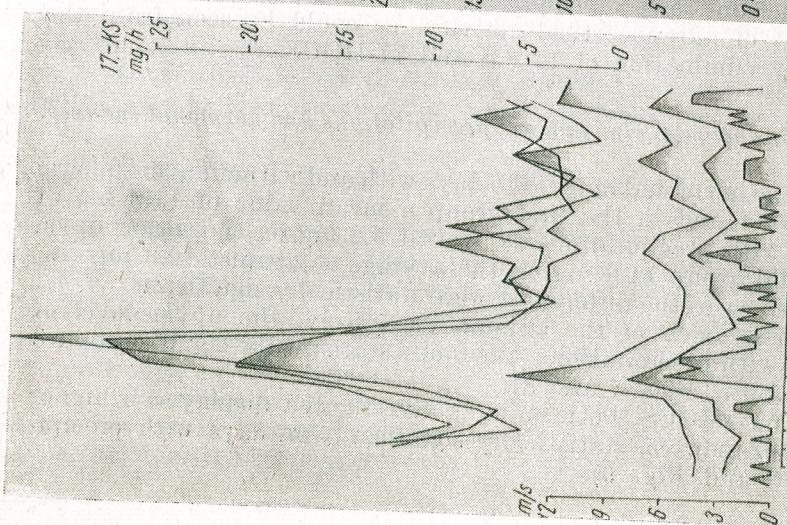


Fig. 1. — Graphs of urinary 17-KS and course of anemographic determinations during the first research period. The lower grouping represents the anemographic dynamics (from below upward; wind speed every six hours, average daily speed; maximum gusts in m/sec.) and the upper graphs visualize the changes in 17-KS.

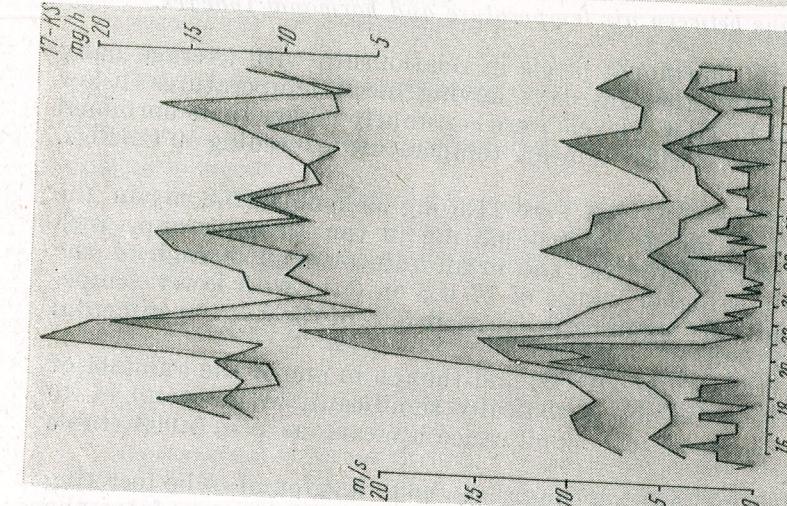


Fig. 2. — Graphs of urinary 17-KS and course of anemographic data during the second research period (same significance as in Fig. 1).

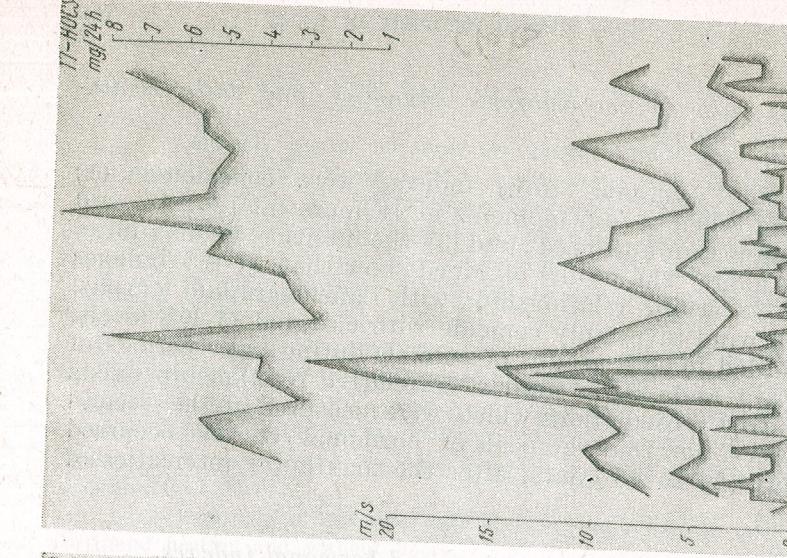


Fig. 3. — Graphs of urinary 17-HOCS and course of anemographic data.

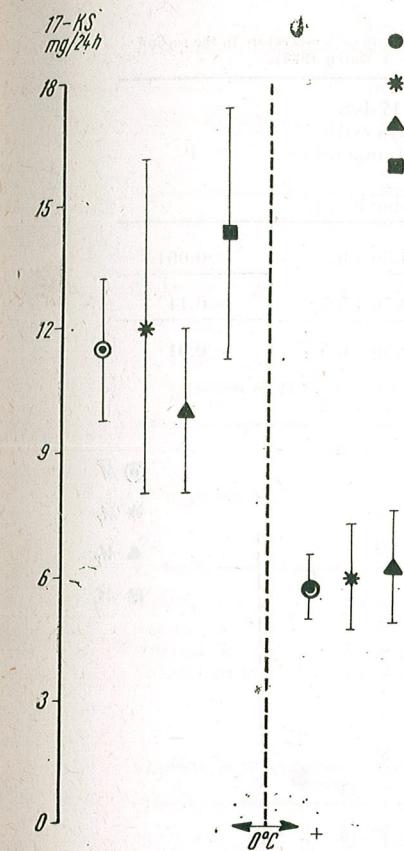


Fig. 4. — Mean values of urinary 17-KS in the entire group (M), and in each separate animal (M₁, M₂, M₃) in relation with the daily average temperature, below or above 0°C (First research period).

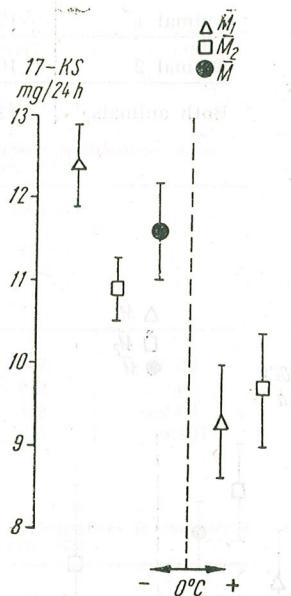


Fig. 5. — Idem (Second research period).

Table 1

Variations of 17-KS values in relation with atmospheric temperature in the first experimental group (16 Dec. 1964–4 Jan. 1965)

Determinations	Mean values of 17-KS (mg/24 hrs) on days with average atmospheric temperature		p
	below 0°C	above 0°C	
Animal 1	12.00 ± 4.1	6.07 ± 1.3	0.01
Animal 2	10.00 ± 2.1	6.30 ± 1.4	0.03
Animal 3	14.33 ± 3.1	5.78 ± 1.7	<0.001
Whole group	11.50 ± 1.7	5.80 ± 0.8	<0.003

49. Biologa

TRAVAUX PARUS AUX ÉDITIONS DE L'ACADEMIE
DE LA RÉPUBLIQUE SOCIALISTE DE ROUMANIE

- E. RACOVITĂ, Opere alese (Œuvres choisies), 815 p., 47 lei.
IOSIF LEPŞI, Protozoologie (Zoologie des protozoaires), 1965, 1000 p., 8 pl., 56 lei.
ANDRIANA DAMIAN-GEORGESCU, Fauna Republiei Socialiste România (La Faune de la Roumanie), Crustacea, Copepoda, IV^e vol., 8^e fasc. Calanoida, 1966, 131 p., 7 lei.
Z. FEIDER, Fauna Republiei Socialiste România (La Faune de la Roumanie), Arachnida, Ve vol., 2^e fasc., Acaromorpha, suprafamille des Ixodoidea, 1965, 407 p., 23 lei.
ZACHIU MATIC, Fauna Republiei Socialiste România (La Faune de la Roumanie), Chilopoda, Anamorpha, VI^e vol., 1^{er} fasc., 1966, 272 p., 1 pl., 14,50 lei.
FILIMON CIRDEI et FELICIA BULIMAR, Fauna R.P.R. (La Faune de la Roumanie), VII^e vol., 5, fam. Ichneumonidae, sous-fam. Phaeogeniae et Alomyinae, 1965, 511 p., 33 lei.
EUGEN V. NICULESCU, Fauna R.P.R. (La Faune de la Roumanie), Insecta, Lepidoptera, XI^e vol., fasc. 7, tam. Nymphalidae, 1965, 364 p., 29 lei.
G. DINULESCU, Fauna Republiei Socialiste România (La Faune de la Roumanie), Insecta, XI^e vol., 8^e fasc., Diptera, fam. Simuliidae, 1966, 603 p., 39 lei.

