

## 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.

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 134—135, Bucarest, Roumanie, ou à ses représentants à l'étranger.

Les manuscrits, les livres et les revues proposés en échange, ainsi que toute correspondance seront envoyés à la rédaction :

296, Splaiul Independenței, Bucarest,  
Roumanie.

# REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

— SÉRIE DE ZOOLOGIE —

BIOL. INV. 93

TOME 12

1967

N° 4

## SOMMAIRE

WILHELM KARL KNECHTEL (1884—1967) . . . . .	211
PETRU BĂNĂRESCU, Notes on the genus <i>Erythroculter</i> Berg ( <i>Pisces</i> , <i>Cyprinidae</i> ), with description of a new subspecies . . . . .	215
I. E. FUHN, Observations concernant le polymorphisme génétique et la prolificité dans une population de <i>Lacerta agilis chersonensis</i> Andrz. . . . .	229
J. H. SABNIS, Anatomy and histology of the liver and gall bladder in <i>Natrix piscator piscator</i> (Schneider), <i>Reptilia: Ophidia</i> . . . . .	233
VICTORIA G. IUGA, La morphologie de l'apex abdominal chez les Hyménoptères symphytes orthandriques et strophandriques . . . . .	239
C. PRUNESCO, Le système génital femelle de l'ordre <i>Geophilomorpha</i> . . . . .	251
N. ȘANTA et R. MEȘTER, L'importance de l'équilibre osmotique pour l'activité des muscles lissés. . . . .	257
ISABELA POTOP, GEORGETA MREANĂ et C. NEACȘU, Variations de la phosphorylation oxydative chez certaines classes de vertébrés, sous l'influence de la thyroxine, de l'hydrocortisone et d'un extrait lipidique préparé du thymus . . . . .	263
Z. URAY, T. HOLAN, A. BOZAC and CORNELIA GHERMAN, The autohistoradiographic method in research on animal physiology . . . . .	269
D. PARASCHIVESCU, Experimentelle Forschungen über den Verlauf des Nestbaues bei der Gattung <i>Messor structor</i> Latr. ( <i>Hym. Formicidae</i> ) . . . . .	281
RADU CODREANU et DOINA BALCESCU, Sur trois dendrocélides aveugles nouveaux des sources du Banat (Roumanie) . . . . .	287

SOMMAIRE

WILHELM KARL KNECHTEL (1884-1967) 211

PETRU BĂNĂRSCU. Notes on the genus *Ephippium* (Diptera: Ephippidae) with description of a new subspecies 212

J. E. KUHN. Observations concernant le polymorphisme génétique et la production dans une population de *Loxia curvirostris* André 230

J. H. SĂBĂNĂ. Anatomy and histology of the liver and gall bladder in *Neotoma floridana* (Rodentia: Cricetidae) 233

VICTORIA C. HUGA. La morphologie de l'appareil abdominal chez les Hyménoptères scaphoïdes orthoptères et staphyliniformes 239

C. BRĂNĂSCU. Le système génital femelle de l'ordre des Hyménoptères 251

M. SĂNĂTA et R. MESTRE. L'importance de l'équilibre osmomotique pour l'activité des muscles lisses 257

ISABELLA POTOL, GEORGETA MĂRĂŢĂ et C. NEACĂŞU. Variations de la phénotypie oxydative chez certaines classes de vertébrés, sous l'influence de la thyroxine de l'hydrocortisone et d'un extrait lipidique préparé de l'œuf 263

Z. URAY, T. HOLTAN, A. BOZAC et CORNELIA GHERĂ. MAN. The autolysosomal method in research on animal physiology 269

D. PARĂSCHIVĂSCU. Experimentelle Forschungen über den Verlauf des Metabolismus bei der Gattung *Messor* (Hym. Formicidae) 281

RĂDU CODREANU, E. DOINA, BĂCĂRĂSCU, SĂRĂTOIU. Leucozooides: un nou tip de zooid sau de zooid de fund (Formicidae) 287

die weitere Arbeiten, die immer mehr zur Erweiterung der Kenntnisse über landwirtschaftliche Schädlinge beitragen und die entomologische Fauna Rumäniens weitgehend bekannt machen. Knechtel hat somit in seinen über 120 in Rumänien und im Ausland veröffentlichten Originalarbeiten ein besonders wertvolles, wissenschaftliches Werk hinterlassen. Seine Forschungsergebnisse sind auf Taxonomie, Zoogeographie, Biologie, Vegetation und Ökologie. Unter diesen befinden sich auch Monographien, wie z.B. seine 1957 vorgelegte Doktorarbeit über den Gebiet der Agrarwissenschaften sowie die Arbeit über die Tityanopteren Rumäniens, der er 1961 den Titel Dr. h. c. h. erhielt. In dem obengenannten Buch, das er 1964 veröffentlichte, sind die auch später das Biologische Institut erhaltenden Untersuchungen über die Ökologie der Wirtschaftstiere einbezogen.

WILHELM KARL KNECHTEL

(1884-1967)

Am 8. März 1967 ist in Bukarest Akademiker W. K. Knechtel, eine bedeutende Persönlichkeit auf dem Gebiete der Entomologie, aus dem Leben geschieden. Er war der Sohn des Professors Wilhelm Knechtel von der Landwirtschaftlichen Hochschule, Herăstrău. Nach Beendigung der Mittelschule in Bukarest, hat er an der Landwirtschaftlichen Hochschule in Stuttgart-Hohenheim studiert.

Seine langjährige Tätigkeit begann im Jahre 1907 unmittelbar nach Absolvierung der Landwirtschaftlichen Hochschule in Hohenheim (Deutschland). Er hatte der Reihe nach sowohl leitende Stellungen in der Verwaltung inne, als auch in pflanzen-pathologischen Forschungslaboratorien, wovon er selbst, einem dringenden Bedürfnis zufolge, in Rumänien mehrere gründete.

Seine wissenschaftliche Tätigkeit, die er über 60 Jahre lang ununterbrochen ausübte, war vorwiegend dem Pflanzenschutz gewidmet, wobei die Kenntnis und Bekämpfung der Schädlinge der Nutzpflanzen die Hauptrolle spielten. Noch vor dem ersten Weltkrieg, zu einer Zeit also, in der es in Rumänien nur sehr wenig Entomologen gab, hat er eine umfassende Tätigkeit auf diesem Gebiet ausgeübt. Als man an ihn herantrat, die Insektenforschung, insbesondere diejenige der Insektenschädlinge in Rumänien auszubauen, erfolgten seine ersten Untersuchungen auf dem Gebiet der Krankheiten und Schädlinge der Tabakpflanzen. Hierbei wandte er Arbeitsmethoden an, in denen er sich in der Zeit von 1912 bis 1914 vervollkommen hatte, als er von der Regie der Rumänischen Staatsmonopole ans Biologische Institut nach Berlin-Dahlem zur Spezialisierung geschickt worden war.

Nach der Gründung des Landwirtschaftlichen Forschungsinstitutes begann er sofort mit der Organisation und Leitung der entomologischen Abteilung. Gleichzeitig leitete er innerhalb der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität von 1921 bis 1944 die Abteilung für angewandte Entomologie des Laboratoriums für beschreibende Zoologie. Als Leiter von Forschungslaboratorien war er selbst ein leidenschaftlicher Forscher sowohl im Gelände als auch im Laboratorium. Schon nach seiner ersten, im Jahre 1909 erschienenen Arbeit über landwirtschaftliche Entomologie wurde er zum Mitarbeiter seines Vaters Wilhelm Knechtel, der gleichfalls Entomologe war; hierauf folgten stän-

dig weitere Arbeiten, die immer mehr zur Erweiterung der Kenntnisse über landwirtschaftliche Schädlinge beitrugen und die entomologische Fauna Rumäniens weitgehend bekannt machten. Knechtel hat somit in seinen über 120 in Rumänien und im Ausland veröffentlichten Originalarbeiten ein besonders wertvolles, wissenschaftliches Werk hinterlassen. Seine Forschungen erstrecken sich auf Taxonomie, Zoogeographie, Entwicklung, Variabilität und Ökologie. Unter diesen befinden sich auch Monographien, wie z.B. seine 1937 vorgelegte Doktorarbeit auf dem Gebiet der Agrarwissenschaft, sowie der Band über die Thysanopteren Rumäniens, der 1951 mit dem Staatspreis ausgezeichnet wurde. In dem ehemaligen biologischen Forschungszentrum der Akademie, aus dem später das Biologische Institut wurde, war er derjenige, der die auch heute noch fortdauernden Untersuchungen über die Ökologie der wirbellosen Tiere eingeleitet hat.

Seinen Weltruf als bedeutender Fachmann auf dem Gebiete der Entomologie haben seine Arbeiten über die Thysanopteren begründet. Diese weniger als 1 mm kleinen Insekten, worunter es viele Schädlinge gibt, waren in Rumänien noch völlig unerforscht, was Knechtel besonders anzog und anspornte und weshalb er ihnen den größten Teil seiner Lebensarbeit widmete. Auch an internationalen Entomologenkongressen, wie jenen von Ithaka, Montreal und Wien hat er sich mit seinen Arbeiten über die Thysanopteren beteiligt.

Die Geduld und Gründlichkeit seiner Untersuchungen im Gelände oder im Laboratorium, die peinliche Ordnung innerhalb seiner Arbeiten, die Sorgfalt und Aufmerksamkeit, mit denen er seine Präparate anfertigte und seine wissenschaftlichen Sammlungen zusammenstellte, sind allgemein bekannt und eindrucksvoll. Seine Sammlungen von Thysanopteren, Formiciden und anderen Insekten, die mustergültige Ordnung in seiner Bücherei der Abhandlungen und Auszüge, sind sämtlich für ein hohes wissenschaftliches Niveau beispielgebend.

Wilhelm Knechtel hat noch die Genugtuung erlebt, zu sehen, wie die Früchte seiner Forschungsarbeit praktische Anwendung fanden, der Weiterentwicklung der Entomologie dienten und sowohl von rumänischen und ausländischen Wissenschaftlern, als auch von der Partei- und Staatsleitung gewürdigt wurden. Für seine wissenschaftlichen Verdienste wurde er im Jahre 1955 zum ordentlichen Mitglied der Akademie gewählt, ferner mit dem Arbeitsverdienstorden I. Kl. und dem Stern der Republik I. Kl. ausgezeichnet. Desgleichen erhielt er die französische Auszeichnung „Le mérite agricole“.

Die hervorragendste Eigenart seines Benehmens war seine äußerste Bescheidenheit. So wie er selbst ein stiller Mensch war, duldete er keinen Lärm um sich. Er war stets zugänglich, milde und hatte erstaunlich viel Geduld und Einfühlungsvermögen, alles Eigenschaften eines hervorragenden Leiters und Erziehers, die ihn bei allen, die ihn kannten, beliebt gemacht haben. Naturwissenschaftler, die vom Studium der Insekten angezogen waren, kamen mit ihm in Berührung und viele von denen, die unter seiner Anleitung arbeiten durften, schätzten sich glücklich, sich Wilhelm Knechtels Schüler, nicht seine Mitarbeiter zu nennen. Er hatte bei seinen Forschungen großen Weitblick und seine gründliche

entomologische Vorbildung hat es ihm ermöglicht, stets an die Lösung theoretisch oder praktisch wichtiger Probleme heranzugehen.

Mit Wilhelm Knechtel ist ein hervorragender rumänischer Biologe dahingegangen, ein leidenschaftlicher Forscher und großer Liebhaber seiner rumänischen Heimat, ein Entomologe von Weltruf, dessen wissenschaftliches Werk längst jenseits der Grenzen des Landes bekannt ist. Die von ihm hinterlassene Sammlung von Thysanopteren ist eine der größten Europas.

Wilhelm Knechtel war das Beispiel eines Menschen, der sein ganzes Leben ausschließlich der Wissenschaft gewidmet hat.

M. A. IONESCU

NOTES ON THE GENUS *ERYTHROCUTLER*  
BERG (*PISCES, CYPRINIDAE*), WITH DESCRIPTION  
OF A NEW SUBSPECIES

BY  
PETRU BĂNĂRESCU

In spite of the fact that *Chanodichthys* Bleeker, 1859, has the priority over *Erythrocutler* Berg, 1909, the author considers that the last name, which is generally used, must be retained as nomen conservandum. He recognizes 5 species within *Erythrocutler*; *Culter recurvirostris* Sauvage is a subspecies of *E. illishaeformis*, *E. pseudobrevicauda* is a synonym of *E. il. recurvirostris* and *E. oxycephalus* a synonym of *E. dabryi*. A new subspecies is described: *E. hypselonotus daovantieni*. Eight type-specimens are figured.

The generic name *Erythrocutler* was proposed by L. S. Berg in 1909 for East Asian fishes formerly included in the genus *Culter* Basilewsky, 1855, but differing from *C. alburnus* in having a ventral keel only behind pelvics. Y. T. Chu [5] considers *Chanodichthys* Bleker, 1859, the right name for the species commonly ascribed to *Erythrocutler*, which becomes thus a synonym of the first-named genus. But the status of *Chanodichthys* is rather obscure. In describing this genus, Bleeker clearly indicates as type *Leptocephalus mongolicus* Basilewsky and gives later [4] a correct description and figure of the species identified by him as *L. mongolicus*; this is undoubtedly the species commonly named *Erythr. mongolicus* (Basilewsky). The specific name *mongolicus* was applied to this species firstly by L. S. Berg [1] who identified it not with *L. mongolicus* Basil., but with *Culter mong.* Basil. In the successive editions of "Ryby presnych vod", Berg identified *Lept. mongolicus* with a rather doubtful species, known after a single specimen (ZIAN 5572) which resembles more or less *Erythr. mongolicus*, but has bipartite airbladder, 81 scales in lateral line and no ventral keel. This specimen may be a hybrid.

In discussing the status of *Chanodichthys*, Chu [5] pointed out that Basilewsky mentioned, in the description of his *Lept. mongolicus* "vesica aerea longa, triloba"; this is an argument, that this species is an *Erythrocutler*. The fact that the species, identified by Bleeker as *Leptocephalus mongolicus* when he proposed it as genotype of *Chanodich-*

*thys* is the same as *Erythroculter mongolicus* of later authors, clearly designates it as type of *Chanodichthys*, may it be or not identical with Basilewsky's *Leptocephalus mongolicus*. Chu is therefore right in synonymizing *Erythroculter* with *Chanodichthys*. But because in the last 31 years no author used the name *Chanodichthys* in the same acceptance as Chu and all continued to use *Erythroculter*, it is preferable to retain the last-named as nomen conservandum and to reject *Chanodichthys* as nomen oblitum. A request will be made in this respect to the International Commission of Zoological Nomenclature.

Comprehensive studies on Chinese *Erythroculter* were published by J. T. Nichols [8], B. Yih & Tz. Chu [12] and H. W. Wu [11]. The first-named author recognizes 8 Chinese species. Yih & Chu synonymize one of it (*aokii*), and describe two new subspecies, whilst the last author puts one species (*wangi*) in an other new genus, *Ancherythroculter*, and recognizes a further species, *hypselonotus* (Bleeker) which was overlooked by his predecessors.

The examination of about 100 specimens, including 8 types, brought us to some nomenclatorial and taxonomical conclusions more or less different from those of the authors mentioned above. The specimens examined belong to the collections of following institutions: American Museum of Natural History, New York (AMNH), Academy of Natural Sciences in Philadelphia [ANSP], British Museum, Natural History (BMNH), Zoologisches Staatsinstitut und Museum in Hamburg (HZSml), Chicago Natural History Museum (CNHM), Institutul de Biologie "Tr. Săvulescu", Bucharest (IBTS), Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris (MNHN), Naturhistorisches Museum, Wien (NMW), Naturhistoriska Riksmuseet, Stockholm (NRMS), University of Michigan, Museum of Zoology (UMMZ), Zoologitcheskij Institut Akademii Nauk, Leningrad (ZIAN), Zoologisches Museum der Humboldt Universität, Berlin (ZMB), Zoologitcheskij Muzei Moskovskogo Universiteta (ZMMU).

#### SYSTEMATIC ACCOUNT

##### 1. *Erythroculter ilishaeformis ilishaeformis* (Bleeker, 1871)

— Pl. I, fig. 1, 2 —

Synonyms: (?) *Culter erythropterus* Basilewsky, 1855 (North China); *C. ilishaeformis* Bleeker, 1871 (Yangtze); *C. sieboldi* Dybowski, 1872 (Amur drainage); *C. erythropterus* Berg, 1909 (Amur dr.); *C. aokii* Oshima, 1919 (Taiwan); *Erythr. erythropterus* auct.

##### Specimens examined:

###### From Yangtze drainage:

- Type of *C. ilishaeformis*. MNHN 5055, Yangtze, 306.5 mm st. length (Pl. I, fig. 1).
- NMW 52782, Tungting lake, 1 spec., 190 mm.
- ZMB 16682, Tungting lake, 233.5 mm (determ. *C. alburnus*).
- ZMB 16683, Hankow, 314 mm (determ. *C. alburnus*).
- HZSml 12538, Shanghai, 124.5 mm (determ. *C. recurviceps*).

- BMNH 1888. 3. 23. 39—41, Kiu-kiang, 3 spec., 239—308 mm (determined *C. ilishaeformis*).
- MNHN 34.147—154, Szechwan, 8 spec., 126.5—246.0 mm.
- CNHM 43614, Szechwan, 265.0 mm.
- Liang-tze-hu lake, Hupeh, 2 spec., 109—159 mm, received from Dr. Hs. W. Wu.
- MNHN 3964, China (probably Yangtze), 207 mm.

###### From Chekiang:

- ZMB 11308, Ningpo, 470 mm (determ. *C. ilishaeformis*).
- ZMB 21619, Ningpo, 238 mm (determ. *C. ilishaeformis*).

###### From Fukien (Minkiang drainage):

- HZSml 11139, Fuchow, 2 spec., 197 & 232.5 mm (det. *C. recurviceps*).
- HZSml 10381, Fukien, 173 mm (determ. *C. recurviceps*).
- AMNH 10852, Yenping, Fukien, 167 mm (determ. *Erythr. aokii*).
- AMNH 10885, Fukien, 81.5 mm (determ. *Erythr. aokii*).

###### From Taiwan (Formosa):

- NMW 52792, lake Candidus, 124 mm (determ. *C. ilishaeformis*).

###### From Amur drainage:

- Type of *C. sieboldi* Dybowski, ZMB 7932, Chanka lake, 232 mm. (Pl. I, fig. 2).
- IBTS 922 (formerly ZMMU), Chanka lake, 97.5 mm.

This is the best-known representative of the genus, which ranges from the Amur drainage and Korea to Min-kiang. Most authors name it *E. erythropterus* but, as shown by Yih & Chu [12], Basilewsky's *C. erythropterus* (whose type-specimens exists no more) seems to be not this species, but *Culter alburnus*. The right name is therefore *ilishaeformis*.

J. T. Nichols [8] considers the Taiwan and Fukien representatives of this species as belonging to a distinct species, *Er. aokii*; they are however, practically identical with the Yangtze specimens. The scales number is the same: 81—96 (M = 89.2) in Amur specimens (according to G. V. Nikolski, 9), 85—90 in Korea (according to Uchida, 10), 82—95 in the Yangtze and Chekiang specimens available to us, 80—88 in Fukien and Taiwan specimens. The only difference in body proportions concerns the predorsal distance, which is 48.5—51.0% of standard length in Yangtze, 46.8—49.9% in Fukien specimens. This difference is too slight to deserve specific or even subspecific rank. I agree therefore with Yih & Chu and with Wu in synonymizing *aokii* with *ilishaeformis*.

According to Yih & Chu, the specimens from Sungari differ from those of the remaining parts of Amur drainage and from the Yangtze and represent a distinct subspecies: *Er. il. sungarinensis*.

##### 1a. *Erythroculter ilishaeformis recurvirostris* (Sauvage, 1884)

— Pl. I, fig. 3 —

Synonyms: (?) *Culter recurviceps* Richardson, 1876 (Canton); *C. recurvirostris* Sauvage, 1884 (Tonkin); *Erythr. pseudobrevicauda* Nichols & Pope, 1927 (Nodoa, Hainan); Nichols, 1943 (Hainan, Kwantung); (?) Dao & Yen, 1959 (Boi R., North Vietnam; partim); *Culter recurviceps*, Lin, 1934 (Kwantung; Kwangsi; Kweichow).

## Specimens examined:

## From North Vietnam:

- Type of *C. recurvirostris*, MNHN 84-78, 251 mm (Pl. I, fig. 3).
- MNHN 07294, Hanoi, 207 mm (determined *C. recurvirostris*).
- MNHN 92265, Song-bo (Black River), 265 mm (determ. *C. recurvirostris*).

## From Hsikiang drainage (South-East China):

- BMNH 1933.3.11.844, Canton, Kwantung, 2 spec., 118 & 135 mm. (determ. *C. recurvirostris*).
- AMHN 15614, Canton, 5 spec., 75.5-103 mm (det. *C. aokii*).
- AMNH 15623, Canton, 4 spec., 61-133 mm (det. *C. aokii*).
- UMMZ 100646, Santon (Canton?), 3 spec., 79.2-126 mm (det. *C. recurvirostris*).

Most authors, including Yih & Chu and Wu, consider *Er. pseudobrevicauda* from Hainan and Kwantung as distinct species. The comparison of Kwantung specimens, determined by Nichols as *pseudobrevicauda*, with the type of *C. recurvirostris* proved their identity. The name *recurvirostris* must thus replace *pseudobrevicauda*. *Leuciscus recurvirostris* Richardson, 1846, from Canton, may be the same, but, as shown by L. S. Berg [2], this species is unidentifiable and the type was lost; the name *recurvirostris* cannot therefore be retained. The Kwantung, Kwangsi and Kweichow specimens recorded by S. Y. Lin as *recurvirostris* are probably *recurvirostris*, although Lin gives only 66-68 scales whilst I found 68-74 in Kwantung specimens and Nichols gives about 75 in *pseudobrevicauda*.

But *recurvirostris* (= *pseudobrevicauda*) is not an independent species, agreeing with *ilishaeformis* in most important characters, especially its vertical mouth. It differs from *il. ilishaeformis* in its smaller number of scales (a slight decrease of scales number is noticeable also in the southern populations of *ilishaeformis*), more anal rays (23-26 as against 20-24 in *ilishaeformis*) and some body proportions (depth 22.8-27.0 % of st. length as against 20.6-24.2 % in *ilishaeformis*; preanal distance 59.5-64.5 % as against 63.0-69.0 %; prepelvic distance 39.8-43.0 % as against 42.7-49.8%).

2. *Erythroculter dabryi* (Bleeker, 1871).

- Pl. I, fig. 4, Pl. II, figs. 5-7

Synonyms: *Culter dabryi* Bleeker, 1871 (Yangtze); *C. oxycephalus* Bleeker, 1871 (Yangtze); *C. abramoides* Dybowski, 1872 (Chanka lake, Amur drainage); Kreyenberg & Pappenheim, 1908 (Tungting lake); *C. hypselonotus* (non Bleeker), Günther, 1888 (Kiu-kiang); *Erythroculter dabryi* + *Er. oxycephalus*, auct.

## Specimens examined:

- Type spec. of *C. dabryi*, MNHN 5078, Yangtze, 224 mm (Pl. I, fig. 4).
- Type spec. of *C. oxycephalus*, MNHN 5050, Yangtze, 229 mm. (Pl. II, fig. 5).
- Type spec. of *C. abramoides*, ZMB 7933, Chanka lake, 258.5 mm, (Pl. II, fig. 6).
- MNHN 34151, Szechwan, 146 mm (determ. *C. erythropterus*).

- ANSP 86784, Ningkwo, Anhwei, 182 mm (det. *C. erythropterus*).
- ZMB 16685, Hankow, 252.5 mm (det. *C. abramoides*) (Pl. II, fig. 7).
- NMW 52799, Shanghai, 163 mm (determ. *Culter* sp.).
- MNHN 3959-60, Wuchang, 201 & 178.5 mm (det. *Chanod. dabryi*).
- BMNH 1888.3.23.42-43, Kiu-kiang, 2 spec., 223 & 217 mm (det. *C. hypselonotus*).

Nearly all authors, including most recent ones (Yih & Chu, Wu) consider *dabryi* and *oxycephalus* distinct species; the last author gives the following differences: depth: 23.2-30.3% of st. length in *dabryi*, 27.0-30.3% in *oxycephalus*; head 23.3-26.4% and 22.2-24.4%; snout 25.6-27.0% of head and 25.0-25.6%; scales 64-71 and 65-69; gill rakers 20-22 in *dabryi* and 22-23 in *oxycephalus*. One remarks that most of these values overlap.

The comparison of the type specimens of *dabryi* and *oxycephalus*, as well as that of the other specimens mentioned above, convinced me that they are conspecific. The number of scales, anal rays, etc. and body proportions of all 11 specimens examined is given in table I. One remarks some differences: the types of *oxycephalus* and *abramoides* have a deeper body, the type of *oxycephalus* somewhat bigger preanal, prepelvic and pectoral-pelvic distances, but these are only individual variations. The mouth shape, number of scales, anal rays and gill-rakers do not justify the separation of *oxycephalus* in a distinct species.

Having no specimens, I cannot discuss on the validity of the subspecies *E. dabryi shinkainensis* Yih & Chu.

3. *Erythroculter hypselonotus, hypselonotus* (Bleeker, 1870)

- Pl. II, fig 8; text fig.1 -

Synonyms: *Culter hyps.* Bleeker, 1870 (China); Bleeker, 1871 (Yangtze); Lin, 1934 (Wuchow, Kwangsi); *Erythr. hypselonotus*, Wu, 1964.

## Specimens examined:

- BMNH 1935.4.18.25, Poseh, Kwangsi, 143 mm., coll. Lin.
- ANSP 101379, Poseh, Kwangsi, 197 mm, coll. Lin.
- D III 7; A 3/ 23-26; L. lat.  $63 \frac{12}{15}$  66; Sp. br. 19-20 (15+5 and 16 + 3); D. phar. 5.4.2-2.3.4 and 5.4.2.-2.4.4.

In percentage of standard length: depth 24.5 in the smaller, 27.2 in the bigger specimen; caudal peduncle 16.1 and 15.8; least depth 8.95 and 9.25; predorsal distance 48.2 and 49.3; preanal 61.5 and 62.0; prepelvic 42.5 and 42; from pectoral to pelvic origin 21.0; from pelvic to anal 21 and 20.8; pectoral 19.7; pelvic 16.4 and 15.7; head 25.3 and 24.8; snout 6.85 and 7.35; eye 8.25 and 7.35; eye 32.6 and 29.6% of head, 118 and 104% of interorbital width, 121 and 100 of snout length. Mouth as oblique as in *E. dabryi*.

*Er. hypselonotus* is the least-known species within the genus. Many authors do not consider it valid; Nichols [8] mentions it in the synonymy of *dabryi* with a (?); Yih and Chu (12) don't mention it at all. S. Y. Lin



Depth of body 26.1% of standard length; caudal peduncle length 15.7%, least depth 8.0%; predorsal distance 50.5%, preanal 59.1%, prepelvic 39.1%, distance from pectoral to pelvic origin 17.2%, from

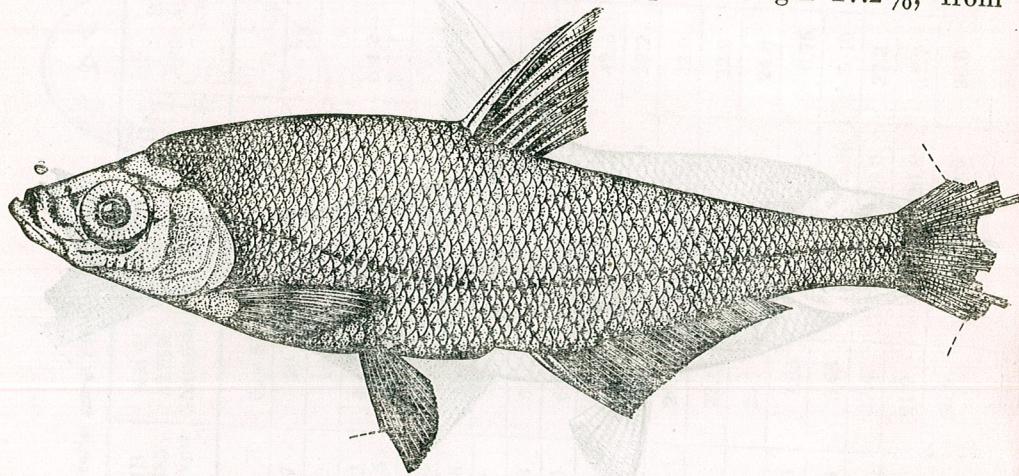


Fig. 2. — *Erythroculter hypselonotus daovantieni* nova subsp. Type.

pelvic to anal 19.4%, length of pectoral 19.3%, of pelvic 15.2%, height of dorsal spine 19.6%, of first divided dorsal ray 21.8%, base of dorsal 10%, height of anal 12.2%, its base 29.0%, head length 25.0%, snout 6.95%, eye diameter 7.85%; snout 27.8% of head; eye diameter 31.2% of head, 145% of interorbital distance, 113% of snout; body width 33.3% of depth.

Mouth strongly oblique, as in *E. h. hypselonotus* and in *E. dabryi* not vertical as in *ilishaeformis*. Cleft of mouth reaching in front of vertical from nostril, insertion of mandible under one fourth of eye. Back elevated at nape. Pectorals passing beyond pelvic origin; pelvics not reaching to anal origin. Tip of depressed dorsal reaching above middle of anal base.

This fish was determined by Dao & Yen as *Er. pseudobrevicauda* (= *Er. ilish. recurvirostris*), but differs from it in the shape of mouth, much bigger eye, much more anal rays, fewer scales. It is undoubtedly closer related to *Er. hypselonotus* than to any other species.

#### 4. *Erythroculter mongolicus* (Basilewsky, 1855)

— Pl. III, fig. 10, 11 —

Synonyms: *Culter mongolicus* Basil., 1855 (North China); *R. rutilus* Dybowski, 1872 (Amur drainage).

#### Specimens examined:

— Type of *C. rutilus*, ZMB 7934, Chanka lake, 224.5 mm (Pl. III, fig. 10).

— IBTS 1005 (formerly ZIAN 32432), Chanka lake, 117 mm.

— ZMB 16684, Tungting lake. 135 mm (Pl. III, fig. 11).

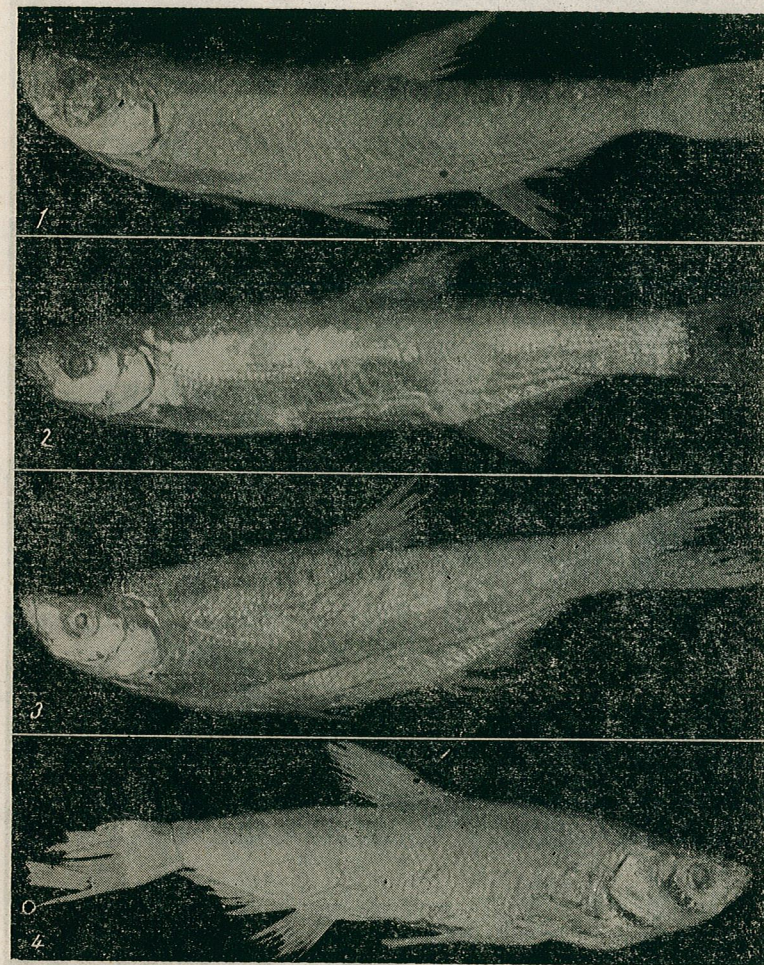


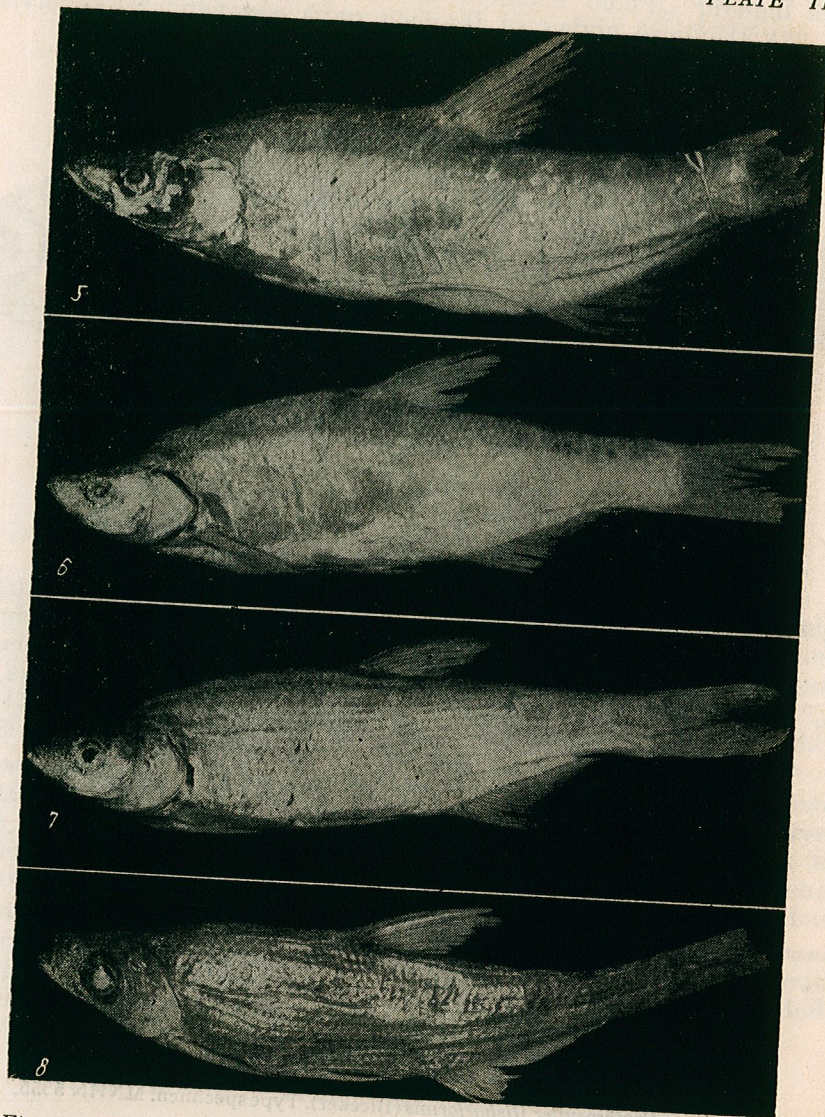
Fig. 1. — *Erythroculter ilishaeformis* (Bleeker). Type specimen. MNHN 5955, Yangtze.

Fig. 2. — *Erythroculter ilishaeformis* (Bleeker). Type specimen of *Culter siebold* Dybowski. ZMB 7932, Chanka lake.

Fig. 3. — *Erythroculter ilishaeformis recurvirostris* (Sauvage). Type specimen. MNHN 8478. North Vietnam (Tonkin).

Fig. 4. — *Erythroculter dabryi* (Bleeker). Type specimen. MNHN 5078, Yangtze.





- Fig. 5. — *Erythroculter dabryi* (Bleeker). Type specimen of *Culter oxycephalus* Bleeker. MNHN 5050. Yangtze.  
 Fig. 6. — *Erythroculter dabryi* (Bleeker). Type specimen of *Culter abramoides* Dybowski. ZMB 7933. Chanka lake.  
 Fig. 7. — *Erythroculter dabryi* (Bleeker). ZMB 16685. Hankow.  
 Fig. 8. — *Erythroculter hypselonotus hypselonotus* (Bleeker). BMNH 1935. 4.18.25. Poseh, Kwangsi.



- Fig. 9. — *Erythroculter hypselonotus daovantieni* nova subsp. IBTS 625. Boi River. North Vietnam.  
 Fig. 10. — *Erythroculter mongolicus* (Basilewsky). Type specimen of *Culter retitus* Dybowski. ZMB 7934. Chanka lake.  
 Fig. 11. — *Erythroculter mongolicus* (Basilewsky). ZMB 16684. Tungting lake.  
 Fig. 12. — *Erythroculter oxycephaloides* (Kreyenberg & Pappenheim). Type specimen. ZMB. 16689. Tungting lake.  
 Fig. 13. — *Erythroculter oxycephaloides* (Kreyenberg & Pappenheim). NRMS 10153. Kia-ling-ho, Szechwan.

- NMW 10873, Shanghai, 167 mm (determ. *Culter latifrons* Steindachner, a nomen nudum, unpublished).  
 — BMNH 1928.4.24.10, Tai-hu lake, Kiangsu, 164 mm (det. *Chanodichthys mongolicus*).  
 — BMNH 1888.3.23.34, Kiu-kiang, 300 mm (det. *Chanod. mong.*).  
 — MNHN 3958, Wuchang, 246 mm (det. *Chanod. mong.*).  
 — MNHN 5049, China, 357 mm (det. *Chanod. mong.*).  
 — MNHN 5063, China, 140.5 mm (det. *Chanod. mong.*).

Our specimens agree with the description of this species by Nichols [8], Nikolski [9], etc. There are no differences between Amur and Yangtze specimens.

### 5. *Erythroculter oxycephaloides* (Kreyenberg & Pappenheim, 1908)

— Pl. III, figs. 12, 13 —

Synonym: *Culter oxycephaloides*, Krey. & Papp., 1908 (Tungting lake).

#### Specimens examined:

- Type specimen, ZMB 16686, Tungting lake, 164 mm (Fig. 12).  
 — AMNH 10871, Tungting lake, 2 spec., 106.8. and 85.0 mm.  
 — NRMS 10153, Kia-ling-ho, Szechwan, 266.0 mm (Fig. 13).

No figure of the type-specimen having been published, I give a photograph of it and of the big Szechwan specimen. In the last-named the body and caudal peduncle are much deeper (depth 28.2% of st. length, least depth 11.3% as against 23.6—26.9% and 8.8—9.7% in the other three specimens). This species is characterized by its long and narrow snout, small and almost horizontal mouth. It seems closer to *E. mongolicus*. Its range is restricted to the Yangtze drainage.

*Aknowledgements.* Following curators have loaned me specimens under their care: M-me M. L. Bauchot, Paris; Dr. J. E. Böhlke, Philadelphia; Prof. K. Deckert, Berlin; Dr. P. H. Greenwood, London; Prof. A. Johnels and Miss Gr. Vestergren, Stockholm; Dr. P. Kähsbauer, Vienna; Dr. W. Ladiges, Hamburg; Dr. D. E. Rosen, New York; Prof. A. N. Svetovidov, Leningrad; Prof. Dao-van-tien, Hanoi; Prof. G. W. Nikolski, Moscow, Prof. A. N. Svetovidov, Leningrad, and Dr. H. W. Wu, Wuchang, sent specimens in exchange.

#### REFERENCES

1. BERG L. S., Mém. Acad. Sci. St-Petersbourg, 1909 (8), 24, 9, VII + 270 pp.
2. — Compt. Rend. Acad. Sci. U.R.S.S. (N. S.), 1934, 2, 264—266.
3. — РЫБЫ пресных вод СССР и сопредельных стран, 2, Moscow—Leningrad, 1949.
4. БЛЕЕКЕР, P., Verhandl. Akad. Wetensch. Amsterdam, Afd. Natuurk., 1871, 12, 1—91, 13 pls.
5. CHU Y. T., Biol. Bull. St. John's Univ., Shanghai, 1935, 2, 1—225.
6. DAO V. T., YEN M. D., Zoolog. Journ. 1959, 38, 1230—1241.

7. LIN S. Y., Lingnan Sci. Journ., 1934, 31, 615—632.
8. NICHOLS J. T., *The Fresh-water Fishes of China*. New York, 1943.
9. НИКОЛЬСКИЙ Г.В., *Рыбы бассейна Амура*. Moscow, 1956.
10. UCHIDA K., *The Fishes of Tyosen (Korea)*. I. *Nematognathi, Eventognathi*. Husan, 1939 (in Japanese).
11. WU Hs. W., *The Cyprinidae of China*. I. 1964 (in Chinese).
12. YIH B. L. a. CHU Tz. J., Acta Hidrobiologica Sinica, 1959, 2, 170—199.

Received May 14, 1966

Institute of Biology "Tr. Săvulescu"  
 Academy of the Socialist Republic of Romania  
 Department of Animal Systematics and Evolution.

OBSERVATIONS CONCERNANT LE POLYMORPHISME  
GÉNÉTIQUE ET LA PROLIFICITÉ DANS  
UNE POPULATION DE *LACERTA AGILIS*  
*CHERSONENSIS* ANDRZ.

PAR

I. E. FUHN

On étudie dans une population de *L. agilis chersonensis* des environs de Bucarest la distribution des différentes phases héréditaires du dessin-coloris. Il a été constaté que la phase dénommée par l'auteur « *viridinotus* » tend à éliminer la phase *erythronotus*, étant vraisemblablement favorisée sélectivement dans les conditions de steppe. Dans la période mai-juin, on trouve 4 stades de développement des ovules ou des œufs ; dans les stades 3 et 4, le maximum d'œufs se trouvant dans les oviductes est de 13 (en moyenne 8).

Le polymorphisme génétique, c'est-à-dire la présence simultanée dans la même population de deux ou de plusieurs formes discontinues, dans des proportions excluant leur maintien exclusivement par l'action des mutations répétées (Ford, 1964) est un phénomène fréquent et important par suite de l'avantage sélectif offert par l'état de hétérozygotie. Depuis longtemps [7] il a été relaté qu'en dehors du dimorphisme sexuel, le lézard *Lacerta agilis* (L.) présente dans ses populations à côté des individus à dessin-coloris typique, un nombre d'individus dont le dessin-coloris diffère — les phases *erythronotus* Fitzinger et *immaculata* Dürigen. Il n'y a pas ou peu de données sur la fréquence de ces phases dans les populations de *L. agilis* ; nos observations fortuites concernant *L. a. agilis* (Linnaeus) indiquent une assez grande fréquence de la phase *erythronotus* chez les deux sexes.