P. II/1469

REVUE ROUMAINE
BIOLOGIE
— SÉRIE DE ZOOLOGIE

TOME 12

REVUES PUBLIÉES AUX ÉDITIONS DE L'ACADEMIE
DE LA RÉPUBLIQUE SOCIALISTE DE ROUMANIE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOLOGIE
— SERIA BOTANICĂ
— SERIA ZOOLOGIE

Table 2

Variations of 17-KS values in relation with atmospheric temperature in the second experimental group (16 Feb. - 7 March 1965)

Determinations	Mean values of 17-KS (mg/24 hrs) on days with average atmospheric temperature		p
	below 0°C	above 0°C	
Animal 1	12.40 ± 0.5	9.30 ± 0.7	<0.001
Animal 2	10.90 ± 0.4	9.70 ± 0.7	~0.11
Both animals	11.00 ± 0.6	9.50 ± 0.5	<0.01

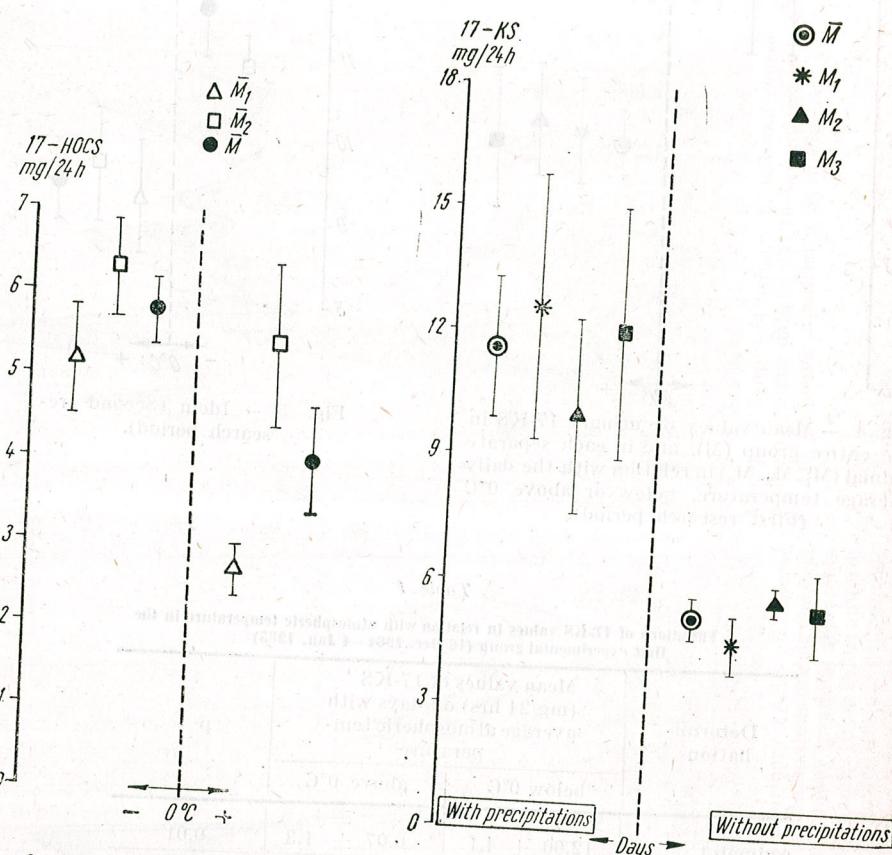


Fig. 6. — Mean values of urinary 17-HOCS in the two animals (M_1 , M_2) and average figure (\bar{M}) in relation with the daily average temperature, below or above 0°C.

Fig. 7. — Mean values of urinary 17-KS in the entire group (\bar{M}) and in each of the animals (M_1 , M_2 , M_3) in relation with the presence or absence of atmospheric precipitations (First research period).

Table 3

Variations of 17-HOCS in relation with atmospheric temperature

Determinations	Mean values of 17-HOCS (mg/24 hrs) on days with average atmospheric temperature		p
	below 0°C	above 0°C	
Animal 1	5.2 ± 0.67	2.7 ± 0.33	<0.003
Animal 2	6.3 ± 0.60	5.4 ± 1.00	> 2
Both animals	5.8 ± 0.44	4.0 ± 0.67	<0.03

Table 4

Variations of 17-KS values in relation with atmospheric precipitations in the first group (16 Dec. 1964-4 Jan. 1965)

Determinations	Mean 17-KS values (mg/24 hrs) on days		p
	with precipita-tions	without precipi-tations	
Animal 1	12.60 ± 3.5	4.66 ± 0.7	0.02
Animal 2	10.00 ± 2.4	5.75 ± 0.3	> 0.05
Animal 3	12.10 ± 3.2	5.40 ± 1.0	~0.04
Whole group	11.60 ± 1.7	5.20 ± 0.5	<0.001

Table 5

Variations of 17-KS values in relation with atmospheric precipitations in the second experimental group (16 Feb.-7 March 1965)

Determinations	Mean 17-KS values (mg/24 hrs) on days		p
	with precipita-tions	without precipi-tations	
Animal 1	12.60 ± 0.3	10.60 ± 0.2	<0.001
Animal 2	11.20 ± 0.7	10.10 ± 0.4	~0.16
Both animals	11.90 ± 0.4	10.35 ± 0.5	~0.05

Table 6

Variations of 17-HOCS in relation with atmospheric precipitations

Determinations	Mean values of 17-HOCS (mg/24 hrs) on days		p
	with precipita-tions	without precipi-tations	
Animal 1	5.3 ± 0.79	3.2 ± 0.45	~0.01
Animal 2	6.8 ± 0.44	3.5 ± 0.37	<0.001
Both animals	6.0 ± 0.50	3.3 ± 0.28	<0.001

The above data show that among the elements of the meteorological pattern, atmospheric precipitations were equally capable of taking part in the meteorotropic stimulations of the adrenocortical activity.

It should be mentioned that during the first period of investigations only 2 out of 11 days with precipitations coincided with days on which the mean temperature of the air was below 0°C, and during the second period

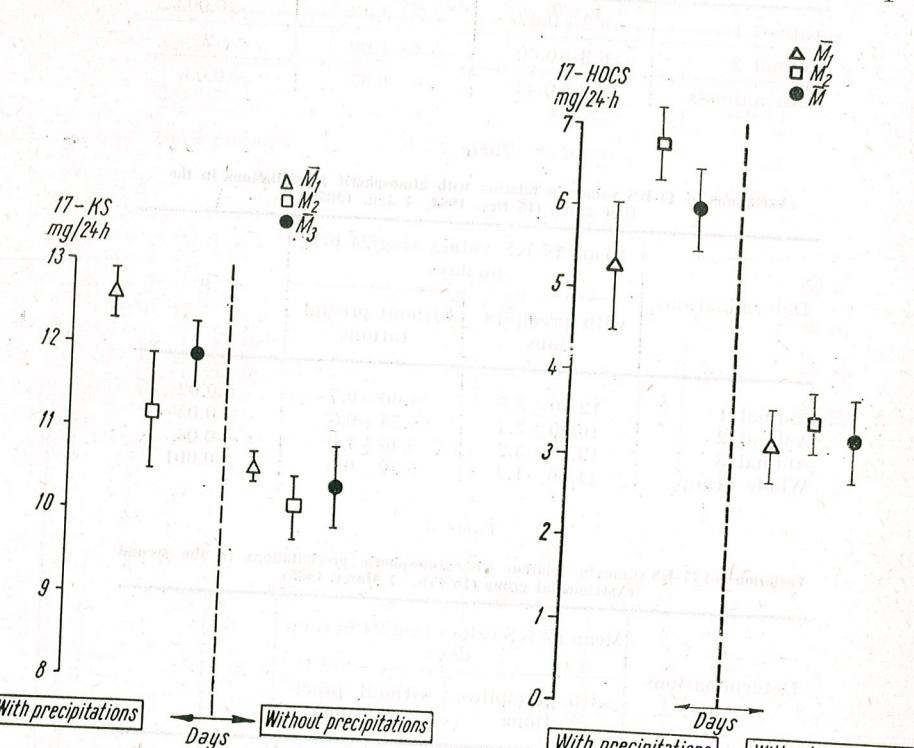


Fig. 8. — Idem (Second research period).

the above coincidence occurred on 7 out of 12 days with precipitations, which demonstrates that the relationship between these two meteorological elements and the hormonal reaction are taking place in a comparatively independent manner.

★

Under our research conditions and in the animal species investigated no links were found between adrenocortical function, atmospheric pressure, and relative air moisture.

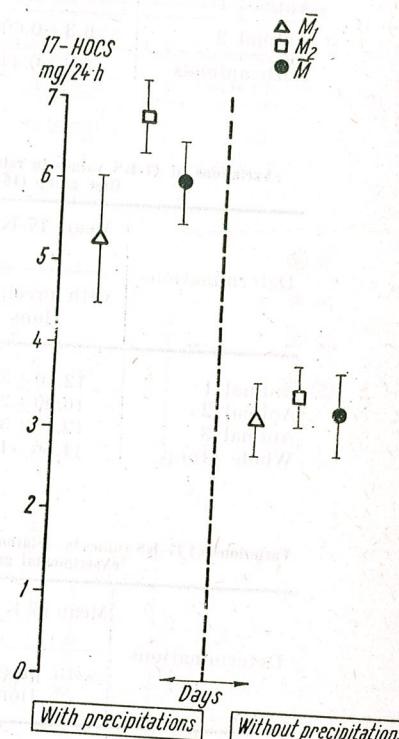


Fig. 9. — Mean values of urinary 17-HOCS in the two animals (M_1 , M_2) and average figure (\bar{M}) in relation with the presence or absence of atmospheric precipitations.