Nous avons déjà signalé [5] que chez *L. agilis chersonensis* Andrz. le polymorphisme est plus accentué que chez la race nominative, car en plus des phases de dessin-coloris caractéristiques aux deux sexes, nous trouvons les mutants *erythronotus*, *immaculata*, *viridinotus*, vert  $\pm$  immaculé, ainsi que des individus chez lesquels les mutants *erythronotus* et *viridinotus* manifestent une dominance imparfaite, c'est-à-dire la bande dorsale brune-rouge ou verte est plus ou moins parsemée de noir.

Ayant eu l'occasion d'examiner un matériel nombreux de *L. agilis cherscnensis*\* capturé dans les environs de Bucarest en mai et juin 1964—1965 (267 ♂♂ et 205 ♀♀, total 472 ex.), il nous a été possible d'étudier la distribution des mutants de dessin-coloris (color pattern) ainsi que la variabilité des ovules et des œufs chez les femelles, les lézards ayant été capturés en pleine époque de reproduction.

## POLYMORPHISME

Les mutants de dessin-coloris trouvés dans la race *cherscnensis* sont : A. Mâles. 1, normal; 2, réduction du dessin noir jusqu'à un coloris vert ± uniforme; 3, *erythronotus* (à dos rouge-brun immaculé); 4, *viridinotus* (à dos vert ou vert olive immaculé); 5, *immaculata* (beige uniforme). B. Femelles. 1, normal; 2, *erythronotus*; 3, *immaculata*. Les mutants *viridinotus* et vert uniforme ne se rencontrent pas chez les femelles. La distribution des mutants dans les 9 captures étudiées est présentée dans le tableau suivant :

Date	Total	Sexe	Normal	<i>Erythronotus</i>	<i>Viridinotus</i>	Vert ± unif.	<i>Immaculata</i>
10.IV.64	74	46 ♂♂ 28 ♀♀	74% 82%	8,7% 14,5%	2%	11%	4,3% 3,5%
IV.64	61	36 ♂♂ 25 ♀♀	88% 84%	2,8% 16%	8,3%	—	—
IV.64	49	30 ♂♂ 19 ♀♀	97% 100%	—	3%	—	—
V.64	13	9 ♂♂ 4 ♀♀	77% 75%	—	—	23%	—
V.64	85	40 ♂♂ 45 ♀♀	82% 84%	—	9%	9%	—
V.64	7	4 ♂♂ 3 ♀♀	75% 70%	—	25%	—	3%
VI.64	58	27 ♂♂ 31 ♀♀	74% 90%	—	10%	—	30%
VI.64	22	10 ♂♂ 12 ♀♀	87% 100%	—	13%	—	—
V.65	103	65 ♂♂ 38 ♀♀	71,4% 88,5%	3,2% 9,9%	19%	6,3%	— 1,6%

Il résulte de ces données que les mutants *viridinotus* et vert ± uniforme sont l'apanage du sexe masculin et manquent chez les femelles; en échange le mutant *immaculata* est très rare chez les mâles. Si nous consi-

\* Ce matériel a été mis à notre disposition par l'amabilité du laboratoire de Physiologie animale de l'Institut de Biologie « Traian Săvulescu ».

dérons les 9 captures ensemble, nous trouvons que 74—97% (80,6% en moyenne) des 267 ♂♂ appartiennent au type normal de dessin-coloris; 2—26% (11,7% en moyenne) au type *viridinotus*; 2,8—8,7% (1,7% en moyenne) au type *erythronotus*; 9—23% (5,5% en moyenne) au type vert uniforme et 0,5% au type *immaculata*. Du total de 205 ♀♀, 70—100% (86% en moyenne) possèdent un dessin-coloris normal; 10—25% (9,5% en moyenne) sont *erythronotus*; 3—30% (4,5% en moyenne) *immaculata*. On observe que le mutant *erythronotus* est assez fréquent chez les femelles (9,5%) et en tout cas nettement plus fréquent que chez les mâles (1,7%), où le mutant *viridinotus* est plus répandu (11,7%). En ce qui concerne le dessin, le mutant *viridinotus* est presque identique au mutant *erythronotus*, dont il diffère par le coloris vert de la bande dorsale. C'est pourquoi nous pensons que le mutant *viridinotus*, tout comme *erythronotus* [1], [4], [6] se manifeste génétiquement comme dominant; les cas de dominance imparfaite sont assez fréquents parmi les individus de type *viridinotus*.

Le maintien et la prédominance du mutant *viridinotus* chez les ♂♂ de *cherscnensis* est vraisemblablement un effet des facteurs sélectifs, car les mâles sont plus vagiles que les femelles et le mutant *viridinotus* possède dans les conditions de steppe, par son homochromie avec l'herbe, un certain avantage sélectif en comparaison à *erythronotus* qui contraste avec le coloris vert de l'herbe. Selon nos données, 11,7% en moyenne des mâles appartiennent au type *viridinotus* et 1,7% seulement à *erythronotus*.

## PROLIFICITÉ

Nous avons examiné les ovules et les œufs de 100 ♀♀, de taille similaire (8 cm museau-anus); ils se trouvaient dans quatre stades de développement :

Stade I : ovules dans les ovaires, à vitellus blanc, diamètre 2 mm.

Stade II : ovules dans les ovaires, sphériques, à vitellus jaune, diamètre 4—5,5 mm.

Stade III : œufs dans les oviductes, sphériques, à vitellus jaune, diamètre 5,5—8,5 mm.

Stade IV : œufs dans les oviductes, blancs, ovoïdes, à membrane, diamètre 12 mm.

Premier groupe, mai 1964, 33 femelles. 4 exemplaires ont les ovules dans le stade II, 8 (4 + 4) ovules; chez 18 ex., œufs au stade III, 3—7 (7 en moyenne); chez 8 ex. œufs au stade IV, 4—13 (9,5 en moyenne), chez 2 ex. il n'y avait ni œufs, ni ovules en cours de maturation; 2 ex. avaient en plus de 9 à 13 œufs blancs dans les oviductes, 4 ou 3 ovules au stade II dans les ovaires. Les ovules et les œufs se trouvent répartis dans les ovaires et les oviductes en nombre égal ou inégal.

Second groupe, mai 1965, 31 femelles. A cause du mauvais temps (froid et pluvieux), le développement des gonades est en retard. 24 ex. — ovules au stade I; 6 ex. — ovules au stade II, 6—11 (4/2—6/5); un seul ex. possède 5 œufs au stade III.

Troisième groupe, juin 1964, 31 femelles. 17 seulement avaient des œufs ou des ovules en cours de développement, le reste avaient probablement déjà pondus. 6 ex. — 5—10 (7,3 en moyenne) œufs au stade III; 10 ex. 6—7 (6,7 en moyenne) œufs prêts à être pondus.

## CONCLUSIONS

1. Une population polymorphe de *L. agilis chersonensis* Andr. des environs de Bucarest, en tout 472 lézards, dont 267 ♂♂ et 205 ♀♀, présentent la distribution suivante des mutants de dessin-coloris: Mâles. Normal — 80,6%; *viridinosus* — 11,7%; vert uniforme 5,5%; *erythronotus* — 1,7%; *immaculata* — 0,5%. Femelles. Normal — 86%, *erythronotus* — 9,5%; *immaculata* — 4,5%. Chez les mâles, le mutant *viridinosus* manifeste une tendance évidente à remplacer le mutant *erythronotus*, moins favorisé sélectivement.
2. L'étude de la prolificité chez 100 ♀♀ capturées en mai et juin, établit l'existence de IV stades de développement, à partir d'ovules (dans les ovaires) de 2 mm diamètre jusqu'aux œufs (dans les oviductes), au diamètre de 5,5–12 mm. Nombre maximum d'œufs trouvés chez une femelle: 13.

## BIBLIOGRAPHIE

1. DRZEWICKI S., C. R. Soc. biol. Paris, 1926, 93, 1131–32.
2. FORD E. B., *Ecological Genetics*, Wiley & Sons Inc., Methuen & Co., London, New York, 1964.
3. FUHN I. E., VANCEA ȘT., *Fauna R.P.R., Reptilia*, Edit. Acad. R.P.R., 1961, 14, 2.
4. FUHN I. E., Vestn. Českoslov. Spolec. Zool., 1963, 27, 1, 72–73.
5. FUHN I. E., VANCEA ȘT., *Senck. biol.*, 1964, 45, 3–5, 469–489.
6. MERTENS R., *Senck. biol.*, 1964, 45, 1, 38.
7. SCHREIBER E., *Herpetologia europaea*, G. Fischer Vlg., Jéna, 1912.

Reçu le 20 mai 1966

Institut de Biologie « Traian Săvulescu »  
Secteur de systématique et évolution animale.

## ANATOMY AND HISTOLOGY OF THE LIVER AND GALL BLADDER IN *NATRIX PISCATOR PISCATOR* (SCHNEIDER), *REPTILIA : OPHIDIA*

BY

J. H. SABNIS, M. SC.

### INTRODUCTION

Very little work has been done on the anatomy and histology of the reptilian liver and gall bladder. Shore and Jones (1889) and Krause (1922) have described the anatomy and histology of the lacertilian liver. More recently, Ells (1954) has described the gross anatomy of the liver and gall bladder in the lizard *Sceloporus occidentalis*. Paucity of such work on Indian reptiles in general and Ophidia in particular has prompted the author to undertake the present study.

### MATERIAL AND METHODS

Specimens of *Natrix piscator piscator* were collected from tanks and ponds around Nagpur and were kept alive in an aquarium in the laboratory. Several snakes were dissected to study the gross structure of the liver and gall bladder and to establish their vascular connections. Length of the liver vis-a-vis body length as also its weight was recorded. Serial sections of parts of the liver and gall bladder were taken from material fixed in Bouin's fluid. Serial sections were stained with Delafield's haematoxylin and eosin.

### OBSERVATIONS

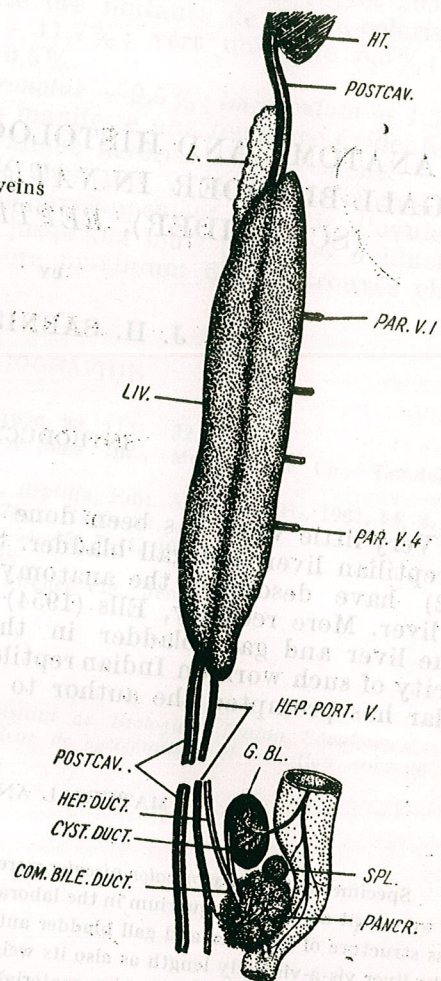
The liver is a conspicuous organ of the viscera being elongated and reddish brown in colour. It lies to the left of the stomach and consists of two fusiform lobes which lie close to one another (Fig. 1 *liv.*). In a typical specimen measuring 71.9 cm, the length of the liver was

15.5 cm, and breadth was 1.5 cm, and it weighed 9.605 g. The length of the gall bladder was 1.4 cm. The shape and position of the liver and gall bladder is similar to those of *Natrix sipedon* (Bragdon, 1953).

Fig. 1. — *Natrix piscator piscator*: veins related to the liver.

Abbreviations used in figures:

- cap. = bile capillary
- com. bile duct. = common bile duct
- cyst. duct. = cystic duct
- g. bl. = gall bladder
- hep. cell = hepatic cell
- hep. duct. = hepatic ducts
- hep. oes. art. = hepato-oesophageal artery
- hep. port. v. = hepatic portal vein
- ht. = heart
- l. = lung
- lienogast. = lienogastric artery
- liv. = liver
- mus. = muscular layer
- oes. = oesophagus
- pancr. = pancreas
- par. art. = parietal artery
- par. v. = parietal vein
- postcav. = postcaval vein
- spl. = spleen
- stom. = stomach
- vac. = vacuole



In lizards the gall bladder is generally a thin walled organ embedded in the posterior portion of the middle lobe of the liver. In *Natrix piscator piscator* it is far removed from the liver and lies suspended in the body cavity by peritoneum, close to the spleen and pancreas (Figs. 1 and 2, *g. bl.*). In most specimens it was surrounded by fat bodies. It is a large, oval and thick-walled sac containing greenish coloured bile. The colour of the bile may be due to biliverdin as in the bile of birds. The hepatic ducts emerge from the posterior end of the liver, run parallel to the postcaval vein and open into a short common bile duct along with the cystic duct. The common bile duct passes through the

substance of the pancreas before it opens into the intestine (Fig. 2, *hep. duct.*, *cyst. duct.*, *com. bile. duct.*). The pancreas is an acorn shaped organ carrying a small dark red spleen at its anterior end (Figs. 1 and 2, *pancr.*, *spl.*).

#### BLOOD SUPPLY

The blood is supplied to the liver by a series of hepato-oesophageal arteries that arise from the dorsal aorta along the length of the liver and enter it at intervals (Fig. 2, *hep. oes. art.*). There are seventeen such hepato-oesophageal arteries reaching blood to the liver and oesophagus. The oesophageal branch is given off by the hepato-oesophageal artery just before it enters the liver. The lienogastric artery supplies blood to the stomach, gall bladder and spleen (Kashyap and Velankar, 1958) (Fig. 2, *lienogast.*). Similar branching of the lienogastric artery is observed in *Tropidonotus natrix* (O'Donoghue, 1922) and *Ptyas mucosus* (Ray, 1934), except that in the latter snake it gives off a branch to the pancreas also. In *Hydrophis caeruleus* (Bal and Navathe, 1949) it supplies to the liver as well.

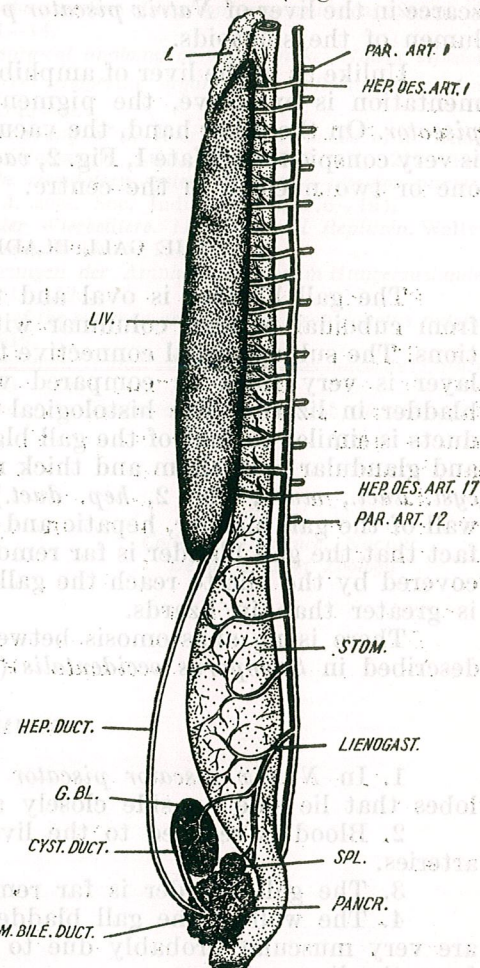


Fig. 2. — *Natrix piscator piscator*; arterial blood supply to the liver, stomach, gall bladder, etc.

The postcaval vein runs anteriorly along a groove on the liver of receiving small veins from it and also four parietal veins in the region of the liver. (Fig. 1, *postcav.*, *par. v.*). The hepatic portal vein runs parallel to the postcaval before it enters the liver (Fig. 1, *hep. port. v.*). It brings blood from the alimentary canal, pancreas and spleen. It also receives a few parietal veins before entering the liver.

#### THE HEPATIC PARENCHYMA

In *Natrix piscator piscator* the liver is not divided into lobules. It is made up of branching and anastomosing tubules as in the liver of *Sceloporus occidentalis* (Ells, 1954). The tubule shows a central bile capil-

lary surrounded by hepatic cells. The capillaries are seen clearly in sections stained with Heidenhain's haematoxylin (Plate I, Fig. 1, *cap.*, *hep. cell.*). The sinusoids are lined by endothelial cells. Cells of Kupffer are scarce in the liver of *Natrix piscator piscator* and are found scattered in the lumen of the sinusoids.

Unlike as in the liver of amphibia (Kremer, 1932) in which the pigmentation is extensive, the pigmentation is limited in *Natrix piscator piscator*. On the other hand, the vacuolation of the hepatic epithelial cells is very conspicuous (Plate I, Fig. 2, *vac.*). The nuclei are spherical and show one or two nucleoli in the centre.

#### THE GALL BLADDER AND DUCTS

The gall bladder is oval and thick-walled. The epithelium ranges from cuboidal to high columnar with nuclei situated in the basal portions. The sub-epithelial connective tissue layer is thin but the muscular layer is very thick as compared with the muscular layer of the gall bladder in lizards. The histological structure of the hepatic and cystic ducts is similar to that of the gall bladder with well developed columnar and glandular epithelium and thick muscular layer (Plate II, Fig. 1, *g.b.*, *cyst. duct.*, *mus.*; Fig. 2, *hep. duct.*). The increased muscularity of the wall of the gall bladder, hepatic and cystic ducts is probably due to the fact that the gall bladder is far removed from the liver and the distance covered by the bile to reach the gall bladder first and then the intestine is greater than in lizards.

There is no anastomosis between the hepatic and cystic ducts as described in *Sceloporus occidentalis* (Ells, 1954).

#### SUMMARY

1. In *Natrix piscator piscator* the liver consists of two elongated lobes that lie side by side closely adpressed to one another.
2. Blood is reached to the liver by seventeen hepato-oesophageal arteries.
3. The gall bladder is far removed from the liver.
4. The wall of the gall bladder and the hepatic and cystic ducts are very muscular probably due to the gall bladder being far removed from the liver.
5. The hepatic duct leaves the liver at its caudal end while the cystic duct arises at the cephalic end of the gall bladder. The two ducts meet to form a short common duct that passes through the pancreas and then opens into the intestine.
6. The hepatic parenchyma is characterised by few Kupffer cells, limited pigmentation and greater vacuolation.

#### ACKNOWLEDGEMENT

I wish to express my thankfulness to Dr. H. V. Kashyap, Professor of Zoology at the College of Science, Nagpur, where the present study had been undertaken, for suggesting me this problem and offering me all facilities and encouragement.

#### REFERENCES

- BAL, D. V., NAVATHE, K. V., 1949, *The circulatory system of Hydrophis caeruleus* (Shaw). J. Uni. Bombay, **XVII**, part. 5, 1-14.
- BRAGDON, D. E., 1953, A contribution to the surgical anatomy of water snake, *Natrix sipedon sipedon*; the location of the visceral endocrine organs with reference to neutral scutellation. *Anat. Rec.*, **117**, 2, 145-161.
- ELLS, H. A., 1954, *The gross and microscopic anatomy of the liver and gall bladder of the lizard Sceloporus occidentalis biseriatus* (Hollowell). *Anat. Rec.*, **119**, 2, 213-226.
- KASHYAP, H. V., VELANKAR, S. R., 1958, *The circulatory system of Natrix piscator piscator* (Schneider) (Reptilia: Ophidia). *J. zool. Soc. India*, **10** (2), 176-194.
- KRAUSE, R., 1922, *Mikroskopische Anatomie der Wierbeltiere. II, Vogel und Reptilien*. Walter Gruste und Co., Berlin and Leipzig, 6 Ab. 3, 1545-1547.
- KREMER, J., 1932, *Die fortlaufenden Veränderungen der Amphibienräuber im Hungerzustande*. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.*, **28**, 81-157.
- O'DONOGHUE, C.H., 1912, *On the arterial system of the common grass snake, Tropidonotus natrix*. *Proc. zool. Soc., London*, 614-619.
- RAY, H.C., 1934, *On the arterial system of the common Indian rat snake, Ptyas mucosus* (Linn.). *J. Morph., Philadelphia*, **56**, 533-544.
- SHORE, T. W., JONES, H.L., 1889, *On the structure of the vertebrate liver*. *J. Physiol.*, **10**, 408-428.

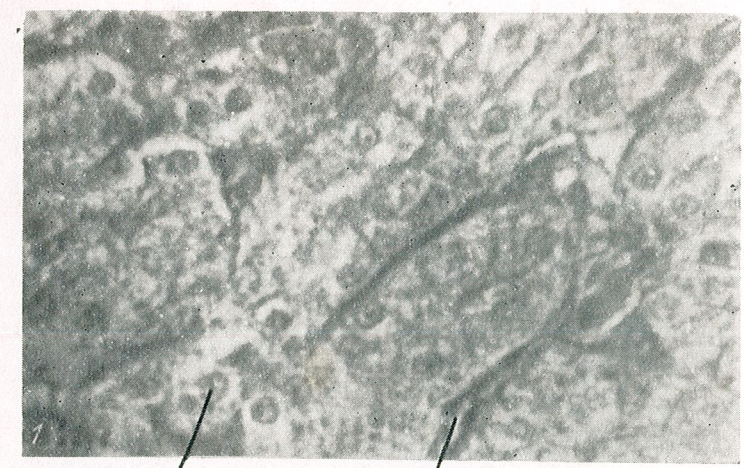
Received March 27, 1966

College of Science, Nagpur  
Department of Zoology

...the liver consists of two distinct  
lobes that are closely approximated to one another and  
separated by a deep longitudinal fissure. The gall bladder  
is situated in the anterior part of the liver and is  
connected to the main duct by a short duct. The  
wall of the gall bladder is very muscular and is  
lined by a mucous membrane. The hepatic duct  
is formed by the union of the right and left  
ducts and opens into the intestine. The  
hepatic parenchyma is characterized by the  
presence of large central veins and a network  
of smaller blood vessels. The cells of the  
liver are arranged in cords and contain  
numerous vacuoles. The bile canaliculi  
are situated between the cells and collect  
the bile secreted by the liver cells.

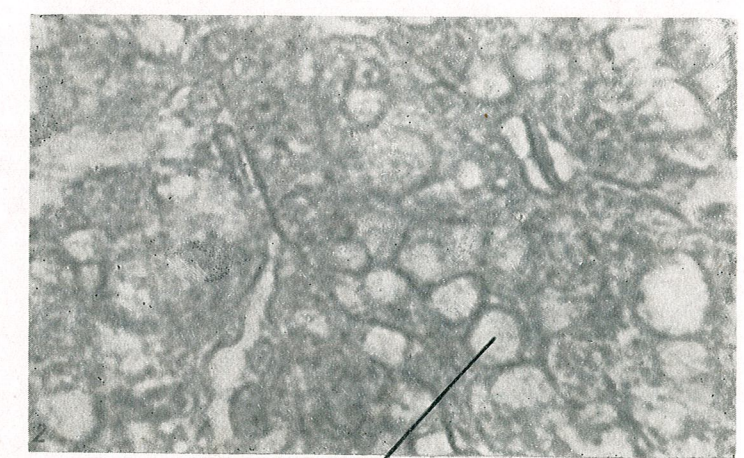
**SUMMARY**  
1. In *Natrix piscator piscator* the liver consists of two distinct  
lobes that are closely approximated to one another and  
separated by a deep longitudinal fissure. The gall bladder  
is situated in the anterior part of the liver and is  
connected to the main duct by a short duct. The  
wall of the gall bladder is very muscular and is  
lined by a mucous membrane. The hepatic duct  
is formed by the union of the right and left  
ducts and opens into the intestine. The  
hepatic parenchyma is characterized by the  
presence of large central veins and a network  
of smaller blood vessels. The cells of the  
liver are arranged in cords and contain  
numerous vacuoles. The bile canaliculi  
are situated between the cells and collect  
the bile secreted by the liver cells.

**ACKNOWLEDGMENT**  
I wish to express my thanks to Dr. H. V. Kulkarni, Professor  
of Zoology at the College of Science, Nagpur, where the present study  
has been undertaken, for suggesting the problem and for his  
all facilities and encouragement.



HEP. CELL. CAP.

Fig. 1. — The hepatic parenchyma in *Natrix piscator piscator* showing bile capillaries and hepatic cells.



VAC.

Fig. 2. — The hepatic parenchyma in *Natrix piscator piscator* showing vacuoles.



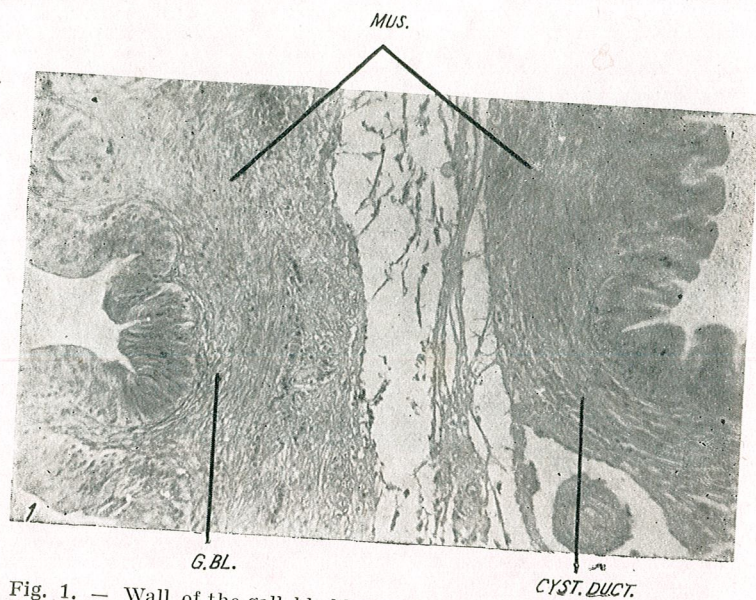


Fig. 1. — Wall of the gall bladder and cystic duct in *Natrix piscator*.

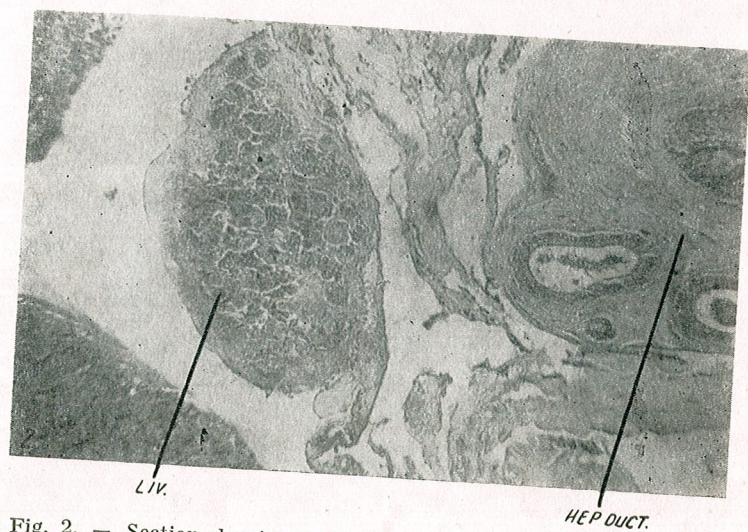


Fig. 2. — Section showing liver lobes and hepatic duct in *Natrix piscator*.

LA MORPHOLOGIE DE L'APEX ABDOMINAL CHEZ  
LES HYMÉNOPTÈRES SYMPHYTES ORTHANDRIQUES  
ET STROPHANDRIQUES\*

PAR

VICTORIA G. IUGA

Les sous-divisions *Orthandria* et *Strophandria* doivent être maintenues, car chez les mâles le rapprochement des primordia des deux paires gonopodiales se réalise de deux manières différentes dans ces deux groupes. Chez les *Tremex*, le 9<sup>e</sup> segment se fend jusqu'à sa base par allongement de sa duplicata sternale et prolongement de l'intersegment 8/9, avec séparation entre l'étage digestif et l'étage génital. Chez les *Athalia*, ce rapprochement résulte d'un double pliage inversé de la paroi tégumentaire ventrale, postérieure au 8<sup>e</sup> sternite. Ainsi la plaque génitale correspond au 9<sup>e</sup> sternite chez les orthandriques et au 8<sup>e</sup> chez les strophandriques.

Il y a une vingtaine d'années, Ross [19] a relevé que les *Symphytaria* ne sont pas monophylétiques. Leur séparation en *Orthandria* et *Strophandria* était basée sur l'inversion de la capsule génitale chez les derniers [7], [6]. L. Berland et F. Bernard [5] ont retenu cette division, mais Muesebeck et Krombein [16] ont séparé le sous-ordre en plusieurs superfamilles. Hennig [10] est d'avis que le groupement des *Strophandria*, basé sur l'unique caractère de simpliomorphisme, ne peut être retenu dans un système phylogénétique.

Nous aussi [11], [12] nous avons considéré l'apex abdominal identiquement conformé chez tous les symphytes, avec la seule différence d'une torsion à 180° de l'organe copulateur mâle. Depuis lors, un examen plus poussé nous a révélé que, si la scie et le perforateur proviennent de morphogénèses semblables, les organes copulateurs mâles s'organisent par des processus morphogénétiques différents chez les *Siricoidea* et les *Tenthredinoidea*.

Nous allons comparer *Tremex fuscicornis* (Fabricius 1787)\*\* et *Athalia rosae* (Linné 1758)\*\*\*. Nos observations ont été faites au stéréo-

\* Nous remercions le Professeur Ch. D. Michener de l'Université de Kansas, U.S.A., pour ses objections à notre première interprétation des *Siricoidea*, qu'il eut l'obligeance de nous communiquer.

\*\* Leg. et det. ingénieur St. Negru.

\*\*\* Leg. et det. d<sup>r</sup> X. Scobiola.

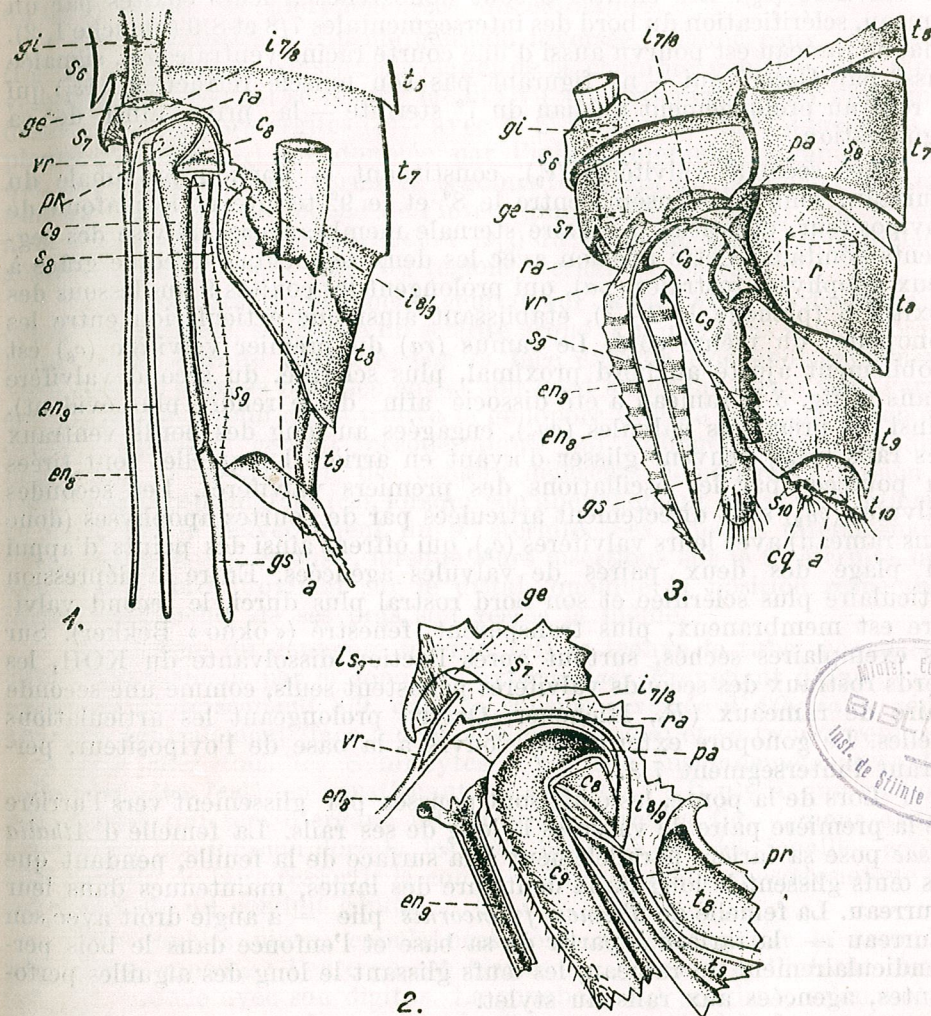
microscope XX, Zeiss-Iéna, sur des exemplaires frais, clarifiés dans la glycérine, examinés par transparence et après dissection. Nos figures, diagrammatiques, sont le résultat de nombreuses esquisses en positions différentes des organes. Les relations exactes et les articulations des sclérites ont été fidèlement reproduites. Le terme « segment » indique les portions tégumentaires, où se sclérifient les plaques tergale et sternale et celui d'« intersegment » (intersegmentale), le tégument intermédiaire membraneux. En employant le terme d'« endites » pour désigner valvules, valves péniales et volselles, nous avons voulu relever qu'ils dépendent de l'angle postéro-interne des coxites, auxquels ils restent reliés par de muscles puissants, fixés sur leurs apodèmes (ap planche II, 7).

Chez les adultes des deux sexes, appartenant à ces deux genres éloignés, l'anus terminal perfore le sommet du 10<sup>e</sup> segment, celui-ci se trouvant en continuité uniquement de la région tergale du segment précédent. Le déplacement dorsal du 10<sup>e</sup> segment commence dès la phase de larve âgée, lors de la croissance des genitalia externes au dépens de la prolifération du disque génital du 9<sup>e</sup> sternite (fig. 3-4 de R. Snodgrass, 1941), qui avance ensuite vers celui du sternite précédent. Chez les *Athalia* (planche I, 3 et 4) des deux sexes, le segment anal est nettement individualisé, peu sclérifié, bien emboîté dans le 9<sup>e</sup> segment et pourvu latéralement d'une paire de pygopodes (soci, Snodgrass, 1933). Chez les *Tremex*, le 10<sup>e</sup> segment est plus réduit, dépourvu de pygopodes dans les deux sexes et fusionné au précédent, constituant le proctigère: totalement sclérifié chez les femelles (1); membraneux, à deux plaques plus durcies (l'épiprocte et le paraprocte) chez les mâles (6).

**L'OVIPOSITEUR.** Selon Bekker [1]-[2], Snodgrass [20], Michener [13-15], ce type de tarière provient de deux paires de gonopodes (8<sup>e</sup> et 9<sup>e</sup>). Mais quoique Snodgrass (dès 1933) ait montré qu'uniquement le premier valvifère possède un ramus, tandis que le second ramus fait partie intégrante du corps du second valvifère, récemment, autant Michener [15] que Oeser [18] admettent que, chez les symphytes, les deux paires de valvules sont pourvues de rameaux. Pourtant, n'ayant pas réussi d'identifier le second rameau chez toutes les espèces étudiées par lui, ce dernier auteur explique son absence par son fusionnement au bord rostral de son valvifère (coxite). De même, confirmant l'interprétation de Michener, Oeser soutient que, chez les symphytes, le premier coxite s'articule uniquement avec le 9<sup>e</sup> tergite, en suspendant ainsi le second coxite.

Nous avons pourtant constaté que, dans l'ovipositeur des *Symphyta*, les valvifères ( $c_8$ ) de la première paire gonopodiale s'articulent avec deux tergites ( $t_8$  et  $t_9$ ), étant situés latéralement à la limite des régions sternale et tergale des segments génitaux (planche I, 1-3). Cette situation intersegmentale 8/9 des 8<sup>es</sup> coxites est plus évidente chez les *Athalia* (3), où les sclérites segmentaux sont peu durcis, surtout après un séjour dans la glycérine, quand les portions télescopées sont désembôitées. Sur les exemplaires intacts de *Tremex* (1-2), les premiers valvifères ( $c_8$ ) paraissent situés entre les tergites 7 et 9, car le 7<sup>e</sup> dépasse et le 9<sup>e</sup> envoie latéro-ventralement deux prolongements rostraux ( $pr$ ), raccourcissant ainsi les insertions de ces coxites au 8<sup>e</sup> segment. Cette nouvelle relation progresse chez les *Aculeata*. Par les articulations mobiles supplémentaires avec le 9<sup>e</sup> tergite sont facilitées les oscillations antéro-postérieures des premiers

## PLANCHE I



Apex abdominal femelle. 1, chez *Tremex fuscicornis*, vue latérale; 2, base de l'ovipositeur; 3, chez *Athalia rosae*, vue latérale d'ensemble.

a, Anus;  $c_8$  et  $c_9$ , coxites;  $en_8$  et  $en_9$ , endites;  $ge$  et  $gi$ , gonopores externe et interne;  $gs$ , gonostyle;  $i_{7/8}$  et  $i_{8/9}$ , inter-segments;  $ls_7$ , muscle rétracteur du rameau (vu par transparence);  $pa$ , prolongement rostral du coxite 9;  $pr$ , prolongement rostral du tergite 9;  $r$ , rectum;  $ra$ , rameau;  $s_6 - s_{10}$ , sternites;  $t_7 - t_{10}$ , tergites;  $vr$ , racine ventrale du rameau.

coxites, qui provoquent les glissements de leurs valvules. Ces oscillations étant plus rapides chez les *Tremex magus* (F.), à l'arrière de chaque coxite l'intersegmentale 8/9, plus longue, peut être distendue ou bien plissée.

Les valvules de la première paire gonopodiale — aiguilles perforantes ( $en_8$ ) chez les *Tremex* ou bien lames de scie ( $en_8$ ) chez les *Athalia* — ont une portion proximale plus mince, ramus ( $ra$ ), adhérente au bord dorsal du valvifère ( $c_8$ ). Les endites 8 sont donc reliés à leurs coxites par un rameau, sclérification du bord des intersegmentales 7/8 et 8/9 (planche I, 2). Chaque rameau est pourvu aussi d'une courte racine ventrale ( $vr$ ), signalée aussi par Oeser, qui — ne figurant pas son muscle rétracteur ( $1s_7$ ) qui la relie au prolongement médian du 7<sup>e</sup> sternite — la prive ainsi de sa signification.

Les seconds valvifères ( $c_9$ ), constituant la portion proximale du fourreau, sont aussi insérés entre le 8<sup>e</sup> et le 9<sup>e</sup> tergite et le plafond de l'ovipositeur, constitué par l'aire sternale membraneuse indivise des segments génitaux. Cette relation avec les deux segments s'effectue grâce à deux apophyses rostrales ( $pa$ ), qui prolongent les coxites 9 au-dessous des gonopodes du même côté. Le ramus ( $ra$ ) du premier valvifère ( $c_8$ ) est mobilement ajusté au bord proximal, plus sclérifié, du second valvifère (dans la fig. 3 le rameau a été dissocié afin de le rendre plus évident). Ainsi les premières valvules ( $en_8$ ), engagées au long des bords ventraux des rails ( $en_9$ ), peuvent glisser d'avant en arrière lorsqu'elles sont tirées ou poussées par les oscillations des premiers valvifères. Les secondes valvules ( $en_9$ ) sont directement articulées par de courtes apophyses (donc sans rameau) avec leurs valvifères ( $c_9$ ), qui offrent ainsi des points d'appui au plage des deux paires de valvules agencées. Entre la dépression articulaire plus sclérifiée et son bord rostral plus durci, le second valvifère est membraneux, plus transparent, fenestré (« okno » Bekker). Sur les exemplaires séchés, surtout après l'action dissolvante du KOH, les bords rostraux des seconds valvifères persistent seuls, comme une seconde paire de rameaux ( $R_2$ , Michener, Oeser), prolongeant les articulations réelles. Le gonopore externe ( $ge$ ) s'ouvre à la base de l'ovipositeur, perforant l'intersegment 7/8.

Lors de la ponte, les œufs sont poussés par glissement vers l'arrière de la première paire de valvules le long de ses rails. La femelle d'*Athalia rosae* pose sa tarière parallèlement à la surface de la feuille, pendant que les œufs glissent le long de la dentelure des lames, maintenues dans leur fourreau. La femelle de *Tremex fuscicornis* plie — à angle droit avec son fourreau — la tarière à partir de sa base et l'enfonce dans le bois perpendiculairement au rameau, les œufs glissant le long des aiguilles perforantes, agencées aux rails du stylet.

\* — L'ORGANE COPULATEUR MÂLE. Suivant Gustafson [9], les genitalia externes des insectes dérivent, pour les deux sexes, des organes similaires des *Thysanura*, le gonopore mâle perforant toujours le 9<sup>e</sup> sternite. Michener [15] a interprété les pinces copulatrices des *Hymenoptera* comme venues des gonopodes du 9<sup>e</sup> segment, sans préciser l'origine du tube pénial et propose le terme d'aedeagus pour l'organe intromittent, résultat de sa fusion avec les valves pénales. Pourtant Snodgrass maintient en 1957 son opinion de 1941, soutenant que les pinces copulatrices des

Hyménoptères ne correspondent pas à des appendices transformés, mais représentent des sclérifications secondaires du phallus, formé par évagination de la paroi du corps.

Quoique les organes copulateurs soient de conformation similaire chez les *Symphyta* orthandriques et strophandriques, l'examen attentif des sclérites avoisinants et de leurs insertions vient de nous convaincre qu'ils résultent de morphogénèses dissemblables.

Chez les mâles à capsule génitale inversée, comme ceux d'*Athalia* (fig. 4), le 8<sup>e</sup> sternite constitue le clapet de la chambre génitale. Son mouvement dorso-ventral se trouve facilité vu son articulation par l'intermédiaire de deux paratergites ( $pt_8$ ) avec le 8<sup>e</sup> tergite. La face dorsale de la plaque génitale ( $s_8$ ) est doublée par l'intersegmentale suivante ( $is_{8/9}$ ), qui, en se prolongeant, forme le tégument ventral du pédoncule génital. Son tégument dorsal dépend de l'intersegmentale 9/10 ( $is_{9/10}$ ), qui le relie à la région sternale membraneuse ( $s_{10}$ ) du segment anal. Le pédoncule génital est donc inséré entre les régions sternales 8 et 10.