DISCUSSION

Our findings demonstrate the existence of a meteorotropic reactivity of the adrenal cortex in animals.

As regards the influence of wind intensity upon the level of corticosteroid hormones, this has so far been demonstrated in man only. Compared to the respective investigations [6], [12], the relationship between anemographic dynamics and hormonal oscillations in rams proved far more clear and constant.

Under laboratory conditions, a large number of investigations have brought to light the enhancement of adrenocortical function under the influence of cold [1], [2], [8], [10], [13], but was found by using sudden transitions to low temperatures, clearly different from the possible oscillations occurring in nature during the established time interval. Under natural conditions the relationship between air temperature and corticosteroid variations has only been studied either according to seasonal variations [3], [4] which include, aside from meteorological factors, also complex environmental influences (climate, food, social factors, etc.) or after fast travelling over great distances with extreme adaptation [11]. All these studies have been made in man with the exception of those of Santisteban [9] who demonstrated that urinary 17-KS levels in mares are high during the cold season if the animals remain unprotected by blankets. Our data show that in animals air temperature is liable to influence the daily oscillations of the adrenocortical function.

In the literature available to us we found no data regarding the relationship between atmospheric precipitations and adrenocortical activity.

Mention should be made of the fact that, unlike the positive findings reported in this paper, the previous investigation of one of us [7] failed to reveal, in man, any correlations between daily oscillation of corticosteroids and temperature variations or the presence of atmospheric precipitations. On the other hand, certain correlations could be established between the adrenocortical reactivity of the human body and air moisture, which failed to appear in the animals studied by us.

The latter observation raises the question as to the differentiation of meteorotropic reactivity of the adrenal cortex according to the species, and emphasizes the importance of research in the field of animal biometeorology with theoretical prospects in comparative physiology and possible applications in cattle-raising.

REFERENCES

1. AZUMA, T., *Studies of cold tolerance*, Endocrinol. Jap., 1961, 8, 50.
2. BOULOUARD, R., *Effect of cold and starvation on adrenocortical activity of rats*, Feder. Proc. 1963, 22, 753.
3. HALE H. B., ELLIS J. P. JR., BALKE B., MC NEE R. C., *Excretion trends in men undergoing deacclimatization to heat*, J. Appl. Physiol., 1962, 17, 456.
4. LODI A., TUCCI G., *Cortico-surrene a fattori meteorologici*, Endocrin. Sci. Costit., 1960, 16, 192.
5. LUNGU AL., *Probleme actuale ale biometeorologiei medicale*, Med. internă (Buc.), 1964, 16, 8, 1007.

6. LUNGU AL., BUNEA M., TACHE A., Raport corelativ posibil intre unii indici meteorologici curenți (umiditatea atmosferică relativă, viteza vîntului) și variațiile zilnice a 17-cetosteroizilor urinari la om, Med. internă (Buc.), 1964, **16**, 10, 1253.
7. LUNGU AL., TACHE A., BUNEA M., Reactivitatea meteorotropă a corticosuprarenalei, St. cercet. endocrinol., 1966, **17**, 1, 49.
8. MAICKEL R. P., WESTERMANN E. O., BRODIE B. B., Effects of reserpine ana cold-exposure on pituitary-adrenocortical function in rats, J. Pharmacol. exp. therap., 1961, **134**, 16.
9. SANTISTEBAN G. D., Excrecion urinaria de 17-cetosteroides neutros de yeguas en oestrus, Arch. Zootech. (Mexico), 1960, **9**, 303.
10. SOBEL H., SIDEMAN M., ARCE R., Steroid excretion by guinea pigs exposed to cold for prolonged periods, Amer. J. Physiol., 1960, **196**, 1107.
11. STARQUET M., Besoins énergétiques et activité cortico-surrénale chez les membres d'une expédition polaire, Arch. belges méd. soc., 1961, **19**, 661.
12. UTERS M., HOFSCHLAEGER J., ANTON H. U., ZIMMERMANN W., Die 17-Ketosteroidausscheidung als Anzeichen meteorologischer Faktoren?, Dtsch. Med. Wschr., 1951, **76**, 140.
13. WOODS J. M., The effects of long-term exposure to cold upon adrenal weight and ascorbic acid content in wild and domesticated Norway rats, J. Physiol. (London), 1957, **135**, 384.

INFLUENCE DE L'INSULINE SUR LA GALACTOSÉMIE PROVOQUÉE CHEZ LA CARPE (*CYPRINUS CARPIO L.*)*

PAR

I. MOTELICĂ et N. ȘANTA

The "C. I. Parhon" Institute
of Endocrinology of the Academy of the
Socialist Republic of Romania

The influence of insulin upon blood galactose level has been studied in carp (*Cyprinus carpio L.*).

The experiments were carried out on a total number of ten groups, four carps in each group, two summers old, kept in aquariums supplied with fresh water at 19–22°C.

Galactose (10% solution) in proportion of 1 g/Kg has been introduced by help of a sound directly into intestine. The insulin has been injected intramuscularly. The reducing substances of blood were determined by the Hagedorn-Jensen method.

Blood galactose was evaluated at a spectrophotometer in the 720 m μ band.

The results obtained led us to conclude that insulin has a considerable positive influence on the absorption and utilisation of galactose.

Dans un travail antérieur [3] nous avons présenté les résultats de nos recherches sur l'absorption et l'utilisation du glucose, du galactose et du fructose par la Carpe. On a constaté qu'il y a des différences notables entre ces trois hexoses en ce qui concerne la vitesse de leur absorption intestinale et nous avons envisagé la possibilité d'une certaine compétition entre ceux-ci.

Nous avons entrepris, depuis, d'autres recherches dans le but d'approfondir cette étude et nous exposons dans la présente note les résultats de nos travaux concernant les effets de l'insuline sur la galactosémie provoquée.

Des recherches antérieures [1] ont conduit à la conclusion que l'insuline exerce les mêmes influences physiologiques sur tous les oses qui possèdent une configuration spatiale analogue pour les trois premiers atomes de carbone et par conséquent sur le galactose également.

D'autre part, Levine et ses collaborateurs [2] ont montré que l'insuline augmente considérablement l'espace pour le galactose.

* Travail présenté à la Première Session de Physiologie animale (Cluj, 25–28 mai 1965).

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les expériences ont porté sur une quarantaine de carpes sauvages pêchées dans un la danubien (Greaca). Les exemplaires utilisés avaient un poids corporel moyen d'environ 1 kg.

Au laboratoire, les poissons étaient gardés dans un aquarium à eau courante. La température de l'eau a varié de 19 à 22°C. Les carpes ont été maintenues en inanition totale durant toute la période expérimentale.

Les essais ont commencé après une période d'adaptation de trois semaines. On a organisé 10 variantes expérimentales. Pour chacune d'elles on a utilisé un lot de 4 exemplaires.

Les prises de sang ont été faites par ponction cardiaque, avant et 2, 5, 24, 48, 72 et 96 heures après l'administration du galactose.

Le galactose (d-galactose Merck) a été introduit directement dans l'intestin, à l'aide d'une sonde. On a utilisé une solution aqueuse à une concentration de 10 %. La dose administrée a été de 1 g/kg.

L'insuline (Biofarm, produit roumain) a été injectée dans la masse musculaire de la paroi du corps. Les doses utilisées ont été de 5 et de 10 u.i. En certains cas, l'hormone a été injectée immédiatement avant ou après l'administration du galactose, et en d'autres cas, 3, 5, 12 et 24 heures avant celle-ci. Aux carpes du lot témoin (VIII) on a injecté un volume égal de NaCl à 6,5%.

La galactosémie a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre (Zeiss), dans la bande de 720 m μ , après une fermentation à la levure de bière à + 37°C. On a également dosé l'ensemble des substances réductrices du sang selon la méthode de Hagedorn-Jensen.

RÉSULTATS

Les variations de la concentration des substances réductrices du sang sous l'influence du galactose et de l'insuline sont représentées dans la figure 1. Les valeurs expriment les pourcentages des déviations produites par rapport au taux initial (= 100).

L'analyse de ces résultats montre que dans nos conditions expérimentales le galactose est absorbé assez vite (v. lot I); il atteint un maximum de concentration dans le sang après 6 heures, pour revenir ensuite aux valeurs des témoins après 24 heures. Après 96 heures on remarque une légère diminution de la galactosémie au-dessous de la valeur initiale du taux des substances réductrices totales (SRT). Il s'agit apparemment d'une mobilisation insulinique sous l'action d'une hypersucrémie.

L'administration du galactose et de l'insuline presque simultanément a provoqué (lots II et III) des effets proportionnels à la dose d'insuline utilisée. Sous l'influence de l'hormone, le taux des SRT est plus faible et le retour aux valeurs initiales est plus rapide que chez les carpes non insulinités. L'effet est encore plus manifeste chez les carpes traitées à l'insuline quelques heures auparavant. On voit, par exemple, que, deux heures après l'administration du galactose, le taux des SRT se maintient encore au-dessous du niveau initial; cinq heures après, la concentration augmente un peu, pour rester à ce niveau pendant 24 heures et retomber ensuite à une valeur négative.