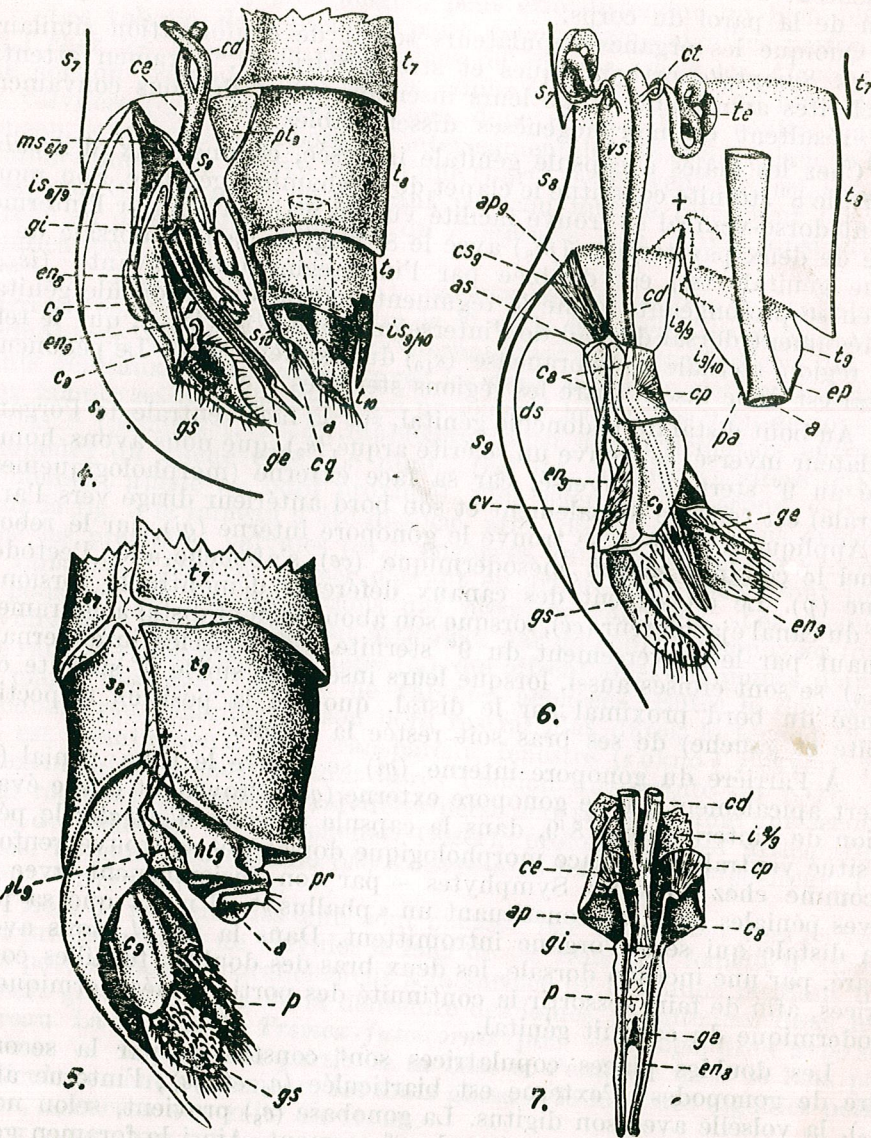
Au bout distal du pédoncule génital, sur la face ventrale de l'organe copulateur inversé, se trouve un sclérite arqué ( $s_9$ ), que nous avons homologué au 9<sup>e</sup> sternite renversé, car sa face externe (morphologiquement ventrale) est tournée dorsalement et son bord antérieur dirigé vers l'arrière. Appliqué à celui-ci, se trouve le gonopore interne ( $gi$ ), sur le rebord duquel le conduit génital mésodermique ( $ce$ ) s'abouche avec l'ectodermique ( $p$ ). Le croisement des canaux déférents démontre la torsion à 180° du canal éjaculateur ( $ce$ ), lorsque son abouchement distal a été ramené en haut par le renversement du 9<sup>e</sup> sternite. Ses muscles intersternaux ( $ms_{8/9}$ ) se sont croisés aussi, lorsque leurs insertions sur le 9<sup>e</sup> sternite ont changé du bord proximal sur le distal, quoique la position respective (droite et gauche) de ses bras soit restée la même.

À l'arrière du gonopore interne ( $gi$ ) se trouve le tube pénial ( $p$ ), ouvert apicalement par le gonopore externe ( $ge$ ). Provenant d'une évagination de l'intersegment 8/9, dans la capsule inversée d'*Athalia* le pénis est situé ventralement (face morphologique dorsale) et se trouve renforcé — comme chez tous les *Symphytes* — par son fusionnement avec les valves pénales ( $en_8$ ), en constituant un « phallus »\*. Il n'y a que sa portion distale qui sert d'organe intromittent. Dans la fig. 4, nous avons séparé, par une incision dorsale, les deux bras des doubles tenailles copulatrices, afin de faire ressortir la continuité des portions mésodermique et ectodermique du conduit génital.

Les doubles pinces copulatrices sont constituées par la seconde paire de gonopodes : l'externe est biarticulée ( $c_8$  et  $gs$ ) ; l'interne aussi ( $en_9$ ), la volselle avec son digitus. La gonobase ( $c_8$ ) provient, selon notre avis, du fusionnement des coxites du 8<sup>e</sup> segment. Ainsi le foramen génital est entouré de la première paire de coxites et du 9<sup>e</sup> sternite renversé. Les endites de ces coxites, valves pénales ( $en_8$ ), insérés sur le rebord du gonopore interne, dépassent distalement le tube pénial (fig. 4). De chaque côté, valve péniale et volselle ( $en_8$  et  $en_9$ ) sont basalement articulées, éta-

\* Nous n'avons pas utilisé le terme d'aedeagus proposé par Ch. Michener, car nous avons désigné ainsi le 10<sup>e</sup> segment, modifié pour loger le pénis ( $sg_{11}$ ), rétracté de l'organe copulateur des *Coleoptera*.

PLANCHE II



Apex abdominal mâle, 4, chez *Athalia rosae*, vue latérale; 5, chez *Tremex fuscicornis*, vue latérale; 6, coupe longitudinale; 7, phallus.

a, Anus; ap, apodème de la valve pénitale; ap<sub>9</sub>, apodème du 9<sup>e</sup> sternite; as, sclérisation arciforme; e<sub>8</sub> et e<sub>9</sub>, coxites; cd, canal déférent; ce, canal éjaculateur; cp, muscle coxo-pénital (par transparence); ca, socius; cs<sub>9</sub>, muscle coxo-sternal, rétracteur de la capsule génitale; cv, muscle coxo-voleslaire (par transparence); ds, duplicata; en<sub>8</sub> et en<sub>9</sub>, endites; ep, epiprocte; ge et gi, gonopores externe et interne; gs, gonostyle; ht, hémitergite; i<sub>8/9</sub> et i<sub>9/10</sub>, intersegments; i<sub>8/9</sub> et i<sub>9/10</sub>, leurs portions sternales; ms<sub>8/9</sub>, muscle intersternal (rétracteur de la capsule génitale); p, pénis; pa, paraprocte; pl, membrane pleurale; pr, proctigère; s<sub>7</sub>-s<sub>10</sub>, sternites; t<sub>7</sub>-t<sub>10</sub>, tergites; te, testicule; vs, vésicule séminale.

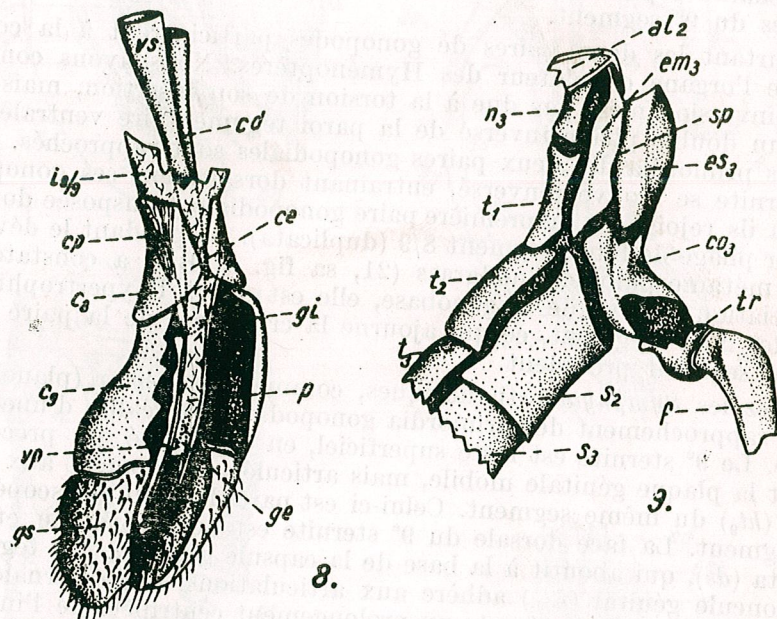
blissant ainsi une relation correspondant à celle de l'ovipositeur, où chaque lame de scie (en<sub>8</sub>) est agencée à son rail (en<sub>9</sub>).

Cette interprétation de l'apex abdominal strophandrique s'oppose à l'opinion courante, qui admet que chez tous les *Symphyla* la plaque génitale représente le 9<sup>e</sup> sternite. Sous l'influence de cet avis général, nous avons aussi homologué au début le sclérite arqué de la base de l'organe copulateur avec le 8<sup>e</sup> sternite, sans remarquer son insertion entre les portions sternales des intersegments 8/9 et 9/10, donc dans la situation du 9<sup>e</sup> sternite. Eliescu [8] n'a pas analysé l'origine de la capsule génitale et la modalité de son inversion, pas plus que Michener [15], pour lequel la double tenaille copulatrice et sa gonobase proviennent uniquement des gonopodes du 9<sup>e</sup> segment.

Pourtant les deux paires de gonopodes participèrent à la constitution de l'organe copulateur des Hyménoptères. Nous avons constaté que son inversion n'est pas due à la torsion de son insertion, mais provient d'un double pliage inversé de la paroi tégumentaire ventrale, par lequel les primordia des deux paires gonopodiales sont rapprochés. Ainsi le 9<sup>e</sup> sternite se trouve renversé, entraînant dorsalement ses gonopodes aussi, où ils rejoignent la première paire gonopodiale, transposée dorsalement par pliage de l'intersegment 8/9 (*duplicata*). Si, pendant le développement métamorphique, Snodgrass (21, sa fig. 4, BR) a constaté une différenciation tardive de la gonobase, elle est due à l'hypertrophie des gonopodes du 9<sup>e</sup> segment, ce qui ajourne la croissance de la paire adjacente du segment précédent.

Chez les *Symphyla* orthandriques, comme les *Tremex* (planche II, 5, 6), le rapprochement des primordia gonopodiaux se réalise d'une autre manière. Le 9<sup>e</sup> sternite est resté superficiel, en continuité du précédent, donnant la plaque génitale mobile, mais articulée directement aux hémitergites (ht<sub>9</sub>) du même segment. Celui-ci est partiellement télescopé dans le 8<sup>e</sup> segment. La face dorsale du 9<sup>e</sup> sternite est doublée d'une étendue *duplicata* (ds), qui aboutit à la base de la capsule génitale. Le tégument du pédoncule génital (i<sub>8/9</sub>) adhère aux articulations tergo-sternales (+) du 9<sup>e</sup> segment (5) et représente un prolongement centripète de l'intersegment 8/9. Basalement, ce prolongement adhère à l'intersegmentale (i<sub>9/10</sub>), qui, réunissant ventralement les angles latéraux des deux hémitergites 9 au proctigère (sg<sub>10</sub>), constitue la paroi ventrale de la cavité abdominale.

Les deux sclérites dorsaux-latéraux (c<sub>8</sub>) de la gonobase sont réunis par un tégument membraneux : le dorsal dépend de l'intersegment 8/9 ; le ventral n'est que la partie basale flexible des gonopodes 9, renforcée proximale par une sclérisation transverse arquée (as), par erreur homologuée par nous (1957) au 8<sup>e</sup> sternite, qui est superficiel. Entre le bec médian apodémique du 9<sup>e</sup> sternite et la dilatation moyenne de cet arc sclérisé s'étend le muscle coxo-sternal (planche II, 6, cs<sub>9</sub>), qui rétracte la capsule dans la chambre génitale. Du côté opposé, à cette même dilatation sclérisée moyenne, se soudent deux minces sclérisations de la base membraneuse des pinces externes (c<sub>9</sub>), dénommées par Boulangé [6] baguette proximale médiane chez *Sirex juvenicus* (L.) et figurées par Snodgrass [21] chez *S. abbottii* Kirby (pl. III, fig. E, d). Chez les *Tremex*, les pinces externes sont biarticulées (c<sub>9</sub> et gs), mais les internes ont un seul



*Tremex fuscicornis*; 8, organe copulateur disséqué; 9, l'articulation de la 3<sup>e</sup> patte.

*al*<sub>2</sub>, Base de l'aile postérieure; *c*<sub>3</sub> et *c*<sub>9</sub>, coxites; *cd*, canal déférent; *ce*, canal éjaculateur; *co*<sub>3</sub>, coxa; *cp*, muscle coxo-pénial postérieur (par transparence); *em*<sub>3</sub>, épiméron; *es*<sub>3</sub>, épisternite; *f*, fémur; *ge* et *gi*, gonopores externe et interne; *gs*, gonostyle; *i*<sub>3/9</sub>, intersegment; *n*<sub>3</sub>, notum; *p*, pénis; *s*<sub>2</sub> et *s*<sub>3</sub>, sternites; *sp*, suture pleurale; *t*<sub>1</sub>-*t*<sub>3</sub>, tergites; *tr*, trochanter; *vp*, valve péniale; *vs*, vésicule séminale.

article (*en*<sub>9</sub>). Nous n'avons figuré que le plus important des muscles coxovolsellaires (*cv*, planche II, 6).

L'organe intromittent (planche II, 7, planche III, 8) correspond de même à un prolongement dorsal tubulaire de l'intersegment 8/9, adhérent sur ses côtés aux valves péniales (*en*<sub>8</sub>). Ces endites sont réunis aux coxites gonobasiques (*c*<sub>8</sub>) par de forts muscles coxo-péniaux, dont nous avons figuré les antérieurs (*cp*). Dans la partie proximale du tube pénial pénètre le canal éjaculateur (*ce*), qui adhère à sa paroi au niveau du gonopore interne (*gi*).

Nous venons de constater que, dans l'apex abdominal des *Orthandria* le 9<sup>e</sup> segment se fend jusqu'à sa base, séparant ainsi ses étages digestif et génital. Ce fendage se produit dès la phase de chrysalide, ainsi que Snodgrass [21] l'a révélé dans la fig. 4, E, où le pédoncule génital est noté *Phl* (phallus). Ce fendage se réalise par prolongement centripète de l'intersegment 8/9, ce qui entraîne dorso-distalement la première paire gonopodiale et par allongement de la duplicata du 9<sup>e</sup> sternite, qui transpose dorso-proximale la seconde paire. Jointes ainsi, les deux paires de gonopodes ont pu être intégrées fonctionnellement et structurellement au cours de la phylogenèse.

Les morphogénèses de l'apex abdominal différant chez les *Siri-coidea* et les *Tenthredinoidea*, la capsule strophandrique n'a pu résulter de l'orthandrique par simple torsion à 180°. Les figures de Snodgrass [21] révèlent — mieux chez *Glipinia polytoma* (Htg.) pl. I, fig. N, que chez *Pteronidea ribesii* (Scop.) pl. II, fig. A — que les relations morphologiques sont différentes de celles existant chez *Sirex abbottii* Kirby, pl. III, fig. B—C.

La position pendant la copulation diffère aussi chez les *Symphya* orthandriques et strophandriques. L'ovipositeur étant très développé chez les premiers, le mâle se pose latéralement par rapport à sa conjointe, en ployant fortement son abdomen (St. Negru [17]). L'ovipositeur étant peu développé chez les seconds, les deux partenaires se trouvent l'un à la suite de l'autre, mais dirigés en sens opposé, le sommet abdominal du mâle sous celui de la femelle (observation courante).

#### DISCUSSION

De ce qui précède, il résulte que l'ovipositeur et les pinces copulatrices des symphytes sont constitués de sclérites homologues, mais autrement agencés. Ces organes sont provenus donc à la suite d'une coaptation phylogénétique des deux paires gonopodiales par des processus intégratifs à des fonctions sexuelles différentes.

Les plaques triangulaires (R. Snodgrass) de l'ovipositeur (planche I, 1—3, *c*<sub>8</sub>) correspondent chez le mâle aux deux sclérites (*c*<sub>8</sub>) de la gonobase, situés dorsalement chez les *Orthandria* (6—8), ramenés ventralement chez les *Strophandria* (4), dérivant dans les deux sexes des coxites de la première paire de gonopodes; ils sont pourvus d'une paire d'endites (*en*<sub>8</sub>), qui sont représentés par les lames de scie ou bien les aiguilles perforantes de la femelle et les valves péniales du mâle. Les plaques oblongues (Snodgrass) de l'ovipositeur correspondent chez le mâle aux basiparamères, articulés avec les paramères (nomenclature de Snodgrass), c'est-à-dire

aux coxites ( $c_9$ ) et leurs gonostyles ( $gs$ ) de la seconde paire de gonopodes, leurs endites ( $en_9$ ) constituent chez la femelle les rails-glissières, qui en fusionnant forment le stylet et, chez le mâle, les volselles libres. Pour les deux sexes, la première paire de gonopodes occupe une situation dorsale par rapport à la seconde. Mais chez la femelle, les endites de la première paire ( $en_8$ ) — lames ou aiguilles — sont situés ventralement, engrenés aux rails ( $en_9$ ), tandis que chez le mâle les valves pénales ( $en_9$ ) se trouvent toujours sur la face dorsale, fusionnant au conduit pénal ectodermique ( $p$ ), évagination de l'intersegment 8/9. Benson [3]—[4] est d'avis que la dentelure des lames de scie et la conformation des valves pénales, qui sont d'ailleurs homologues ( $en_8$ ), varient spécifiquement.

Nous avons constaté que dans l'ovipositeur d'*Athalia* (planche I, 3), les 8<sup>es</sup> coxites occupent une situation intersegmentale, étant articulés avec les deux tergites ( $t_8$  et  $t_9$ ), non seulement avec le 9<sup>e</sup> selon les vues de Michener et Oeser. Chez *Tremex* (planche I, 1, 2) ce déplacement postérieur des 8<sup>es</sup> coxites n'a pas eu lieu, mais ils se trouvent pourtant articulés aux mêmes deux tergites, grâce aux prolongements latéro-proximaux ( $pr$ ) du tergite postérieur. Toujours par un prolongement rostral ( $pa$ ) du coxite postérieur se réalise l'articulation entre les deux coxites du même côté ( $c_8$  et  $c_9$ ).

Autant dans l'organe copulateur orthandrique (planche II, 6—8) que dans le strophandrique (4), la première paire de coxites ( $c_8$ )—située dorsalement par rapport à son sternite ( $s_8$ )—se trouve à l'extrémité distale de l'intersegment 8/9, étant articulée avec la seconde paire ( $c_9$ ), du bout proximal de l'intersegment suivant ( $ds$  et  $is_{9/10}$ ).

On constate que chez l'adulte, les appendices thoraciques ont subi le même déplacement vers l'arrière, non signalé jusqu'à présent. S'ils occupent une situation segmentale chez toutes les larves (Yuasa, [24]), les pattes antérieures s'articulent uniquement avec le prothorax chez l'adulte aussi, les deux paires suivantes ont été poussées intersegmentalement lors du développement des épisternes. Ainsi, chez les *Tremex* (planche III, 9), le 3<sup>e</sup> coxa est articulé avec le 3<sup>e</sup> épisterne ( $es_3$ ) et le second sternite abdominal ( $s_2$ ), le premier, réduit, n'étant pas individualisé. Le glissement du 3<sup>e</sup> coxa entre le thorax et l'abdomen peut être constaté aussi sur les figures d'autres auteurs. Pour les symphytes (*Schizocerus*), dans la fig. 739 A du *Traité de Zoologie* de P. Grassé,\* pour les aculéates dans les fig. 21—23 de Michener [14], où la seconde cavité coxale est entourée des 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> épisternes, tandis que le premier sternite, vestigial, se trouve à l'angle postéro-latéral de la 3<sup>e</sup> cavité coxale. Les mêmes relations sont reproduites dans les fig. 30 et 33 de Snodgrass [22]. Comme chez les adultes d'autres *Insecta*, les deux dernières paires de pattes des *Hymenoptera*\*\* ont une situation intersegmentale, quoique généralement on leur assigne une position segmentale. C'est justement à cause de l'insertion des pattes postérieures entre le thorax et l'abdomen, que la constriction de la taille s'est produite à l'arrière du premier segment abdominal (propodeum).

\* Reproduite d'après H. Weber, *Lehrbuch der Entomologie*, G. Fischer, Jena, 1933.

\*\* De même, chez les Vertébrés, les poumons sont considérés organes thoraciques, malgré leur apparition comme diverticules de la paroi postérieure du pharynx pendant le développement ontogénétique.

Si les pinces copulatrices sont homologues chez les *Orthandria* et les *Strophandria*, elles proviennent pourtant de morphogénèses différentes. Chez les derniers, la chambre génitale et l'organe copulateur résultent par suite d'un double pliage en sens inversé des intersegmentales 8/9 (pliée vers l'avant) et 9/10 (vers l'arrière), avec rapprochement des primordia gonopodiaux et séparation du 8<sup>e</sup> sternite comme clapet. Chez les premiers, le 9<sup>e</sup> segment, partiellement télescopé, se fend en deux étages, digestif et génital, lors de la prolifération centripète de l'intersegment 8/9 (avec ses primordia gonopodiaux) à partir des articulations tergo-sternales; le 9<sup>e</sup> sternite se sépare comme clapet par allongement de sa duplicata, ce qui rapproche les deux paires des primordia gonopodiaux. Dans les deux cas, les deux paires gonopodiales sont amenées dans la chambre génitale, quoique par d'autres processus de croissance différentielle. Si elles sont situées dorsalement par rapport aux plaques génitales ( $s_8$  et  $s_9$ ), elles restent extérieures (morphologiquement ventrales) en ce qui concerne leur tégument doublant (duplicata), comme chez les *Thysanura*. C'est probablement à cause de ce déplacement des gonopodes dans la chambre génitale, que Snodgrass n'ait pas admis l'origine appendiculaire de l'organe copulateur des *Hymenoptera*, tout en l'acceptant pour d'autres ordres. Mais la difficulté de l'explication du déplacement du complexe phallique dorsalement par rapport aux plaques génitales persiste, même si on le considère provenu d'une simple évagination de la paroi abdominale, sans participation des gonopodes.

Les structures morphologiques différentes de l'apex abdominal chez les mâles des *Siricoidea* et *Tenthredinoidea* prouvent, elles aussi, le polymorphisme des symphytes, soutenu par Ross, Muesebeck, Krombein et Hennig. Mais contrairement à l'opinion de ce dernier auteur, nous sommes d'avis que les groupements d'*Orthandria* et de *Strophandria* doivent être maintenus, car leurs chambres génitales résultent de morphogénèses différentes. De même, nous trouvons que la famille des *Xyelidae* ne peut plus être maintenue dans un système phylogénétique et que la séparation des genres à capsule inversée de ceux où ce renversement ne s'est pas produit s'impose. Pourtant, n'ayant pas eu l'occasion de les étudier, nous ne pouvons pas apprécier si l'inversion de l'organe copulateur résulte des mêmes modifications structurales.

#### CONCLUSIONS

L'ovipositeur et les pinces copulatrices sont des organes homologues, Ils sont provenus par coaptation phylogénétique des deux paires gonopodiales, employées à la ponte et pour maintenir la femelle. L'organe intro-mittent — phallus — provient d'une évagination (pénis) de l'intersegmentale 8/9, fusionnée avec les endites (valves pénales) de la première paire de gonopodes. La division des *Symphyta* en *Orthandria* et *Strophandria* doit être maintenue, car chez les mâles l'apex abdominal s'organise par des morphogénèses différentes, la plaque génitale correspondant au 9<sup>e</sup> sternite chez les premiers et au 8<sup>e</sup> chez les seconds.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Беккер Э., Тр. иссл. Ин. Зоол. Москва, 1925, 1, 155—206.
2. — Русский Зоол. журн., 1930, 10, 18—31.
3. BENSON R. B., Bull. British Mus. Entomology, 1962, 11, 6, 335—382.
4. — Proc. Ent. Soc. London, Taxonomy, 1965, 34, 9—10, 105—112.
5. BERLAND L., BERNARD F., *Ordre des Hyménoptères* in Grassé P., *Traité de Zoologie*, Masson Paris, 1951.
6. BOULANGÉ H., Mém. Trav. Fac. Cath., Lille, 1924, 28.
7. CRAMPTON G. C., Proc. Ent. Soc. Washington, 1919, 21, 129—148.
8. ELIESCU GR., Z. Ang. Ent., 1932, 19, 1—67, 188—206.
9. GUSTAFSON J. F., Microentomology, 1950, 15, 35—67.
10. HENNIG W., Beitr. Ent., 1953 (Sonderheft).
11. IUGA VICTORIA G., Tr. Mus. Hist. Nat. « Gr. Antipa », 1957, 1, 21—66.
12. IUGA VICTORIA G., SCOBIOLA X., ROȘCA A., Rev. Biol., 1959, 4, 301—331.
13. MICHENER CH. D., Ann. Ent. Soc. Amer., 1944, 37, 336—351.
14. — Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 1944, 82, 6.
15. — *Hymenoptera*, in Tuxen S. L., *Taxonomist's glossary of genitalia in insects*. E. Munksgaard, Copenhagen, 1956.
16. MUESEBECK C. F. W., KROMBEIN K. V., *Hymenoptera of America North of Mexico*, in *Agricultural Monograph*, Washington, 1951, 1958, 1—2.
17. NEGRU ȘT., Bul. st. Sec. Biol. (Zoologie), 1957, 9, 211—225.
18. OESER R., Mitt. Zool. Mus. Berlin, 1961, 37, 3—119.
19. ROSS H., Illinois Biol. Monographs, 15, 2, 1937.
20. SNODGRASS R. E., Smithsonian Misc. Coll., 1933, 89, 8.
21. — Ibidem, 1941, 99, 14.
22. — *Anatomy of the Honey Bee*. Comstock Publ., Ass., New-York, 1956.
23. — Smithsonian Misc. Coll., 1957, 135, 6.
24. YUASA H., Illinois Biol. Monographs, 1922, 7.

Reçu le 4 mai 1966

Muséum d'Histoire Naturelle « Gr. Antipa »

## LE SYSTÈME GÉNITAL FEMELLE DE L'ORDRE GEOPHILOMORPHA

PAR

C. PRUNESCO

L'étude anatomo-microscopique comparative du système génital femelle de *Geophilomorpha* conduit à la précision des rapports des organes de ce système avec l'atrium, ainsi qu'à la description de certaines formations encore inconnues. Il s'agit de glandes annexes supplémentaires (fam. des *Mecistocephalidae*), des glandes annexes ventrales et des glandes intramurales.

L'auteur est d'avis que le système génital femelle actuel des *Geophilomorpha* dérive d'un système génital primitif du type *lithobiomorphoïde*; il est moins évolué que celui des *Scolopendromorpha*.

De toutes les familles étudiées dans le présent travail, la fam. des *Mecistocephalidae* est celle qui possède un système génital plus primitif.

Il existe peu d'études concernant le système génital femelle de cet ordre. Fabre [1] et Schaufler [9] ont disséqué et décrit sommairement le système génital de quelques espèces. De leurs travaux il ressort que l'oviducte est unique et qu'il n'existe qu'une seule paire de glandes annexes. Fahlander [2] montre le non-fondé de l'opinion des auteurs susmentionnés sur le fait que l'oviducte serait impair. Récemment, Prunesco [5] présente une brève description de ce système chez *Himantarium gabrielis*.

Le présent travail, portant sur plusieurs espèces étudiées grâce aux coupes en série, tente de donner une description correcte du système génital des *Geophilomorpha*, d'établir les affinités de ce système dans la série des Chilopodes, ainsi que d'indiquer le mode d'évolution du système génital de l'ordre *Geophilomorpha*.

### MATÉRIEL ET TECHNIQUE

L'étude a porté sur plusieurs individus femelles des familles: *Mecistocephalidae*, (*Dicelophilus carniolensis*), *Geophilidae* (*Pachimerium ferrugineum*, *P. tristicum* et *Scolioptanes acuminatus*) et *Himantariidae* (*Himantarium gabrielis*).

Le matériel récolté de différentes localités de la Roumanie par C. Prunesco et Z. Matic a été déterminé par Z. Matic. A cette occasion nous nous faisons un plaisir de lui adresser ici nos vifs remerciements.

Fixation dans les liquides de Duboscq-Brasil, Bouin ou alcool éthylique à 70–80°. Inclusion à la paraffine. Coloration des coupes sériées de 7 à 10  $\mu$  d'épaisseur, à l'hémalum-érythro-

### DESCRIPTION DU SYSTÈME GÉNITAL FEMELLE

Ce système, chez l'ordre *Geophilomorpha*, est composé par les organes suivants:

Un ovaire, deux oviductes, deux réceptacles séminaux, deux ou trois paires de glandes annexes et un atrium génital.

L'ovaire, organe impair, très allongé, à position médiane, est situé dorsalement par rapport à l'intestin. Il se prolonge par deux oviductes

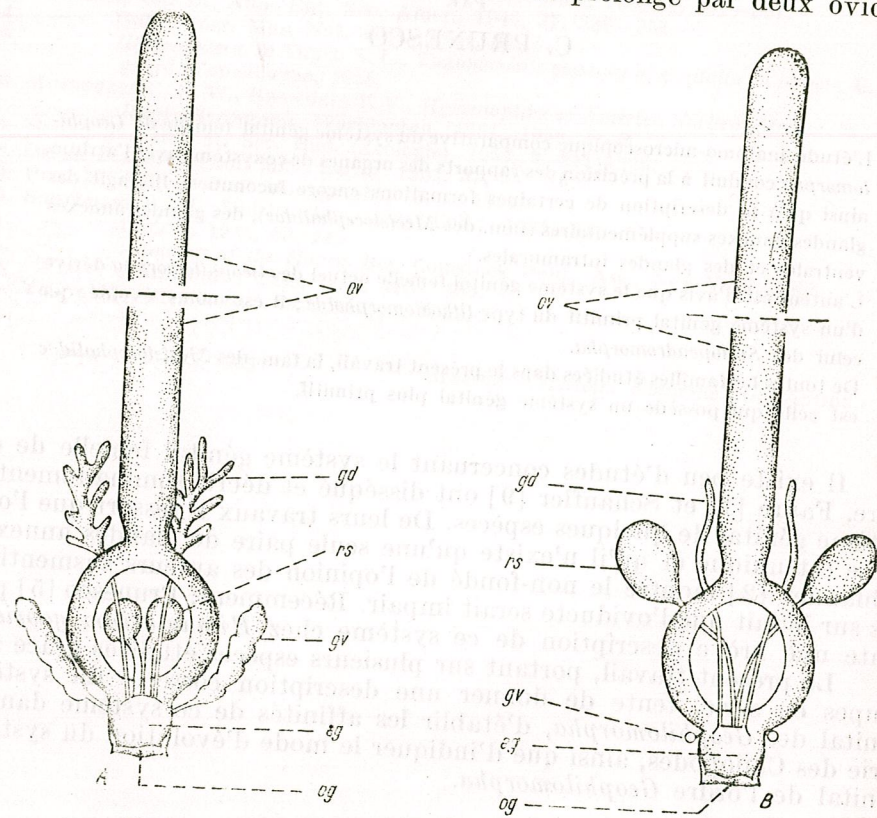


Fig. 1. — Système génital femelle, vue dorsale (schéma);  
A, *Dicellogophilus carniolensis*; B, *Himantarium gabrielis*; ov, ovaire; gd, glande annexe dorsale; gv, glande annexe ventrale; rs, réceptacle séminal; ag, atrium génital.

(et non pas par deux branches de l'oviducte unique comme on l'admet d'habitude chez les Chilopodes) [2]. Les deux oviductes entourent l'intestin postérieur, se réunissent sous celui-ci et s'ouvrent dans l'atrium génital. La paroi de l'ovaire est formée par un épithélium unistratifié, de nature conjonctive. Lorsque l'ovaire est dilaté, sa paroi s'amincit et devient lisse.

Dans les zones où les ovocytes en croissance sont absentes, le lumen se rétrécit et la paroi de l'ovaire se ride d'une manière particulière: vers le lumen la paroi est lisse; vers l'extérieur, les rides se forment au dépens du surplus des cellules de la paroi ovarienne. L'ovaire est recouvert d'une couche séreuse conjonctive. L'ovogenèse se produit à tous les niveaux de l'ovaire. Une ou deux artères issues du vaisseau dorsal accompagnent l'ovaire. Cette structure (parois ridées vers l'extérieur) se retrouve aussi dans les oviductes.

Les réceptacles séminaux (une paire) sont des formations sphériques ou cylindriques — ovoïdes. Ils sont sphériques chez *Scoliopterus acuminatus* et cylindriques chez *Pachimerium ferrugineum*. Leurs canaux partent de l'extrémité postérieure; ils sont minces à parois entourées d'une forte thèque de muscles striés. Les canaux des réceptacles sont relativement longs et droits. Fait exception *Dicellogophilus* chez qui ces canaux sont courts et forment, avant leur aboutissement dans l'atrium, une anse qui nous rappelle la même disposition chez les *Lithobiidae* [4].

Les parois des réceptacles séminaux sont formées par un épithélium unistratifié, à cellules prismatiques ou cubiques dont les noyaux se trouvent à différents niveaux. Vers le lumen, cet épithélium secrète une forte cuticule. A l'extérieur, les réceptacles séminaux sont couverts d'une couche de muscles circulaires. Les canaux de ces réceptacles sont très étroits et leurs parois sont constituées par un épithélium à cellules aplaties ou cubiques à noyaux centraux. Ces cellules secrètent vers le lumen une cuticule épaisse qui le rétrécit considérablement. La couche de muscles circulaires qui entoure les canaux est extrêmement vigoureuse. Les noyaux de ces muscles sont disposés dans les zones extérieures des structures musculaires respectives, dans lesquelles le cytoplasma présente seulement de rares fibrilles contractiles.

Les glandes annexes sont au nombre de trois paires chez *Dicellogophilus*: glandes supplémentaires, glandes dorsales et glandes ventrales. Les autres types étudiés ne possèdent que deux paires de glandes: glandes dorsales et ventrales.

Les glandes supplémentaires sont une paire de glandes minuscules (40 à 60  $\mu$  longueur). Leurs canaux s'unissent en plan transversal et débouchent dans le diverticule dorsal rudimentaire de l'atrium. La présence de ces glandes seulement chez *Dicellogophilus* paraît souligner l'état primitif de la fam. des *Mecistocephalidae*.

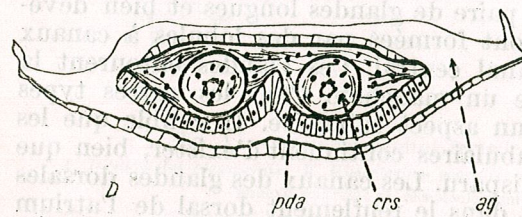
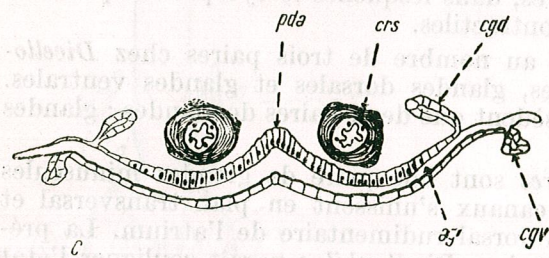
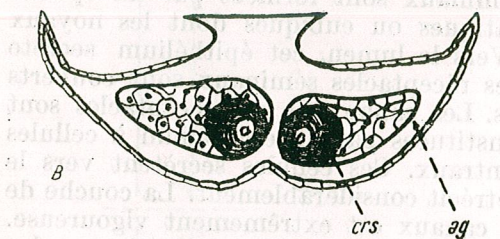
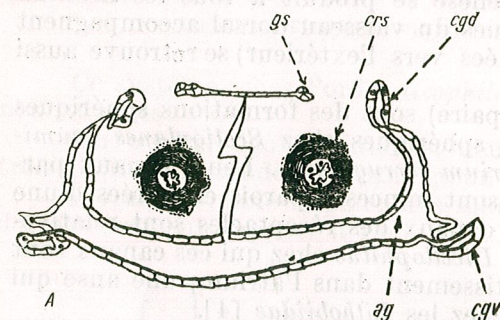
Les glandes dorsales sont une paire de glandes longues et bien développées. Chez *Dicellogophilus* elles sont formées par des lobules à canaux propres qui s'ouvrent dans un canal central. Ces glandes entourent la partie caudale de l'ovaire comme un manchon. Chez les autres types étudiés, les glandes dorsales ont un aspect tubulaire. Il semble que les lobules glandulaires des glandes tubulaires continuent d'exister, bien que leur individualité anatomique ait disparu. Les canaux des glandes dorsales sont longs et étroits. Ils s'ouvrent dans le renflement dorsal de l'atrium génital.

Les glandes ventrales sont deux formations symétriques, relativement petites. Leurs dimensions réduites pourraient expliquer le fait qu'elles n'aient pas été remarquées jusqu'à présent. Les canaux de ces glandes débouchent dans les zones latéro-ventrales de l'atrium, environ au niveau



où s'ouvrent aussi les canaux des glandes dorsales. Chez les types étudiés, les glandes ventrales diffèrent par les traits suivants :

a) dimensions — chez *Dicellyphilus* elles sont relativement grandes par rapport aux autres types; chez *Himantarium*, qui possède les plus



petites glandes, elles prennent l'aspect de formations ovoïdes d'environ 80  $\mu$  de longueur ayant chacune un canal court qui débouche dans la partie latéro-ventrale de l'atrium;

b) structure. — chez *Dicellyphilus* elles sont formées de lobules bien individualisés qui s'ouvrent par leurs canaux dans un canal central. Chez les autres types, les lobules perdent leur individualité.

L'atrium génital est une formation d'origine ectodermique aplatie dorso-ventralement, dans laquelle aboutissent tous les canaux du système génital et qui communique à son tour avec l'extérieur. L'extrémité antérieure de l'atrium n'est pas nettement marquée, mais il est certain que la jonction des deux oviductes sous l'intestin se produit en dehors de l'atrium.

Fig. 2. — Coupes transversales de l'atrium génital femelle;

A, B, *Dicellyphilus carniolensis*; C, D, *Himantarium gabrielis*. A, C, Débouchement des canaux des glandes dorsales et ventrales; B, D, Débouchement des canaux des réceptacles séminaux; pda, paroi dorsale de l'atrium; gs, glande supplémentaire; cgd, canal de la glande dorsale; cgv, canal de la glande ventrale; crs, canal du réceptacle séminal; ag, atrium génital.

Les canaux des réceptacles séminaux débouchent de la façon suivante dans l'atrium: les deux canaux se rapprochent beaucoup de la paroi dorsale de l'atrium, puis ils sont recouverts d'une thèque de cellules épithéliales en même temps que le tissu conjonctif qui les entoure. Cette formation,

dont la partie essentielle est constituée par les canaux des réceptacles séminaux, pénètre dans un léger renflement de l'atrium où elle s'y maintient sur une longueur de 10 à 30  $\mu$  puis disparaît. Son plancher est formé par le prolongement du plafond de l'atrium jusqu'au niveau du point antérieur à sa pénétration dans le renflement.

Chez *Dicellyphilus* les canaux des réceptacles sont très courts; avant de se réunir à la paroi de l'atrium, ils forment chacun une anse symétrique, ce qui les rapproche des Lithobiidés. L'atrium de ce type présente une étroite mais vigoureuse évagination médio-dorsale, semblable à une crête, orientée longitudinalement. Les canaux des réceptacles sont disposés à droite et à gauche de cette évagination, puis pénètrent séparément dans le renflement dorsal de l'atrium.

Les canaux des glandes dorsales s'ouvrent latéralement dans ce renflement, au niveau où les canaux des réceptacles pénètrent dans l'atrium. Chez *Himantarium* les canaux des glandes dorsales débouchent entre les zones basales du renflement et la paroi de l'atrium. Les canaux des glandes supplémentaires de *Dicellyphilus* se joignent formant un canal transversal qui s'ouvre dans l'évagination médio-dorsale de l'atrium, par conséquent aussi dans le renflement dorsal.

Les parois de l'atrium ne possèdent pas de muscles en propre. Parmi les cellules des parois dorsales et ventrales de l'atrium s'insère une musculature puissante transversale (le second point d'insertion est la paroi du corps) qui contribue au renflement dorso-ventral de l'atrium.

Au niveau postérieur, l'atrium s'aplatit et ses parois latérales disparaissent, de sorte que l'orifice génital est formé par une ouverture très large. Chez toutes les espèces étudiées, dans ces zones les parois sont humectées par la sécrétion de certaines glandes acineuses intra-pariétales. Chez *Pachimerium* les glandes incluses dans la paroi ventrale sont formées par un grand nombre d'acines rangés l'un près de l'autre; mais dans la paroi dorsale nous ne trouvons que deux glandes acineuses allongées et bien développées.

#### DISCUSSIONS

##### 1. Les affinités du système génital femelle de l'ordre Geophilomorpha, dans la série des Chilopodes

Le système génital de l'ordre *Geophilomorpha* est plus proche de celui de l'ordre *Lithobiomorpha*. Ce rapprochement est démontré par la présence d'un système homologue de glandes annexes, par l'aspect et la structure de la majorité des organes du système génital et par le renflement dorsal de l'atrium qui suggère un diverticule dorsal rudimentaire.

La présence chez *Scutigera* (C. PrunESCO, in letteris) chez *Polybothriini* [4] et chez *Dicellyphilus* d'une évagination longitudinale de l'atrium dans la zone où les canaux des réceptacles séminaux pénètrent dans ce dernier, prouve l'homologie de cette formation et la possibilité de son existence chez le Chilopode primitif.

Chez *Scutigera*, *Lithobiomorpha* et *Geophilomorpha*, les canaux des réceptacles séminaux s'ouvrent au sommet d'une papille qui pénètre

dans l'atrium, tandis que chez *Craterostigomomorpha* [7] et chez *Scolopendromorpha* [3] [6] [8] ces canaux débouchent sur la surface cavitaire de la paroi de l'atrium.

Nous pouvons donc supposer que le système génital femelle des *Geophilomorpha* — plus primitif que celui des *Scolopendromorpha* — peut dériver d'un système génital primitif du type lithobiomorpoïde, appartenant à un ancêtre de la branche pleurostigmophore actuelle. A l'appui de cette opinion nous pouvons invoquer l'organisation du système génital mâle des *Geophilomorpha* (C. Prunesco, *in letteris*).

## 2. L'évolution du système génital femelle de l'ordre *Geophilomorpha*

En comparant les types étudiés, la fam. des *Mecistocephalidae* paraît être la plus primitive. Ses glandes dorsales et ventrales sont grandes, formées par des lobules bien individualisés, suggérant les glandes homologues des *Lithobiidae* [4]. Les glandes supplémentaires sont uniques dans la classe des *Chilopoda*. Leur présence ainsi que celle de l'évagination longitudinale de l'atrium plaident en faveur de l'état plus primitif de cette famille. Le corps formé par un nombre relativement peu élevé de segments (environ 40), la ressemblance de la forme de la tête et de celle du tergite forcipulaire avec le type collectif qui est *Craterostigmus*, sont encore d'autres éléments qui soulignent le stade primitif de la fam. des *Mecistocephalidae*.