La même dose d'insuline, injectée 6, 12 et 24 heures avant le galactose, provoque des effets différents (v. lots V, VI et VII). On constate surtout une plus forte influence de l'hormone dans les premières 24 heures.

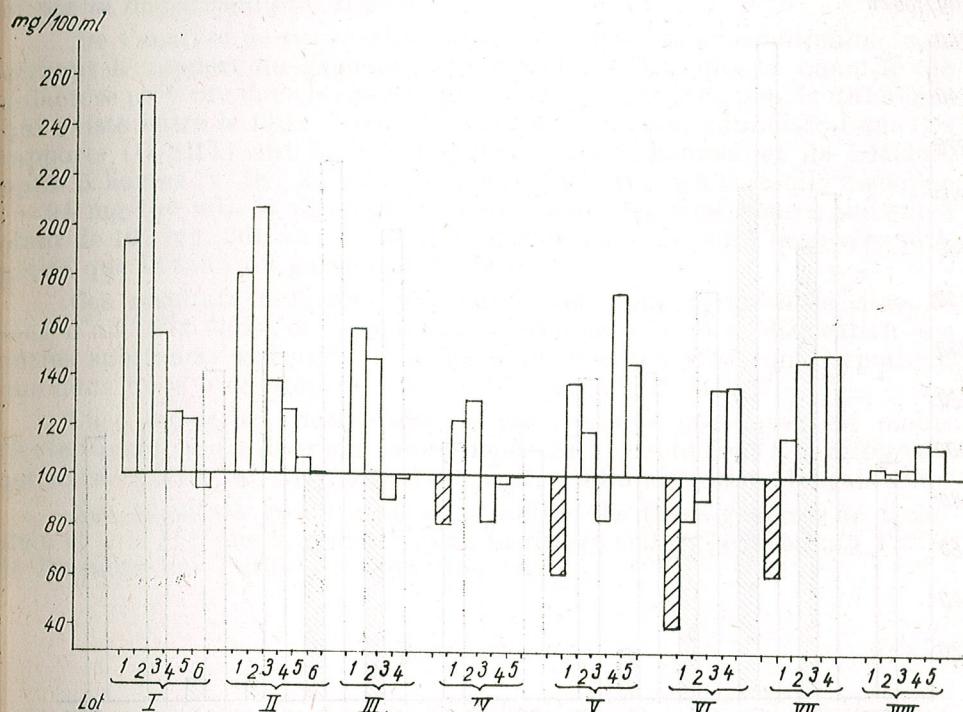


Fig. 1. — Influence de l'insuline sur la galactosémie provoquée I—VII, lots expérimentaux; VIII, lot témoin. Toutes les carpes des lots expérimentaux ont reçu du galactose, 1 g/kg. Aux individus des lots II et III on a administré simultanément de l'insuline : 5 (II) et 10 (III) u.i./kg. Les lots IV—VII ont reçu l'insuline (10 u.i./kg) 3 (IV), 6 (V), 12 (VI) ou bien 24 (VII) heures avant le galactose.

Les colonnes représentent le taux global des substances réductrices, exprimé en mg/100 ml de sang, aux différents intervalles de temps après l'administration du galactose : 1, 2 h; 2, 5 h; 3, 24 h; 4, 48 h; 5, 72 h; 6, 96 h.

après l'administration du galactose, période durant laquelle le taux des SRT reste négatif, malgré, sa tendance à revenir à la valeur normale et d'augmenter ensuite, lorsque l'insuline est déjà inactivée.

DISCUSSIONS

Nos résultats expérimentaux montrent donc que le galactose est rapidement absorbé au niveau de l'intestin de la Carpe et que, en conséquence il se produit une augmentation considérable de la concentration des substances réductrices totales (SRT) du sang. On a constaté également que l'insuline exerce une profonde influence sur ces phénomènes.

L'interprétation de ces faits soulève un certain nombre de questions concernant le métabolisme du galactose. Arrivé-t-il dans le sang non transformé ? Est-il converti en glucose au cours de l'absorption ou pendant la

mg/100 ml

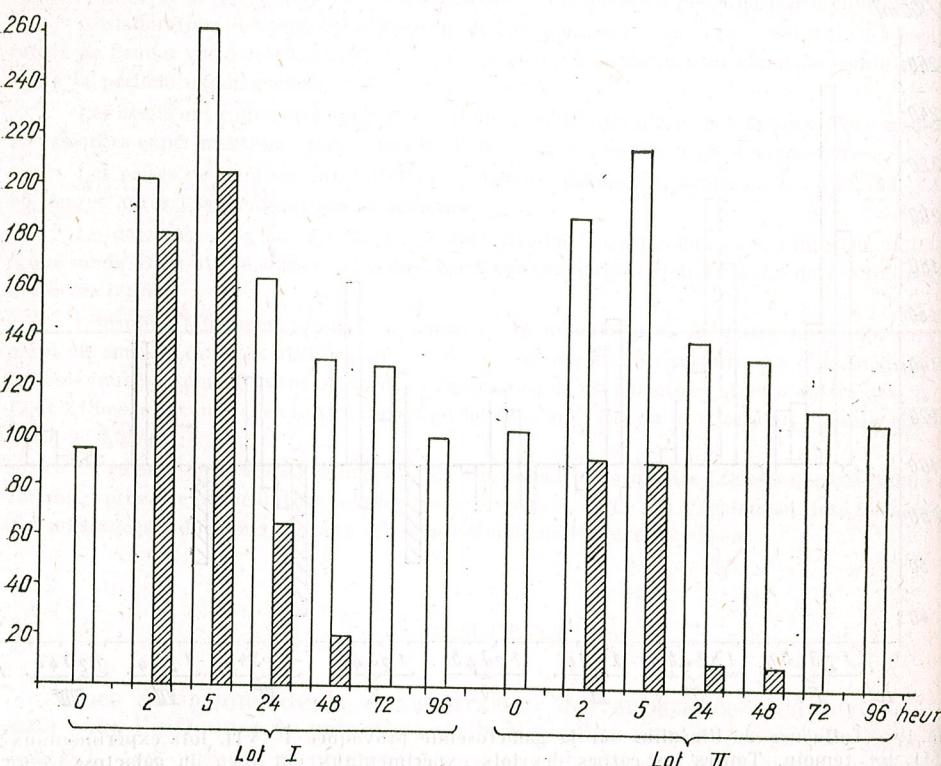


Fig. 2. — La galactosémie ■ et le taux des substances réductrices totales (SRT) □ après l'administration du galactose (1 g/kg) aux individus du lot I et après l'administration concomitante du galactose (1 g/kg) et de l'insuline (5 u.i./kg) aux carpes du lot II, à différents intervalles de temps.

Les colonnes représentent la concentration en mg/100 ml de sang.

circulation ? Quel est le taux du galactose dans l'ensemble des SRT présentes dans le sang ?

L'éclaircissement de ces questions réclame des recherches multiples et complexes. Dans une première étape nous avons dosé chez deux lots expérimentaux de carpes, d'une part le taux des SRT et d'autre part celui du galactose. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 2.

En comparant les valeurs obtenues après le même laps de temps, on a constaté un certain parallélisme entre les concentrations du galactose et des SRT. Une grande quantité de galactose est présente dans le sang dès les premières heures après son administration mais sa concentration diminue assez vite, tombant à un tiers après 24 heures et disparaissant intégralement après 48 heures, tandis que le taux des SRT reste encore assez élevé.

Chez les carpes insulinitées (5 u.i./kg), les phénomènes se déroulent de la même manière, certaines différences d'ordre quantitatif indiquant pourtant une intervention de l'hormone dans l'utilisation du galactose (mise en évidence par une concentration moindre dans les premières heures et par sa disparition plus rapide).

De l'analyse de ces résultats ressort un fait très remarquable concernant le rapport du galactose aux SRT : c'est que la quantité de galactose présente dans le sang est beaucoup plus grande que la différence qui existe entre le taux des SRT avant et après son administration. Ces rapports (G/SRT) ont été de 180/201, après 2 heures, et de 204/261, après 5 heures (v. fig. 2, lot I). Or, si le taux des SRT restait inchangé (= 94 mg/100 ml), la différence atteinte après les trois heures suivantes étant de 107 mg (201 - 94 = 107), il s'ensuit que celle-ci est beaucoup plus petite que le taux du galactose (= 180).

Ces résultats montrent par conséquent que la présence dans le sang d'un taux élevé de galactose a déterminé une forte dislocation des autres substances réductrices (surtout du glucose). C'est une hypothèse que nous nous proposons de vérifier dans un autre travail.

Chez les carpes insulinitées, la galactosémie provoquée est moins élevée, ayant une valeur qui correspond assez exactement à la différence qui existe entre les SRT avant et après l'administration du galactose.

Nos résultats confirment donc autant la thèse générale de Goldstein et coll. [1], que la conclusion de Levine et coll. [2] concernant l'effet de l'insuline sur l'utilisation du galactose.

CONCLUSIONS

De l'ensemble des expériences exposées dans ce travail résultent les conclusions suivantes :

1. Le galactose administré chez la Carpe par voie intestinale est rapidement absorbé et métabolisé.
2. Une insulinitation préalable détermine une galactosémie moins forte. L'effet maximum a été obtenu avec la dose de 10 u.i. injectée trois heures avant l'administration du galactose. Dans ces conditions l'insuline provoque un raccourcissement de l'effet galactosémique.
3. Une galactosémie massive provoque une diminution considérable de la glycémie.

BIBLIOGRAPHIE

- GOLDSTEIN M. S., HENRY W. L., HUDDLESTUN B., LEVINE R., Amer. J. Physiol., 1953, **173**, 207-211.
 LEVINE R., GOLDSTEIN M., KLEIN S., HUDDLESTUN B., J. Biol. Chem., 1949, **179**, 985-986.
 SANTA N., MOTELICA I., Rev. Roum. Biol. — Zoologie, 1967, **18**, 2.



CONTRIBUTIONS TO THE STUDY OF THE ENERGETIC METABOLISM OF MOLLUSCA*

BY

C. A. PICOȘ and M. CUCERZAN

Les recherches des auteurs concernant différents aspects des échanges respiratoires chez *Anodonta piscinalis* L. ont mené aux conclusions suivantes.

1. Entre 18° et 20°C, les moules étudiés consomment en moyenne 7,46 ml O₂ et dégagent 10,72 ml CO₂/kg/h.
2. Les valeurs des échanges respiratoires consécutifs à des périodes d'anoxibiose (10—180 min) ne dépendent pas de leur durée.
3. La thiourée introduite dans l'eau en proportion de 0,05 % provoque une augmentation prononcée de la consommation d'oxygène.

INTRODUCTION

The energetic metabolism of mollusca has generally been little studied, so that some problems in connection with it have not been fully elucidated, while others have not even been tackled.

Some of the earliest investigations on representatives of this group of invertebrates were made in 1877 by *Joliet* and *Regnard* [3], who determined the respiratory exchanges in *Octopus vulgaris* and *Mytilus edulis*.

Subsequently, various aspects of the energetic metabolism in certain species of mollusca have been studied by a series of investigators, some of which are well known: *Vernon* (1895) [8], *Thunberg* (1905) [7], *Parnas* (1910) [5], and others.

From the investigations made on *Anodonta*, employed in our experiments, we mention, in the first place those made in 1918 by *Weinland* [9], which offer interesting data regarding the dependence of respiratory exchanges of this species upon different conditions (inanition, nutrition, etc.).

In 1946, *Graevski* [2] established the thermic optimum in *Anodonta* and other sweet water mollusca, determining their respiratory exchanges.

More recently (1961), certain aspects of the energetic metabolism of the *Anodontae* have likewise been investigated by *N. Botnariuc*, *A. Negrea* and *C. A. Picos* [1], who contested, among other things, that

* Work presented at the First Session of Animal Physiology (Cluj, 25—28 May 1965).

oxygen consumption of animals with glochidia was much higher than that of animals without glochidia.

Determining the existence of certain lacunae and incertitudes in knowledge accumulated to-date in connection with the energetic metabolism of mollusca, we proposed to carry out certain investigations this direction, the first results of which form the object of this paper.

MATERIAL AND WORKING METHOD

We experimented in winter and spring months, on specimens belonging to species *A. dentata piscinalis* L., in a dormant state, conditioned by a long period of inactivity.

The determination of the gaseous exchanges was made by using closed respiratory chambers and Winkler's methods for the dosing of oxygen and carbon dioxide.

The objects of our investigations were the following:

1. to determine the O_2 consumed, the CO_2 released and the respiratory quotient (Q.R.) in normal conditions and after different time intervals (10–180 minutes) of anoxia, achieved by taking the animals out of water;
 2. to determine the O_2 consumption of anodontae after different time intervals (3 hours to 15 days), from their introduction into water with 0.05 g % thiourea;
 3. to determine the post-action of thiourea in a control lot and in an experimental lot.

EXPERIMENTAL RESULTS

The values of the oxygen consumed, of the carbon dioxide release and of the respiratory quotient obtained in 14 specimens, first in norm conditions and then after different periods of anoxibiosis are presented in table 1.

Table 1
Respiratory exchanges in *Anodonta piscinalis* L. in normal conditions and after different anoxibiosis periods

Specimen	Weight (g)	Water temperature in °C	RESPIRATORY EXCHANGES						Duration of anoxibiosis minutes	
			In normal conditions			Subsequent to anoxibiosis				
			O ₂ (ml/kg/hr)	CO ₂ (ml/kg/hr)	Q.R.	O ₂ (ml/kg/hr)	CO ₂ (ml/kg/hr)	Q.R.		
1	27.43	18.5	10.93	13.56	1.24	2.55	0	0		
2	30.93	18.5	10.66	16.16	1.51	5.49	9.47	1.72	10	
3	35.22	19.8	1.02	1.27	1.24	14.91	33.39	2.35	20	
4	28.98	19.4	0.13	1.03	7.92	1.96	0	0	30	
5	15.65	19.4	5.43	14.12	2.60	0	0	0	40	
6	50.28	18.6	7.04	12.13	1.72	9.16	10.52	1.14	50	
7	39.43	18.0	7.86	10.37	1.31	9.15	4.61	0.50	60	
8	36.50	18.0	7.34	12.87	1.75	0.98	5.83	5.94	70	
9	34.85	18.9	4.59	10.61	2.31	4.30	15.66	3.64	80	
10	58.85	20.7	9.68	9.34	0.96	6.62	10.36	1.56	90	
11	54.15	20.9	4.06	5.53	1.31	6.83	17.54	2.56	100	
12	43.30	19.7	9.93	7.85	0.79	7.62	12.70	1.66	110	
13	52.75	22.9	11.75	14.21	1.20	0.18	1.59	8.80	120	
14	23.98	22.9	2.41	2.16	0.89	35.86	5.85	0.16	150	
AVERAGES			7.64	10.72	1.46				180	

Table 2

LOTS	Weight of the lot (g)	O_2 con- sumption in normal conditions (ml/kg/hr)	Variations in time of O_2 consumption (in ml/kg/hr) under the action of 0.05% thiourea									
			3 hrs	6 hrs	9 hrs	12 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs	120 hrs	146 hrs
I	71.35	11.62*	25.22	26.12	21.52	28.46	25.52	20.28	22.48	24.06	39.10	28.88
	Percentual deviations as against the normal	+117.03	+124.78	+85.19	+144.92	+119.62	+74.52	+93.45	+107.05	+236.48	+148.53	
II	76.05	7.04**	26.0	20.24	32.68	31.02	46.52	22.48	29.98	28.24	22.92	34.46
	Percentual deviations as against the normal	+269.31	+187.5	+364.2	+340.62	+560.79	+219.31	+325.85	+301.13	+225.56	+389.48	

An average from 5 determinations.

An average from 5 determinations.

Table 3

O_2 consumption in two lots of two specimens each of *Anodonta piscinalis* L., of which one kept in water thiourea and another kept in water with 0.05 g % thiourea (temperature = 20°C)

LOTS	Weight of the lot (g)	O_2 consumption in normal conditions (ml/kg/hr)	Variations in time of O_2 consumption (in ml/kg) of the lot treated with thiourea (0.05%) as compared with the control lot			
			3 days	6 days	9 days	15 days
CONTROL	85.05	14.7*	23.84	10.68	15.82	9.1
	Percentual deviations as against the normal	+ 62.17	- 27.34	+ 7.61	- 36.1	
EXPERIMENTAL	112.60	4.93*	19.46	21.22	21.4	15.1
	Percentual deviations as against the normal	+ 294.72	+ 330.42	+ 334.07	+ 220.0	

* Averages from two determinations.

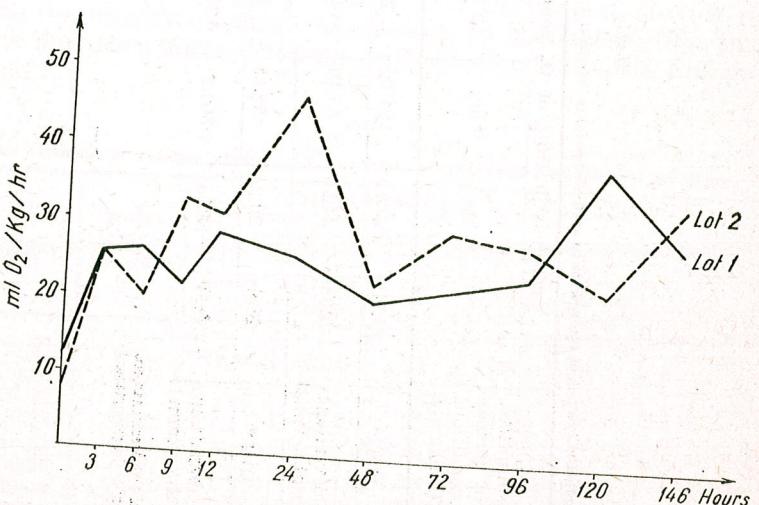


Fig. 1. — The action of thiourea upon O_2 consumption in *Anodonta piscinalis* L.