En comparant *Dicelophilus* à *Himantarium* (environ 175 segments) nous pouvons nous imaginer la voie qu'a suivi dans son évolution le système génital de l'ordre *Geophilomorpha*: les glandes supplémentaires ont disparu, celles annexes dorsales sont devenues tubulaires tout en s'amointrissant; les glandes annexes ventrales ont subi les mêmes transformations.

## BIBLIOGRAPHIE

1. FABRE J. H., Ann. Sci. Nat., Paris, 1855, Série 4, 3.
2. FAHLANDER K., Zool. Bidrag fran Uppsala, 1938, 17.
3. JANGI B. S., Ann. and Mag. of Nat. Hist., 1957, Série 12, 10, 3.
4. PRUNESCO C., Rev. roum. Biol., Série Zool., 1965, 10, 1.
5. — Rev. roum. Biol., Série Zool., 1965, 10, 2.
6. — Rev. roum. Biol., Série Zool., 1965, 10, 4.
7. — Rev. roum. Biol., Série Zool., 1965, 10, 5.
8. — Rev. roum. Biol., Série Zool., 1965, 10, 6.
9. SCHAUFLER B., Verzh. Zool. Bot. Gas., Wien, 1889, 39.

Reçu le 20 mai 1966

Institut de Biologie « Traian Săvulescu »  
Laboratoire de Morphologie animale

## L'IMPORTANCE DE L'ÉQUILIBRE OSMOTIQUE POUR L'ACTIVITÉ DES MUSCLES LISSES

PAR

N. ŞANTA et R. MEŞTER \*

On a étudié l'automatisme et la réactivité aux excitants électriques et à l'acétylcholine de certains muscles lisses (intestin de Carpe, estomac de Grenouille, iléon terminal de Cobaye) dans différentes « solutions physiologiques » iso- et anisotoniques. Les résultats ont montré que dans des solutions (Ringer et Tyrode) anisotoniques (hypo- ou hypertoniques) ces préparations musculaires manifestent des altérations de l'automatisme et de la réactivité, proportionnelles au degré du déséquilibre osmotique réalisé. Dans une solution isotonique de NaCl se produisent aussi des troubles plus ou moins exprimés, mais la réactivité aux excitants électriques et à l'acétylcholine résiste mieux que dans les solutions de Ringer et de Tyrode anisotoniques. La conclusion est que pour ces muscles l'équilibre osmotique est plus nécessaire que l'équilibre ionique.

Les animaux supérieurs jouissent d'une grande stabilité de leur milieu intérieur. En conséquence, les rapports qui existent entre les composants du sang se maintiennent eux aussi constants. C'est un fait dûment fondé. On sait également que cette stabilité est nécessaire à l'organisme et qu'elle est assurée par un travail physiologique plus ou moins intense.

Quant aux substances minérales du milieu intérieur, vu leur grande importance, d'une part pour l'équilibre osmotique des cellules et d'autre part pour leur équilibre ionique, elles sont certainement indispensables à la vie de ces éléments morpho-physiologiques des organismes [1], [4], [5], [8], [10].

En étudiant depuis quelques années certains aspects de la physiologie des muscles lisses, nous nous sommes demandé quelle était l'importance de ces deux rapports (osmotique et ionique) pour leur activité normale et quelles sont les conséquences des déséquilibres possibles?

Vu le fait que sur ce problème les données de la littérature ne sont pas assez claires, nous avons entrepris les expériences dont les résultats sont présentés dans ce travail.

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

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expériences ont été faites sur des préparations isolées d'intestin de Carpe, d'estomac de Grenouille et d'iléon terminal de Cobaye.

L'isolation et le montage de ces préparations dans les bains d'organes isolés ont été faits selon le procédé décrit par l'un de nous dans d'autres travaux antérieurs [6] [7].

On a étudié l'activité motrice automatique et la réactivité des préparations aux différentes excitations électriques et à l'acétylcholine.

Pour l'intestin de Carpe et pour l'estomac de Grenouille on a utilisé comme milieu une solution de Ringer ayant la composition suivante : NaCl, 650 ; KCl, 14 ; CaCl<sub>2</sub>, 12 ; NaHCO<sub>3</sub>, 20 ; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5 mg pour 100 ml H<sub>2</sub>O.

En obtenant avec cette solution des résultats supérieurs à ceux obtenus avec les solutions « d'été » et respectivement « d'hiver » recommandées par Wachholder [9], nous l'avons utilisée de préférence dans toutes les saisons.

Les préparations d'iléon terminal de Cobaye étaient baignées dans une solution de Tyrode ayant la composition suivante : NaCl, 800 ; KCl, 20 ; CaCl<sub>2</sub>, 20 ; MgCl<sub>2</sub>, 10 ; NaHCO<sub>3</sub>, 100 ; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5 ; glucose, 100 mgs pour 100 ml H<sub>2</sub>O.

Ces solutions ont été considérées « normales » — isotoniques et équilibrées du point de vue ionique.

On a utilisé aussi des solutions hypo- et hypertoniques.

Les solutions hypotoniques ont été préparées soit en diluant les solutions isotoniques, soit en dissolvant les quantités de substances nécessaires pour 1 litre de solution normale dans des volumes d'eau plus grands, allant de 1 100 jusqu'à 2 000 ml, c'est-à-dire en réduisant les concentrations jusqu'à 1/2. On a utilisé parfois aussi des dilutions plus faibles : de 1/3 et même de 1/4 de la concentration normale.

Les solutions hypertoniques ont été préparées en dissolvant les quantités de substances nécessaires pour 1 litre de solution normale dans les volumes plus petits allant de 900 à 400 ml H<sub>2</sub>O. Généralement, on a utilisé les solutions deux fois plus concentrées que la normale.

## RÉSULTATS

## 1. Expérience avec des solutions isotoniques

Dans nos conditions expérimentales, les préparations d'intestin de Carpe ont manifesté un automatisme très modéré dans toutes les saisons. Leur réactivité aux excitants électriques et à l'acétylcholine a été également très faible.

Dans les mêmes conditions, l'activité spontanée et la réactivité des préparations d'estomac de Grenouille ont été toujours beaucoup plus marquées.

L'iléon terminal de Cobaye (à la température de +38—39°C et bien aéré) exécutait une activité intense durant quelques heures, puis commençait à diminuer progressivement. La réactivité aux excitants électriques et à l'acétylcholine était aussi très satisfaisante et évoluait dans le même sens que l'activité spontanée, mais, généralement, l'automatisme disparaissait plus vite.

## 2. Le comportement des préparations dans les solutions anisotoniques

*Solutions hypotoniques.* La diminution de la concentration saline du milieu de nos préparations a provoqué un arrêt rapide de l'automatisme

tisme, même dans le cas où la dilution était à peine de 10 à 30%, condition dans laquelle la réactivité aux excitants électriques restait pratiquement normale.

Maintenues un certain temps (par exemple une heure) dans une solution faiblement hypotonique, les préparations regagnaient leur automatisme qui se poursuivait ensuite longuement. Parfois, même dans les solutions à concentration abaissée à 1/2, le retour à l'activité habituelle a été possible après un laps de temps de 2 à 7 heures.

Sous l'action des excitants électriques, les préparations devenues inactives dans une solution hypotonique ont été souvent temporairement réactivées.

Dans les solutions diluées en proportion de 50% les préparations qui avaient perdu leur automatisme pouvaient redevenir actives sous l'influence de quelques excitations électriques adéquates. Ultérieurement leur automatisme s'altérait de nouveau et finalement disparaissait.

En remettant les préparations dans des solutions un peu plus concentrées, la motilité automatique recommençait, quoique auparavant un tel milieu ait été insatisfaisant.

Dans les cas où les préparations étaient maintenues longtemps dans une solution profondément hypotonique (par exemple 1/3 ou 1/4 de la concentration normale), leur activité était totalement et définitivement abolie.

En général, la réactivité à l'acétylcholine disparaissait beaucoup plus vite qu'aux excitants électriques.

*Solutions hypertoniques.* Dans les solutions hypertoniques le comportement des préparations a été aussi plus ou moins influencé, en fonction du degré des concentrations.

Ces solutions déterminaient d'abord une rapide inhibition de l'automatisme et ensuite une diminution progressive de la réactivité aux excitants électriques, en finissant par une abolition totale.

Après quelques lavages successifs avec une solution normale, l'activité et la réactivité des préparations se rétablissaient complètement, surtout si la durée de l'action de la solution hypertonique n'était pas trop longue.

## 3. Le comportement des préparations dans les solutions isotoniques de NaCl

Quoique, dans la pratique médicale, les solutions isotoniques de NaCl soient considérées comme « physiologiques », elles ne peuvent pas satisfaire aux nécessités métaboliques des cellules ; leur incapacité n'est que trop évidente quand on perfuse avec de telles solutions le cœur isolé de Grenouille.

Quant au comportement des préparations de muscles lisses dans ces solutions, les résultats nous ont montré qu'en remplaçant la solution physiologique normale par une solution de NaCl de 0,65% il se produisait toujours d'abord une stimulation de courte durée suivie d'une inhibition durable de l'activité automatique.

Ces effets étaient généralement plus évidents sur des préparations en activité depuis plusieurs heures. Pendant ce laps de temps diminuait aussi leur réactivité aux excitants électriques, pour disparaître ensuite totalement.

Après un lavage au sérum physiologique normal, l'automatisme recommençait et la réactivité aux excitants électriques et à l'acétylcholine se rétablissait intégralement.

Au cours de ces expériences nous avons remarqué aussi que dans une solution isotonique de NaCl les préparations restaient sensibles à l'acétylcholine beaucoup plus longtemps que dans les solutions anisotoniques complexes.

#### DISCUSSIONS

Sur le comportement des muscles lisses dans les solutions salines anisotoniques il y a très peu de recherches. Les expériences classiques sur les autres muscles et surtout sur le myocarde ont conduit à la conclusion que l'isotonie et un certain équilibre ionique sont absolument indispensables à tous les éléments morphophysiologiques de l'organisme et par conséquent aux fibres musculaires aussi.

Dale (1913) et Goto (1916) ont constaté que la diminution de la concentration du sérum physiologique de Ringer favorisait la réactivité des préparations aux excitants électriques, tandis que l'augmentation de la concentration provoquait un effet contraire. D'autre part, Florkin [2] a remarqué que la chronaxie des muscles de la cloaque de Grenouille diminuait non seulement dans les solutions hypertoniques mais aussi dans les solutions hypotoniques.

De l'ensemble de nos expériences il résulte indubitablement que l'activité automatique et la réactivité aux excitants des muscles lisses s'altèrent d'autant plus vite et plus profondément que l'anisotonie est plus grande. Il semble donc que l'isotonie est beaucoup plus nécessaire aux muscles lisses qu'un équilibre ionique rigoureux. La présence des ions minéraux est tout de même nécessaire. Le fait a été déjà démontré par Lillie [3]. Un milieu isotonique représenté par une seule substance — même si celle-ci est le NaCl — ne peut pas constituer une ambiance satisfaisante à la vie cellulaire, mais reste quand même plus favorable qu'un milieu anisotonique complexe et « équilibré » du point de vue ionique.

#### CONCLUSIONS

1. Dans des solutions de Ringer et de Tyrode anisotoniques les préparations de muscles lisses (estomac de Grenouille et iléon terminale de Cobaye) subissent une dégradation de leur automatisme et de leur réactivité selon le degré du déséquilibre osmotique réalisé.

2. Dans une solution isotonique de NaCl se produisent aussi des troubles physiologiques considérables, mais généralement moins graves que dans les solutions anisotoniques équilibrées du point de vue ionique. La réactivité aux excitants électriques et à l'acétylcholine se conserve mieux dans le milieu isotonique.

3. Une activité physiologique normale est possible seulement dans les conditions d'un double équilibre (osmotique et ionique).

#### BIBLIOGRAPHIE

1. BINET P., *L'homéo-ionie, condition nécessaire à l'homéothermie*, J. Physiol., 1960, suppl. III.
2. FLORKIN M., Arch. intern. Physiol., 1928, **30**, 81—88.
3. LILLIE R., cit. LOVATT - EVANS, Physiol. Rev., 1926, **6**.
4. LOVATT C., Physiol. Rev., 1926, **6**, 358—398.
5. PORA E. A., *L'homéorapie, une notion à préciser dans la Physiologie écologique des animaux aquatiques*. Comm. Int. Expl. Sc. Mer Médit. Rapp. 2 Proc. verb. réunions, 1960, **15**, 3, 171—188.
6. ŞANTA N., MEDEŞAN C., Com. Acad. R.P.R., 1959, **9**, *11*, 1165—1170.
7. — *Medicina Internă*, 1959, **6**, 887—892.
8. STROHL A., BERGER M., *Les isotopes radioactifs en Biologie*, Ed. Masson et Cie., Paris, 1946, p. 69—81.
9. WACHHOLDER K. Z. F., MATHIAS, Pflügers Arch., 1933, **232**, 159—173.
10. VAN WEEL P. B., Zool. Jahrb. Abt. Allg. Zool. Physiol. Tiere, 1961, **69**, *3*, 251—272.
11. — Zool. Jahrb. Abt. Allg. Zool. Physiol. Tiere, 1962, **70**, *1*, 145—166.

Institut de Biologie « Traian Săvulescu »  
Section de Physiologie animale

MATERIE ET METHODE

## VARIATIONS DE LA PHOSPHORYLATION OXYDATIVE CHEZ CERTAINES CLASSES DE VERTÉBRÉS, SOUS L'INFLUENCE DE LA THYROXINE, DE L'HYDROCORTISONE ET D'UN EXTRAIT LIPIDIQUE PRÉPARÉ DU THYMUS\*

PAR

ISABELA POTOP, GEORGETA MREANĂ et C. NEACȘU

Les données obtenues apportent certaines contributions concernant l'influence hormonale sur la P/O au cours du développement évolutif chez quelques classes de vertébrés.

La P/O dans le cerveau des vertébrés étudiés varie en rapport direct avec leur degré d'évolution dans l'échelle phylogénétique.

L'activité hormonale se manifeste comme sens et intensité dans le cerveau des diverses classes de vertébrés en corrélation avec les facteurs suivants : hormone ou extrait glandulaire, classe de l'animal et conditions du milieu.

Bien que l'étude du métabolisme énergétique dans le cerveau ait été effectuée par divers auteurs parmi lesquels Palladin et coll. [8], Chance et coll. [1], l'action hormonale sur la P/O a été peu abordée. Dans des travaux antérieurs, S.M. Milcou et l'un d'entre nous ont montré l'influence exercée par quelques hormones comme la thyroxine, l'ACTH, l'hydrocortisone, l'insuline et l'extrait pinéal sur le métabolisme glucidique et sur quelques substances à rôle énergétique tels l'ATP, l'ACTH, etc. [4], [5], [6].

Les données de nos expériences antérieures montrent que les hormones et les extraits hormonaux influencent le métabolisme énergétique et oxydatif du cerveau [9], [10], [11].

Partant de ces constatations, dans le présent travail — qui fait partie d'une étude concernant l'influence hormonale sur les métabolismes — nous avons suivi l'action de la thyroxine, de l'hydrocortisone et d'un extrait lipidique isolé du thymus sur la P/O chez quelques classes de vertébrés.

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

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Nos expériences ont porté sur quelques classes de vertébrés comme suit : mammifère (100 lapins mâles adultes pesant en moyenne 2000 g, 200 rats blancs adultes pesant en moyenne 170 g et 110 cobayes mâles adultes pesant en moyenne 270 g); oiseaux (100 pigeons pesant en moyenne 300 g, 60 coqs pesant en moyenne 2 000 g et 60 canards mâles pesant en moyenne 2 000 g); et amphibiens (400 grenouilles mâles pesant en moyenne 35 g).

Chaque espèce a été divisée en 4 lots; lot 1, témoin normal; lot 2, traité par la thyroxine (1 000 gamma par kg de poids corporel); lot 3, traité par l'hydrocortisone (25 mg HC, par kg) et le lot 4, traité par un extrait lipidique total du thymus (TLT) correspondant à 5 g glande fraîche par kg de poids corporel.

L'extrait TLT a été préparé et analysé d'après une méthode décrite par nous dans un travail antérieur.

Les hormones et le TLT ont été administrés en expérience chronique pendant 21 jours à intervalle de 2 jours. Toutes les espèces ont reçu du  $PO_4 HNa_2$  radioactif en dose de 30  $\mu$  curies /100g corps, 15 minutes avant la sacrifice qui a été effectuée par la congélation de l'animal dans l'air liquide et la décapitation. La phosphorylation oxydative (P/O) a été établie par la détermination de la consommation d'oxygène ( $QO_2$ ) et de l'activité spécifique relative de l'ATP par rapport au phosphore inorganique (PA). Le coefficient P/O représente le rapport entre l'activité spécifique relative et la  $QO_2$ .

Les résultats calculés et interprétés au point de vue statistique, sont consignés dans les tableaux ci-après.

## RÉSULTATS

Les résultats obtenus montrent les différences significatives des composés étudiés dans l'échelle phylogénétique.

## P labile - ATP et P - PA (tableau 1)

Le P labile - ATP est plus important dans le cerveau des animaux terrestres par rapport aux grenouilles, où il est en quantité moindre. Par contre, le PA est plus important chez les grenouilles et moindre chez les autres classes étudiées. On observe des variations du PA entre les différentes espèces de la même classe. L'administration des hormones et du TLT produisent des modifications du taux de l'ATP et du PA dépendant du produit administré.

Incorporation du  $^{32}P$  dans l'ATP et le PA (tableau 1)

L'incorporation du  $^{32}P$  varie suivant la classe et l'espèce des vertébrés étudiés. L'incorporation dans l'ATP est plus importante chez les mammifères (exceptant le cobaye où l'incorporation dans le PA est très importante), diminue chez les oiseaux et elle est beaucoup plus réduite chez les amphibiens.

L'incorporation du  $^{32}P$  dans le PA est plus importante chez les grenouilles par rapport aux autres classes. Les hormones et le TLT produisent des modifications de l'incorporation du  $^{32}P$  dans l'ATP et le PA, dépendant du produit administré.

Tableau 1  
Variations du P labile-ATP et du PA chez les diverses classes de vertébrés (déterminations par l'analyse chimique et l'incorporation du  $^{32}P$ )

N°	Classe de vertébrés	Espèce	P en mg pour 100 g tissu frais		Incorporation du $^{32}P$ (p/g/m)	
			P labile-ATP	P - PA	$^{32}P$ - ATP	$^{32}P$ - PA
1	Mammifères	Lapin	3,5 ± 0,2	38 ± 5	1 050 ± 20	2 090 ± 25
		Rat	3,6 ± 0,8	40 ± 2	936 ± 15	2 000 ± 22
		Cobaye	3,8 ± 0,2	22 ± 2	342 ± 10	7 524 ± 28
2	Oiseaux	Pigeon	3,6 ± 0,4	47,6 ± 2	468 ± 20	1 523 ± 20
		Coq	3,1 ± 0,5	38,8 ± 3	467 ± 21	1 552 ± 35
		Canard	3,5 ± 0,4	37,9 ± 2	301 ± 14	1 439 ± 20
3	Amphibiens	Grenouille	1,8 ± 0,1	64,7 ± 1	76 ± 5	3 364 ± 20

La consommation de l'oxygène ( $QO_2$ ) (tableau 2)

La  $QO_2$  varie d'une classe à l'autre : elle est plus importante chez les mammifères, plus diminuée chez les oiseaux, et beaucoup plus réduite chez la grenouille. L'action de la thyroxine (tableau 4) se manifeste par l'augmentation de la  $QO_2$  chez les mammifères et chez les oiseaux, respectivement de 68% et 35% et par la diminution de 44%, chez la grenouille.

Tableau 2

Moyenne des variations de la  $QO_2$  chez quelques classes de vertébrés sous l'influence de la thyroxine, de l'hydrocortisone et du TLT ( $\mu$ l/g/min)

Classe de vertébrés	Animaux témoins	Animaux traités par la thyroxine	p	Animaux traités par HC	p	Animaux traités par le TLT	p
Mammifères	8,8 ± 0,36	14 ± 0,58	<0,01	7,8 ± 0,32	<0,01	7,2 ± 0,42	<0,01
Oiseaux	7,4 ± 0,1	10,2 ± 0,32	<0,01	5,9 ± 0,30	>0,01	5,9 ± 0,24	>0,01
Amphibiens	2,7 ± 0,1	1,5 ± 0,12	>0,01	3,6 ± 0,1	<0,01	4,2 ± 0,22	<0,01

L'hydrocortisone produit, par contre, une diminution de la  $QO_2$  chez les mammifères et les oiseaux respectivement de 12 et 20% et une augmentation de la  $QO_2$  de 29% chez la grenouille. L'extrait TLT produit des diminutions de 18% et 20% de la  $QO_2$  chez les mammifères et les oiseaux et un accroissement de la  $QO_2$  de 55% chez la grenouille.

## L'activité spécifique et l'activité spécifique relative

L'activité spécifique relative est plus importante chez les vertébrés des classes supérieures et diminue progressivement jusqu'aux amphibiens. Après l'administration des hormones et du TLT (tableau 3) on constate une diminution de l'activité spécifique relative chez les mammifères de respectivement 3,9% pour la thyroxine, de 24% pour l'hydrocortisone et de 59% pour le TLT. Chez les oiseaux on constate un effet

opposé : une diminution par la thyroxine de 20% et une augmentation par le TLT de 20%. L'hydrocortisone ne modifie pas la valeur de l'activité spécifique relative chez les oiseaux. Elle provoque chez la grenouille une augmentation de la phosphorylation ; le TLT détermine une augmentation encore plus importante.