Time variations of oxygen consumption of anodontae kept in water with 0.05 g % thiourea are presented in tables 2 and 3, and in the graph of figures 1 and 2.

Finally, the post-action of thiourea may be followed on table 4 and on the graph of figure 3.

Table 4

The action and post-action of thiourea (0.05 g %) upon O_2 consumption of another lot comprising two specimens of *Anodonta piscinalis* L.

Weight of lot (in g)	Water temperature °C	O_2 consumption in normal conditions (ml/kg/hr)	O_2 consumption after 72 hours of life in water with thiourea	O_2 consumption (in ml/kg/hr) after different time intervals after being taken out of the water with thiourea		
				22 hrs	24 hrs	47 hrs
33.8	21	7.35*	18.0	12.1	12.1	5.71
Percentual deviations as against initial value		+ 144.89	+ 64.62	+ 64.62	+ 22.31	

* Average computed from 5 values.

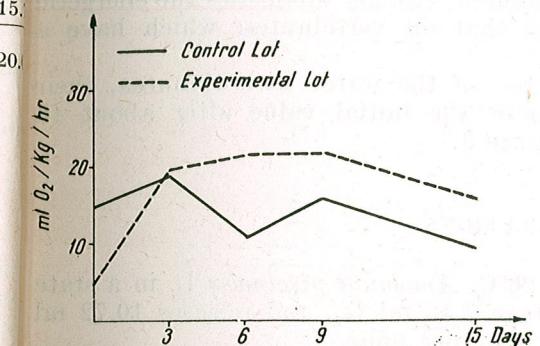


Fig. 2. — Oxygen consumption of a lot of *Anodonta piscinalis* L. kept in water with thiourea (0.05g %) in comparison with that of a control lot (not treated with thiourea).

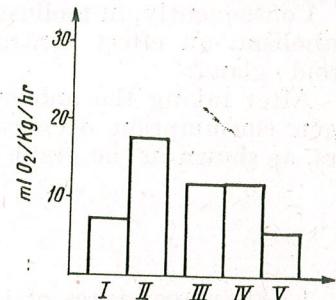


Fig. 3. — Action and post-action of thiourea in *Anodonta piscinalis* L.: initial O_2 consumption (I); O_2 consumption after 72 hours of action of thiourea (II); O_2 consumption after 22 hours (III), after 24 hours (IV) and after 47 hours (V) from the cessation of thiourea action.

DISCUSSION OF RESULTS

The results of the experiments carried out by us on anodontae enable us to ascertain the following facts.

In the first place, in these animals the respiratory exchanges have a low level and register great individual variations, probably conditioned by the following facts: 1) the passing of certain specimens (sp. 3 and 4) to the state of anoxibiosis, even in the presence of oxygen; 2) the higher or lower concentration of gas in the paleal cavity fluid during the experiment. The released carbon dioxide increases usually more than the oxygen consumed, so that the values of the respiratory quotient are generally supraunitary, a fact which, as indicated in scientific literature [4], [6] is characteristic of invertebrates.

Another fact which renders the results of our experiments evident is that there is no inversely proportional relationship between the size of the animal and the intensity of the respiratory exchanges computed per weight unit.

As regards the post-action of anoxibiosis on respiratory exchange it is found that it does not depend on its duration (in the framework of the investigated time intervals), and that it is manifested very differently in different animals. Thus in some, both the O_2 consumed and the CO_2 released registered a decrease, sometimes up to zero (specimen 5), others both the O_2 and CO_2 increased, and finally, in other specimens the increase in only one of these gases was ascertained, accompanied by a decrease in the other. This diversity in the effects of anoxibiosis suggests a great complexity of metabolic processes in anodontae.

The analysis of the data in tables 2 and 3, as well as of the graph based on them (Figs. 1 and 2), enable us to establish that in the lot of anodontae kept in water with 0.05 g % thiourea, after all the investigated time intervals (3 hours to 15 days), very considerable increases in oxygen consumption are registered, which in most cases vary between more than 100 % to more than 300 %.

Consequently, in mollusca, thiourea strongly intensifies the energetic metabolism, an effect contrary to that on vertebrates, which have thyroid gland.

After taking the anodontae out of the water with thiourea, their oxygen consumption decreases below the initial value after about 48 hours, as shown in the graph of figure 3.

CONCLUSIONS

1. At temperatures of 18 to 20°C, *Anodonta piscinalis* L. in a state of dormancy consumes on an average 7.46 ml O_2 , and releases 10.72 ml CO_2 per kg of total body weight, and per hour.
2. The values of the respiratory quotient are in most cases supramaximal.
3. There is no inversely proportional relationship between the size of the animal and the oxygen consumption, computed per weight unit.
4. The absorption of O_2 and the release of CO_2 , consecutive to a period of anoxibiosis varying between 10 and 180 minutes, are not dependent on their duration.
5. The anodontae kept in water with 0.05 g % thiourea react by a marked increase (sometimes above 300 %) of the oxygen consumption, which is manifested even after the first 3 hours, and is found even after 15 days.
6. In anodontae kept for 72 hours in water with 0.05 g % thiourea, and then introduced into clean water, the hypermetabolic effect of the substance is annulled after about 48 hours.

REFERENCES

1. BOTNARIUC N., NEGREA A., Picos C. A., St. cerc. biol. anim., 1961, **13**, 1, 93.
2. ГРАЕВСКИЙ Е. И., Журн. общ. биол., 1946, **7**, 6.
3. JOLIET F., REGNARD P., Archives de Physiologie normale et pathologique, Deuxième série, 1877, **4**, 584.

Bucharest University
The Laboratory of Animal Physiology

L'INFLUENCE DU RAPPORT K/Ca SUR L'EXCITABILITÉ
DES INTÉROCEPTEURS INTESTINAUX *

PAR

V. PINTEA, N. CRISTA, E. PORA, MEMBRE DE L'ACADEMIE

Chez 20 chiens on a effectué la perfusion d'une anse jéjunale isolée (les liaisons nerveuses étant conservées), avec du sérum de Tyrode normal et avec du sérum de Tyrode aux rapports ioniques modifiés : K^+/Ca^{++} quatre fois augmentés respectivement quatre fois diminués, mais tout en conservant l'osmolarité. Sur ces différents fonds de perfusion on a injecté 20 à 40 µg acétylcholine, inscrivant les modifications de la pression artérielle et de la respiration. Durant la perfusion avec le sérum contenant quatre fois plus de potassium, l'excitation des intérocepteurs avec l'acétylcholine a produit une hausse de la pression artérielle, supérieure à celle produite pendant la perfusion avec le sérum normal. Durant la perfusion avec le sérum dont le calcium est augmenté quatre fois, l'acétylcholine est sans effet presseur. Les modifications de la respiration sont inconstantes : bradypnée ou tachypnée.

La modification locale de la rapie est suivie donc par des modifications de l'excitabilité des intérocepteurs intestinaux.

L'établissement de l'état d'excitation et les modifications de celle-ci dépendent du déplacement des ions à travers la membrane limitante des formations excitables. Le neurone, ses prolongements et ses terminaisons réceptrices ou effectrices et les jonctions entre les prolongements du neurone sont le support morphologique des plus sensibles formations excitables. A partir des expériences de Loeb (1907), de nombreuses recherches ont été entreprises concernant l'effet des ions sur les tissus nerveux. Pora (1958) [8] introduit la notion de « rapie », qui définit la nécessité d'équilibre entre les ions aux fonctions antagonistes pour l'activité normale des organismes.

Dans ce travail on étudie la modification de l'excitabilité des intérocepteurs intestinaux en fonction de la rapie. Tout en reconnaissant la complexité du problème de l'excitabilité, la mesure directe des potentiels électriques en repos et pendant l'excitation correspondent pourtant suffisamment aux valeurs obtenues par calculs d'après l'équation proposée par Goldmann (1943) :

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{PK^+ + [Ki^+] + PNa + [Na^{+i}] + PCl - [Cl^{-e}]}{PK + [K^{+e}] + PNa^+[Na^{+e}] + PCl^-[Cl^{-i}]}$$

* Travail présenté à la Première Session de Physiologie animale (Cluj, 25-28 mai 1965).

Pour cette raison, dans la situation actuelle des recherches sur l'excitabilité et ses modifications, l'étude de l'influence des ions K^+ , Na^+ , Cl^- et leur passage par une membrane est dans le centre de l'attention. Le rôle de cations Ca^{++} , Mg^{++} et Ba^{++} dans les processus biophysiques de l'excitation est plus complexe et n'est pas encore connu dans une telle mesure pour être systématisé dans une expression mathématique (v. Murralt, 1958 [5], Shanes, 1958 [9], Ehrenpreis [2], 1964).

Dans la propagation trans-synaptique inter-neuronale et neuromusculaire, le rôle médiateur des « quanta » d'acétylcholine est devenu une notion classique. Les résultats expérimentaux permettent, avec quelques réserves, d'étendre la médiation acétylcholinique aussi à la propagation de l'excitation dans les récepteurs (Jarett, 1956 [4], Paintal, 1957 [6], Gray et Diamond, 1957 [3]).

Dans notre modèle expérimental nous avons suivi les modifications de la pression artérielle et de la respiration provoquées par réflexe après injection d'acétylcholine dans le liquide de perfusion d'une anse intestinale isolée aux liaisons nerveuses conservées. Le rapport K^+/Ca^{++} du serum de perfusion de "Ringer-Tyrode", tout en conservant son osmolarité, a été augmenté, respectivement réduit par rapport au serum normal.

MÉTHODE DE TRAVAIL

Pour la perfusion d'une anse jéjunale, chez 20 chiens anesthésiés à l'uréthane, nous avons utilisé la méthode de Tchernigovsky. La pression artérielle a été enregistrée avec un manomètre à mercure, la respiration, en utilisant le flux de l'air dans une canule trachéale. L'excitation des

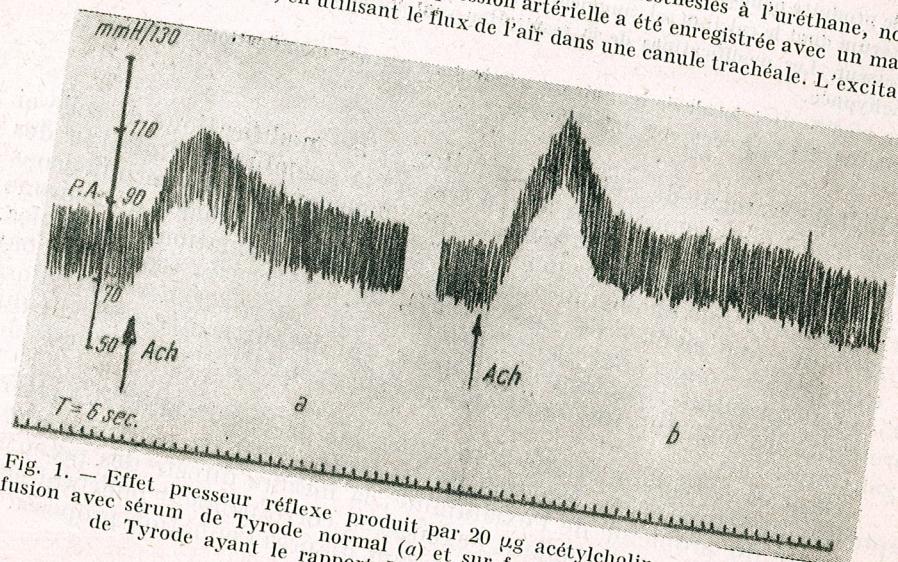


Fig. 1. — Effet presseur réflexe produit par 20 µg acétylcholine, sur fond de perfusion avec serum de Tyrode normal (a) et sur fond de perfusion avec du serum de Tyrode ayant le rapport K^+/Ca^{++} augmenté quatre fois (b).

intérocepteurs intestinaux a été réalisée avec 20 ou 40 µg d'acétylcholine introduits dans le liquide de perfusion. L'effet hypertenseur réflexe à l'acétylcholine a été étudié pour le serum de Ringer-Tyrode avec le rapport K^+/Ca^{++} normal (effet de référence) et avec le rapport K^+/Ca^{++} augmenté, respectivement diminué quatre fois. Les modifications réflexes de la pression pro-

duites par l'acétylcholine, sur le fond de perfusion avec les rapports ioniques changés, ont été exprimées en pour-cent de l'effet de référence pour chaque individu. La composition du serum de Ringer-Tyrode normal en comparaison avec le serum dans lequel le rapport K^+/Ca^{++} avait

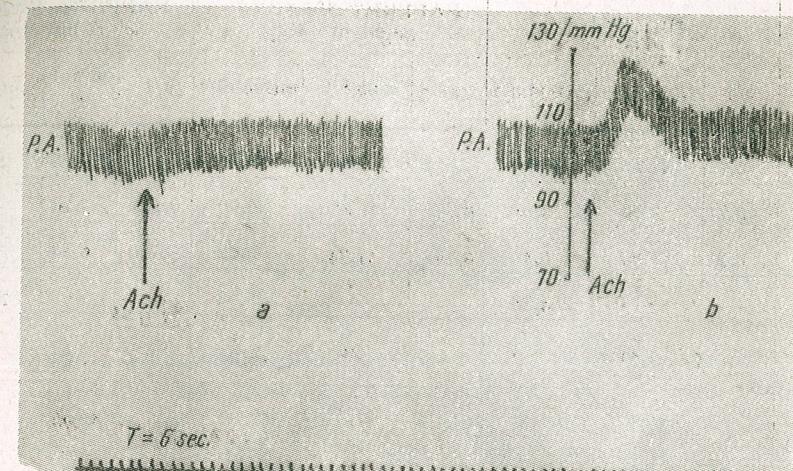


Fig. 2. — Absence de l'effet presseur acétylcholinique sur fond de perfusion avec du serum de Tyrode normal (a) et apparition du réflexe sur fond de perfusion avec du serum de Tyrode ayant le rapport K^+/Ca^{++} augmenté quatre fois.

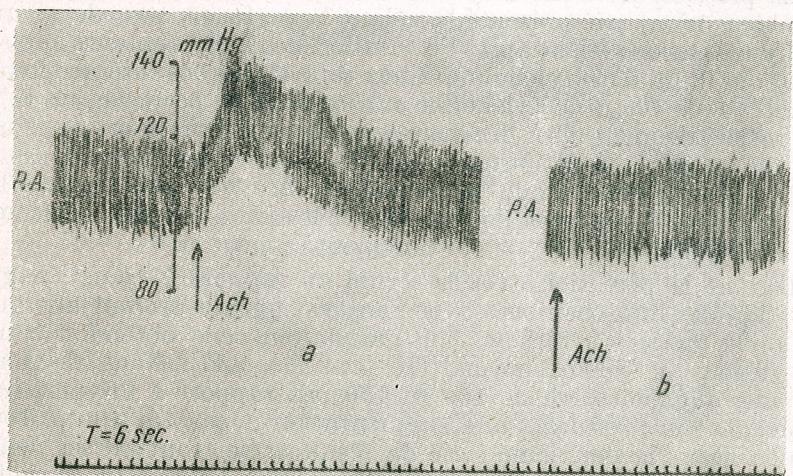


Fig. 3. — Présence de l'effet presseur acétylcholinique sur fond de perfusion avec du serum de Tyrode normal (a) et sa disparition sur fond de perfusion avec du serum de Tyrode ayant le rapport K^+/Ca^{++} diminué quatre fois (b).

été augmentée respectivement diminuée quatre fois, aussi bien que la valeur des rapports K^+/Ca^{++} et Na^+/K^+ sont donnés dans le tableau 1. L'osmolarité des trois sortes de serum est sensiblement la même.

Des expériences similaires aux nôtres ont été faites par Dzidziguri et Lebedeva (1961) [1] qui ont excité les intérocepteurs intestinaux avec KCl et $CaCl_2$.

Tableau 1
Composition du sérum de Ringer-Tyrode utilisé pour la perfusion (on indique seulement les chlorures)
et les rapports K^+/Ca^{++} et Na^+/K^+

Spécification :	NORMAL			RAPPORT K^+/Ca^{++} augmenté 4 ×			RAPPORT K^+/Ca^{++} réduit 4 ×		
	g/1	mMol/1	mOsMol/1	g/1	mMol/1	mOsMol/1	g/1	mMol/1	mOsMol/1
NaCl	8	137,71	263,20	7,018	120,06	240,16	6,895	117,96	235,92
KCl	0,2	2,82	5,64	0,778	10,45	20,90	0,191	2,56	5,12
CaCl ₂	0,2	1,80	5,40	0,193	1,74	5,22	0,760	6,84	20,52
Total	—	—	264,24	—	—	265,28	—	—	261,56
K^+/Ca^{++} (mEq/1)		1,47			6,5			0,37	
Na^+/K^+ (mEq/1)		53,67			11,41			46,03	

RÉSULTATS

La pression artérielle moyenne du lot a été de $117,5 \pm 5,7$ mm Hg. Deux chiens n'ont pas présenté, pendant la perfusion avec le sérum normal, l'hypertension réflexe après l'excitation des intérocepteurs intestinaux avec 20 ou 40 µg d'acétylcholine. Chez sept chiens les intérocepteurs ont été excités avec 40 µg acétylcholine sur un fond de perfusion de $K^+/Ca^{++} = 6,5$ respectivement 0,37. En comparaison avec le rapport K^+/Ca^{++} du sérum de Ringer-Tyrode normal — 1,47 — le premier rapport est quatre fois plus grand, tandis que le second, quatre fois plus petit. Chez 13 chiens on a utilisé, à part la perfusion avec le sérum normal, seulement du sérum au rapport $K^+/Ca^{++} = 6,5$ (augmenté quatre fois).

Durant la perfusion avec le sérum au rapport K^+/Ca^{++} augmenté, l'excitation des intérocepteurs avec l'acétylcholine a produit une augmentation de la pression artérielle plus grande que celle obtenue sur un fond de perfusion au sérum normal ($K^+/Ca^{++} = 1,47$). Neuf résultats ont révélé une augmentation de 100 p. 100 par rapport à l'hypertension de référence, et onze résultats une augmentation dépassant 100 p. 100 de la référence. Dans la deuxième série de résultats se trouvent les deux individus chez lesquels on n'a pas obtenu l'hypertension réflexe sur le fond de perfusion au sérum normal. Dans le premier groupe de résultats, l'hypertension a été de $33 \pm 5,5$ p. 100 plus élevée que l'hypertension de référence, tandis que dans le deuxième groupe, l'élévation tensionnelle a été de $103 \pm 9,6$ p. 100 plus grande que la référence.

Durant la perfusion avec le sérum ayant le rapport $K^+/Ca^{++} = 0,37$ (diminué quatre fois), l'excitation des intérocepteurs intestinaux à l'acétylcholine n'a pas changé la pression artérielle normale dans cinq cas et a produit un changement de —2 mm Hg dans deux cas.

L'hypertension réflexe est accompagnée soit de l'augmentation prononcée des amplitudes de la respiration et de tachypnée, soit de la réduction des amplitudes et de bradypnée. Entre la grandeur de l'hypertension et les modifications de la respiration on n'a pu établir aucune correspondance.

DISCUSSIONS

Dans leurs expériences, Dzidziguri et Lebedeva (1961) ont obtenu l'hypertension réflexe en injectant dans le liquide de perfusion d'une anse isolée d'intestin une solution de K Cl, modifiant ainsi l'osmolarité. Dans nos expériences l'osmolarité n'a pas été modifiée, ce qui a permis de suivre l'effet exclusif des modifications rapides sur les formations excitablestables.

L'hypertension consécutive à l'excitation des intérocepteurs de l'anse jéjunale à l'acétylcholine, prouve que la substance fait l'office de médiateur pour l'apparition de l'excitation, qui se transmet jusqu'aux neurones centraux qui commandent l'augmentation de la pression. Gray et Diamond (1957) [3] considèrent que la similitude des effets ne justifie pas l'assimilation du mécanisme de la médiation acétylcholinique des synapses inter-neuronales végétatives avec celui du niveau des récepteurs.

Acceptant l'hypothèse généralisatrice que l'acétylcholine a le même effet dépolarisant dans toutes les formations de l'arc réflexe et l'hypothèse de Nachmanson concernant la modification de la perméabilité des membranes des systèmes excitables par l'acétylcholine, dans le cas de la perfusion avec du sérum normal, l'hypertension réflexe est due à la dépolarisation des intérocepteurs. Durant la perfusion avec le sérum ayant le rapport K^+/Ca^{++} augmenté, la perméabilité accrue par l'acétylcholine favorise la dépolarisation potassique, qui est « optimale » pour 10 m Eq/1 (Posternak et Voegeli, 1956 [7]) concentration réalisée aussi dans nos expériences (voir tableau 1). L'absence de l'hypertension réflexe à l'acétylcholine sur fond de perfusion au sérum normal dans deux cas, justifierait les réserves citées par Gray et Diamond, et permettrait la supposition que la perméabilisation réalisée n'est pas toujours suffisamment grande pour déterminer la redistribution des ions existants, pour l'établissement d'un potentiel d'action. L'augmentation de l'hypertension réflexe à l'acétylcholine durant la perfusion avec le sérum ayant un rapport K^+/Ca^{++} augmenté, est due à la sommation de l'action dépolarisante de l'acétylcholine et celle du potassium externe accru au niveau des intérocepteurs.

L'absence de l'hypertension réflexe à l'acétylcholine durant la perfusion avec le sérum ayant le rapport K^+/Ca^{++} diminué est due : à l'action compétitive imperméabilisante du calcium (voir Muralt, 1958 [5]) par rapport à l'action inverse de l'acétylcholine, mais aussi au rôle de stabilisateur du potentiel de membrane du calcium qui réduit le E_m réalisé par le potassium.

On peut donc conclure que la dépolarisation acétylcholinique des intérocepteurs n'a pas lieu, ou bien si elle se produit, elle ne se propage pas dans les fibres afférentes qui se trouvent dans les mêmes conditions

ioniques produites par la perfusion, défavorables à la propagation de l'excitation.

La perfusion de l'anse jéjunale avec le sérum ayant un rapport K^+/Ca^{++} accru, provoque dans le sang de la circulation systémique une rapide augmentation de la natrémie et une chute de la kaliémie (Pora et Crista, 1965). Les auteurs ont constaté que dans le sang artériel et veineux des vaisseaux cruraux, une minute après l'établissement de la perfusion des intérocepteurs intestinaux avec du sérum de Ringer-Tyrode ayant le rapport $K^+/Ca^{++} = 6,5$, la kaliémie se réduit de $0,16 \pm 0,04$ m Eq/l, respectivement de $0,19 \pm 0,04$ m Eq/l. La natrémie des deux prises parallèles s'accroît de $5,71 \pm 0,85$ m Eq/l, respectivement de $5,36 \pm 1,30$ m Eq/l. L'augmentation du Na^+ est un facteur dépolarisant modéré. L'excitation des intérocepteurs avec du sérum de Ringer-Tyrode ayant le rapport K^+/Ca^{++} augmenté, aboutissant au même résultat, à l'excitation générée dans les intérocepteurs s'ajoute l'état d'excitation générée dans les centres nerveux par l'augmentation réflexe du sodium. Nous considérons que le dédoublement de l'hypertension réflexe à l'acétylcholine, observée en 11 sur 20 cas, est due à la dépolarisation supplémentaire des intérocepteurs par le K_e^+ augmenté et à la dépolarisation du neurone par le Na_e^+ augmenté par voie réflexe.

La modification locale de la rapie par le déplacement du rapport K^+/Ca^{++} est accompagnée d'une modification réflexe de la rapie dans la circulation systémique, aboutissant à des distributions ioniques qui changent l'excitabilité normale.

CONCLUSIONS

Le rapport K^+/Ca^{++} du sérum de perfusion augmenté quatre fois en faveur du K^+ provoque l'accroissement de l'excitabilité des intérocepteurs envers l'acétylcholine. Le rapport K^+/Ca^{++} diminué quatre fois par augmentation du Ca^{++} , abolit l'excitabilité par l'acétylcholine. L'homéopathie est nécessaire pour une excitabilité intéroceptive normale.

BIBLIOGRAPHIE

- Дзидзидури А. Т., Лебедева А. В., *О действии калия и кальция на интроверцепторы тонкого кишечника*. Докл. АН СССР, 1961, **139**, 1, 238—241.
- EHRENPREIS SEYMOUR, *Acetylcholine and Nerv Activity*. Nature, 1964, **4922**, 887—893.
- GRAY J. A. B., DIAMOND J., *Pharmacological properties of sensory receptors and their relation to those of the autonomic nervous system*. Brit. med. Bull., 1957, **13**, 185—188.
- JARRETT A. S., *The effect of acetylcholine on touch receptors in frog's skin*. J. Physiol., 1956, **173**, 243—254.
- MURALT A., *Neue Ergebnisse der Nervenphysiologie*. Ed. Springer Göttingen, Hamburg, 1958.
- PAINTAL A. S., *The influence of certain chemical substance on the initiation on sensory discharges in pulmonary and gastric stretch receptors and atrial receptors*. J. Physiol., 1957, **135**, 485—510.
- POSTERNAK J., VOEGLI H., *Effets antagonistes du calcium et du potassium sur le nerf isolé de batracien*. Arch. Sci. Suisse, 1956, **9**, 2, 187—191.
- PORA A. E., *Considérations sur l'équilibre ionique chez les animaux. L'homéopathie*. J. Physiol., 1958, **50**, 462—464.
- SHANES M. A., *Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells. Part I*. The Pharmacol. Rev., 1958, **10**, 1, 59—153.

AVIS AUX AUTEURS

La « Revue Roumaine de Biologie — Série de Zoologie » publie des articles originaux d'un haut niveau scientifique de tous les domaines de la biologie animale : morphologie, physiologie, génétique, écologie, taxonomie, etc. Les sommaires des revues sont complétés par d'autres rubriques comme : 1. La vie scientifique, qui traite des manifestations scientifiques du domaine de la biologie: symposiums, conseils, etc. 2. Comptes rendus des travaux de spécialité parus en Roumanie.

Les auteurs sont priés d'envoyer leurs articles, notes et comptes rendus dactylographiés à double intervalle (31 lignes par page), en quatre exemplaires.

Les tableaux et l'explication des figures seront dactylographiés sur pages séparées et les diagrammes exécutés à l'encre de Chine noire, sur du papier calque.

Les tableaux et les illustrations seront numérotés avec des chiffres arabes. La répétition des mêmes données dans le texte, les tableaux et les graphiques sera évitée. Les références bibliographiques citées par ordre alphabétique des auteurs comporteront le nom de l'auteur, l'initiale, le titre de la revue, abrégé conformément aux usances internationales, l'année, le tome, le numéro, la page. Les travaux seront accompagnés d'un court résumé, de maximum 10 lignes. Les textes des travaux ne doivent pas dépasser 15 pages dactylographiées (y compris les tableaux, la bibliographie et l'explication des figures).

Les auteurs ont droit à 50 tirés à part gratuits.

La responsabilité concernant le contenu des articles revient exclusivement aux auteurs.

La correspondance relative aux manuscrits, à l'échange de publications, etc. sera adressée au Comité de rédaction, 296, Splaiul Independentei, Bucarest.