Tableau 3

Variations de l'activité spécifique relative chez différentes classes de vertébrés (représentant le rapport entre les activités spécifiques de l'ATP/PA)

Classe de vertébrés	Témoin	Thyroxine	HC	TLT
Mammifères	5,10	4,90	3,74	2,08
Oiseaux	3,30	3,26	2,36	2,83
Amphibiens	0,80	0,90	1,51	3,02

Les valeurs de la P/O (tableau 4) varient d'une classe et d'une espèce de vertébrés à l'autre. La P/O est plus importante dans le cerveau, suivant le développement des vertébrés dans l'échelle phylogénétique.

Ces résultats confirment ceux de Verzbinskaïa [15] et de Krebs [3].

L'administration des hormones produit des modifications du rapport P/O dans le cerveau (tableau 4).

L'administration de la thyroxine détermine des modifications par rapport à l'espèce étudiée : cette hormone inhibe la P/O dans le cerveau des mammifères et des oiseaux et l'accélère chez les amphibiens. Le rapport diminue respectivement de 3,9 et de 20% et augmente de 106%.

L'administration de l'hydrocortisone produit une diminution de ce rapport chez les mammifères, ne produit pas de modifications chez les oiseaux, et détermine une augmentation importante (45%) chez les amphibiens.

L'extrait TLT produit les modifications les plus importantes par rapport aux hormones utilisées : une diminution importante, de 50%, chez les mammifères, une augmentation de 20% chez les oiseaux et une augmentation beaucoup plus importante, de 148%, chez la grenouille.

Tableau 4

Variations de la P/O sous l'influence hormonale chez quelques classes de vertébrés

Classe de vertébrés	Espèce	Nom- bre d'ani- maux	Té- moin	Mo- yenne	Nom- bre d'ani- maux	Thy- roxine	Mo- yenne	Nom- bre d'ani- maux	HC	Nom- bre d'ani- maux	TLT	Mo- yenne
Mammifères	Lapin	25	0,66	0,58	25	0,40	0,35	25	0,55	25	0,30	0,29
	Rat	50	0,58		50	0,34		50	0,48	50	0,25	
	Cobaye	15	0,52		15	0,33		15	0,44	15	0,23	
Oiseaux	Pigeon	25	0,49	0,40	25	0,33	0,32	25	0,42	25	0,40	0,48
	Coq	15	0,40		15	0,32		15	0,42	15	0,45	
	Canard	15	0,32		15	0,31		15	0,38	15	0,60	
Amphibiens	Grenouille	100	0,29	100	0,60	100	0,42	100	0,72			

## DISCUSSIONS

Les résultats obtenus montrent, en premier lieu, des modifications métaboliques différentes chez les diverses classes de vertébrés étudiés : un métabolisme plus intense dans le cerveau des mammifères, qui diminue chez les oiseaux, et davantage chez les amphibiens.

Les résultats apportent quelques contributions concernant l'influence hormonale sur la P/O au cours du développement évolutif chez les mammifères, les oiseaux et les amphibiens.

L'influence hormonale dépend de la nature de l'hormone ou de l'extrait hormonal administré, ainsi que de l'espèce animale en cause et des conditions du milieu. Les hormones influencent le métabolisme cérébral en accélérant ou en inhibant les réactions d'échange.

On doit souligner la grande labilité des composés étudiés au niveau du tissu cérébral chez les diverses classes de vertébrés.

La labilité des composés au niveau du tissu cérébral et la corrélation entre le métabolisme respiratoire et le métabolisme énergétique, ont été démontrés, entre autres, par Mc Ilvain et coll. [2], Minard et coll. [7] qui trouvent des modifications de l'ATP et l'AMP en liaison avec la respiration, en soulignant l'importance de l'adenylkinase. Walgren et coll. [13], [14], en utilisant l'incorporation du <sup>32</sup>P dans des segments de cortex cérébral après stimulation par voie électrique, trouvent des modifications rapides du turnover de l'ATP sous l'influence de l'éthanol.

La thyroxine inhibe la P/O chez les mammifères et les oiseaux et l'augmente chez les amphibiens.

Ces résultats confirment nos résultats antérieurs et ceux de la littérature. Certains auteurs sont même d'avis que les effets physiologiques de la thyroxine peuvent être attribués tous à cette propriété. Il faut mentionner que par l'action de la thyroxine, le découplage de la respiration et de la phosphorylation n'a lieu qu'après un contact de longue durée (Salmony [12]). L'effet de cette action tardive a été considéré analogue à la période bien connue de retardement dans l'action métabolique de cette hormone.

D'autre part, l'action de la thyroxine augmente la QO<sub>2</sub>. L'effet de la thyroxine sur le métabolisme oxydatif cellulaire est connu dans la littérature. L'action corrélée du titre du cytochrome C a été dûment démontrée, ainsi que le fait que l'activité de la cytochrome-oxydase cérébrale varie d'une espèce à l'autre. L'augmentation du cytochrome C est accompagnée par l'augmentation de la QO<sub>2</sub> et parallèlement par la stimulation de l'incorporation du <sup>32</sup>P dans la synthèse de l'ATP.

Les hormones utilisées par nous et le TLT ont une action sur les composés phosphorés macroergiques et influencent le degré de la phosphorylation.

La radioactivité spécifique de l'ATP et la radioactivité spécifique relative de l'ATP qui caractérisent la radioactivité et le P macroergique labile du cerveau sont influencées par les hormones et par l'extrait utilisé. Ces produits modifient d'une part le degré de renouvellement des liaisons macroergiques du P, et d'autre part le schéma du métabolisme oxydatif.

Vu que l'extrait TLT isolé du thymus a une action importante sur la P/O dans le cerveau, on peut supposer la présence dans le thymus d'un

principe actif qui intéresse la phosphorylation et le métabolisme respiratoire.

L'action de ces produits et la grande labilité des composés étudiés au niveau du tissu cérébral chez les diverses classes de vertébrés, permet d'envisager la possibilité d'influencer le métabolisme de cet organe par les hormones et les extraits glandulaires.

#### CONCLUSIONS

Les données obtenues apportent certaines contributions concernant l'influence hormonale sur la P/O au cours du développement évolutif chez quelques classes de vertébrés.

Dans le cerveau des vertébrés étudiés, la P/O varie en rapport direct avec leur degré d'évolution dans l'échelle phylogénétique.

La thyroxine, l'hydrocortisone et l'extrait lipidique du thymus influencent la P/O comme résultat des modifications du métabolisme énergétique et oxydatif.

On suggère la présence dans le thymus d'un principe de nature lipidique agissant sur la phosphorylation et la respiration.

L'activité hormonale se manifeste comme sens et intensité dans le cerveau des diverses classes de vertébrés en corrélation avec les facteurs suivants : hormone ou extrait glandulaire, classe de l'animal et conditions du milieu.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. CHANCE M. R., *J. Endocrin.*, 1953, **10**, 2, 316.
2. MC ILVAIN H., *Biochem. J.*, 1951, **50**, 132.
3. KREBS E. M., *Intern. Conf. Radioisot. Sci. Res.*, Paris, 1957, Unesco/NS/RIC, 106.
4. MILCU S. M., POTOP I., JUVINĂ E., *Com. Acad. R.P.R.*, 1957, **7**, 9, 813.
5. MILCU S. M., POTOP I., CIOCÎRDIA C., *Com. Acad. R.P.R.*, 1957, **7**, 9, 807.
6. MILCU S. M., POTOP I., *Casopis Lek. Cesk.*, 1961, **12**, 367.
7. MINARD F. N., DAWIS R. V., *J. Biol. Chem.*, 1962, **237**, 1283.
8. PALLADIN A. V., *Biochimia*, 1952, **34**, 24, 777.
9. POTOP I., JUVINĂ E., CIOCÎRDIA C., *Rev. Sci. Méd.*, 1958, **3**, 121.
10. POTOP I., BOERU V., MREANĂ G., *Com. Acad. R.P.R.*, 1963, **13**, 10, 915.
11. POTOP I., MREANĂ G., NEACȘU C., *Rev. Sci. Méd.* 1963, **35**, 4, 163.
12. SALMONY A., *Biochem. J.*, 1956, **62**, 411.
13. WALGREN H., *Acta Physiol. Scand.*, 1960, **49**, 216.
14. — *J. Neurochem.*, 1963, **10**, 5, 349.
15. VERZSBINSKAIA N. A., *The biochemistry of the nervous system*. Symposium, Kiev, 1952, 2.

Institut d'Endocrinologie de l'Académie  
de la République Socialiste de Roumanie

## THE AUTOHISTORADIOGRAPHIC METHOD IN RESEARCH ON ANIMAL PHYSIOLOGY \*

BY

Z. URAY, T. HOLAN, A. BOZAC and CORNELIA GHERMAN

The authors present the autohistoradiographic method and describe the different techniques used. In the light of the data furnished by literature and of more than two years personal experience, they appreciate critically the results of the various techniques and indicate the best solutions resulted from their work. The special utility of this method in the study of the intimate cellular and subcellular biochemistry and physiopathology is emphasized as well.

Autohistoradiography is a new technique for application of radioisotopes in animal and plant biology which opens wide perspectives in biochemical and cell-physiological research.

The labelled atoms or molecules introduced into the animal organism are metabolized by the cells and incorporated into the biologic structure just like the corresponding inactive atoms or molecules. The presence of radioisotopes in the cell may be detected by the action of radiations emitted by them upon the sensitive photographic emulsions, kept in contact by different methods with the tissues under experiment. Thus the autohistoradiographic method reveals the localization of the labelled substance within the animal tissues. In combination with histochemical methods, it also studies the metabolism and the excretion paths of the respective substance [2], [4], [5], [10], [13], [14], [28].

#### PHOTOGRAPHIC CONSIDERATIONS

The nuclear emulsion is a dispersion of AgBr crystals in gelatine, in a 90–95% concentration. The crystals have a diameter of 0.2 microns (the radiologic film contains 30% AgBr, the diameter of the grains being 0.5–5 microns). Out of the various types of nuclear emulsion we mention: NTA, NTB, NTB<sub>2</sub>, and NTB<sub>3</sub> (Eastman-Kodak, U.S.A.), the last

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



two being the most indicated for biological research; AR-10 (Kodak Ltd., England), Ilford G 5 (Ilford Ltd., England), NIKFI K and NIKFI R (U.S.S.R), etc.

The Bucharest Institute of Atomic Physics produces three types of nuclear emulsions: IFA EN<sub>1</sub>, IFA EN<sub>2</sub> and IFA ENF<sub>1</sub>. In the autoradiographs performed in our Institute, we use with very good results IFA EN<sub>1</sub> of medium sensitivity and IFA EN<sub>2</sub> of high sensitivity [7], [9], [12], [18]. The emulsion IFA ENF<sub>1</sub> has a very fine granulation (0.07 microns) and a medium sensitivity, indicated for electron-microscopic autohistoradiography [19].

The autohistoradiographic method is based on the property of the silver halide crystal of the photographic emulsion to be reduced to metallic silver under the action of incident ionising radiations [1], [30]. The electrons set free from the AgBr microcrystals by the alpha and beta radiations are pushed into the conducting band and migrate towards the sensitivity-centres of the crystals, where they are captured. As a result of the growth of the negative load density in those regions, the positive Ag-ions leave the network and a reaction of neutralization takes place:  $Ag^+ + e \rightarrow Ag$ , resulting in metallic Ag. The ionising particles scatter the silver halide crystal, and they leave their latent image in the emulsion. By the photographic development the latent image is transformed into a visible one. Silver neutralized by incident radiation catalyses a reaction which leads to a massive deposition of metallic silver in the form of visible grains. This image is fixed by a watery solution of sodium thio-sulphate which forms with AgBr a water soluble complex, the un-impressed silver halide being thus removed.

#### BIOLOGICAL CONSIDERATIONS

The method has two important phases: the histological preparation of the tissue and the autohistoradiograph. The factors ensuring a high-quality autoradiograph are multiple [4], [11], [17], [18], [22], [25], [28]. Of course, a detailed knowledge of the technique of research on living tissue is first needed. This renders necessary a proper selection of the chemical substance used for the experiment and of the labelling radioisotope, according to chemical tropism and metabolic characters [8], [9], [12], [20]. A sufficient degree of radioactivity is needed for obtaining a good radiograph; a too high one would produce radiobiologic effects on the tissue under experiment. In the choice of the method and time of sacrifice of the animal, one must have in view not only the requirements of the experiment, the physical and chemical characteristics of the labelled substance, but also the local histopathological modifications produced by the radioisotopes [17].

The histological method is chosen according to the aim of the experiment. This means that all the histological manipulations, including the staining, must be adapted to the tissue, to the purpose of the experiment, to the physical and chemical characteristics of the labelled substance, and also to the special conditions required by the second time of the method, the autoradiography [7], [11], [19]. The reactives used for fixation, dehydration, inclusion or deparaffination may dissolve the

radioisotopes in the tissue, causing thus either a quantitative and qualitative alteration of the autoradiograph or preventing the histochemical manifestation of the studied substance. Thus during fixation chloroform dissolves the lipid complexes in the cells; neutralized formol (Baker) alters the nuclear structures, glycogen, iron, guanin and urea do not permit the use of the method for nuclear acid staining (methyl-green-pyronin), but they are good fixators for the study of fats and lipoids; the Bouin-Masson fixator destroys the red cells and the mitochondria, being however indicated in topographical and general cytological research for its quality as an acceptable general fixator (nuclear acids, acid and neutral mucopolysaccharides) [29]. For water-soluble isotopes inclusion into paraffin is recommended, while for liposoluble labelled substances we will use the inclusion into carbowax [17] or make sections in ice [23], [24]. From our experience it results that one of the best methods is the rapid method [17], which takes into account the above-mentioned conditions and contains the following times: fixation in Carnoy fluid for 15 to 30 min. or in Bouin-Masson fluid for 8 to 18 hours; dehydration in two acetone baths of 20 min. each, followed by an intermediate bath (xylol-acetone and paraffin in equal parts of 45 min. at 56°C, then two paraffin baths of 45 to 60 min. at 56°C; turning into blocks, sectioning (sections are 5 to 7 microns thick, with a perfectly smooth surface; the irregularities of the surface give artefacts, producing the autodevelopment of the emulsion [18] owing to the traction at this level and to the change of the spatial relations between the tissue and the emulsion). The sections are fixed on slides prepared with gelatine and are deparaffinized in three baths of xylol and three baths of alcohol of 95%, 15 min. each.

Of late, the technique of autohistoradiography [23], [24], was the method of fixing by fast freezing, at 170°C in isopentane, cooled with liquid N. After fixing, several histological variants may be used: after a chemical dehydration or lyophilization, the specimen is included in paraffin or after fixation the tissue is sectioned in a cryostat at -20 to -30°C (sections of 3-5 microns); the specimen is fixed on a slide and is dehydrated chemically (alcohol, acetone, buthanol at -70°C, 1 to 24 hours) or by lyophilization at -20°C in vacuum  $1 \times 10^{-5}$  Hg-mm, 1 to 24 hours. After drying autoradiography is performed, the slide being exposed in darkness at -20°C, in an exsiccator.

After the time of exposure has passed and after development there follows the post-staining of the section [17], [12], through the gelatine layer, with stains as haematoxylin-eosine (haematoxylin Mayer 8 to 10 min., running water 30 min., eosine-erythroline Romeis 10 min.) or with specific histochemical stains. Post-staining is advantageous as it avoids the washing out of the isotope from the specimen and prevents a chemical reaction between the stain and the emulsion (histochemogram). Moreover the photographic process discolours more or less the pre-coloured sections (except those stained with eosine [17]). After staining, the slides are mounted as usual (following the rapid method) in two baths of 95% alcohol, 2 to 5 min. each, one bath of carboxylol for 5 min., washing in xylol 5 to 10 min. and fixing in Canada balsam at 37°C. In the stripping film method, after the post-staining of the slides, many authors use for removing the gelatine layer an enzymatic digest with

trypsin (10 mg crystallized trypsin in 100 mg buffer phosphate Sorensen pH 7.6 at 37°C) in a solution of 0.01% for 6 to 8 min. [2]. Reaction is stopped with distilled water. The slides are dried and fixed, or examined directly at immersion.

#### AUTOHISTORADIOGRAPHIC METHODS

Several technical methods are used for autoradiographs. These methods are: apposition, mounting, stripping-film, coating, dipping and inverted coating. The latter three methods use fluid nuclear emulsions.

The apposition method serves to localize approximately the radioactive substance within the tissue. In this method the tissular source and the photographic emulsion are kept in contact by pressure. After a corresponding time of exposure, the film is removed and developed. This method is used especially for large specimens.

In the mounting method, the specimen is set directly on the surface of the photographic emulsion, where it remains fixed all through the photographic and staining process. It is a very easy method, but its disadvantage is that the histological preparations are less perfect and beautiful than in the other methods [17]. The stages of this method are mounting, exposure, deparaffining, development and fixation, washing, staining and mounting.

The stripping film method uses a film with 5 micron thick emulsion on a protective layer of gelatine, 10 microns thick. This method is indicated for quantitative autohistoradiography [3], [15]; at the same time it ensures a resolution of 2 microns.

The mounting of the film is done in the following steps: degreasing of the slides for a good adherence of the section and of the emulsion. The slides are first introduced into a 0.5% gelatine-solution (5 g gelatine, 0.5 g chrome alum, water ad. 1000 g) and then dried. The sections are mounted on the slide and are deparaffined. The photographic film set on a glass plate is cut with a blade to the necessary size. Then the film is drawn off from the glass with a pair of tweezers and is put with the emulsion side facing downwards in distilled water. When one draws away the film-emulsion from the slide, one may observe a phenomenon of luminescence (triboluminescence), which enlarges the general ground and which, if it is taken off gradually, produces gray lines on the autoradiographs [18]. Therefore the film must be taken away uniformly and slowly. For a perfect extension and a good adherence — without bubbles on the plate — it is recommended to set the film on the surface of a 2% gelatine solution at 37°C which contains also 0.2% KBr, instead of using distilled water. In handling the photographic film one must take care, because every mechanical action can produce an autodevelopment. After the film has been imbibed for 2 to 4 min., the plate with the active section is introduced into the imbibing solution and is lifted out together with the film. After a careful arrangement of the film on the active tissue, the plates are dried. Afterwards they are set into special, hermetically closed boxes, which contain also hygroscopical substances (CaCl<sub>2</sub>, etc.). The slides, so protected against light and humidity, are kept at the temperature of 0 to 4°C, a well defined time for exposure.

The method with fluid emulsions is used for the autoradiography of histological sections and smears. In special cases very small objects (individual cells, microorganisms, viruses, macromolecules) are mixed directly with the fluid emulsion. This method ensures the best resolution. Procedure: the slides are degreased and covered with a gelatine layer; after drying, the specimen is fixed on the slide and deparaffined. The slide is then introduced again into the gelatine solution which thus forms a protecting layer of 1 to 2 microns, ensuring the adherence of the emulsion on the slide. The use of collodion or of a solution of plexiglas instead of gelatine produces spontaneous autodevelopment at the level of the traction lines. Moreover the plexiglas makes impossible post-staining of the specimen. After the slides have dried, the fresh emulsion, kept all the time at 0 to 4°C, protected against humidity, is heated at 37°C in a water bath (heating over 50°C leads to autodevelopment) and is diluted (10 ml emulsion + 1 ml finishing solution + 10 ml distilled water). Composition of the finishing solution: 75 ml of 95% ethyl alcohol + 25 ml glycerine + 100 ml chrom acetate of 1% [19]. With a pipette some of this solution is put on a slide and is applied with a fine pencil or a glass stick over the histological section. All this handling must be done at 37°C. Therefore the instruments we use (pipettes, pots, slides) must also have the same temperature. The slides are dried and put afterwards into the refrigerator at 0 to 4°C to exposure, in presence of hygroscopic substances. Many authors recommend the exposure in an atmosphere of CO<sub>2</sub> at 0°C, protected against moisture and light.

In the dipping method the deparaffinized and rehydrated slide is heated at 37°C and is introduced vertically into the fluid emulsion, which is also heated at 37–38°C in a water-bath. After 2–3 seconds, the slide is removed from the emulsion and kept vertically to let the excess emulsion flow off (10 seconds at 37°C). Then the emulsion is cleaned from the back of the slide with a piece of gauze. The drying of the slide is done in a perfectly horizontal position for 10 to 20 min. The dried slides are packed up, protected against moisture in an atmosphere of CO<sub>2</sub> and are set into the refrigerator at 5°C for exposure. This method is very easy and gives satisfactory results. Therefore it is recommended for beginners.

In the inverted coating method the fixed and dehydrated sections (fixed at low temperature and rehydrated by lyophilization) are covered with a thin layer of collodine. Upon this a thin layer of fluid emulsion is applied; after drying there follows the exposure. After the end of the exposure time, the film is developed and the autoradiograph is fixed. The preparation is then taken from the slide with a razor blade and is turned 180° so that the histological section be at the surface of the slide. The specimen is stained as required and then mounted.

Recently, autohistoradiography with double-layer emulsion is being used more and more often. This method allows to identify on the same section the incorporation and distribution of two chemically different substances, one being labelled with a source emitting beta radiations of very low energy (H<sup>3</sup> with E max. 0.018 MeV), the other with a source emitting beta radiations of higher energy (C<sup>14</sup> with E max 0.156 MeV or S<sup>35</sup> with E max. 0.167 MeV).

After the development of the first emulsion layer, on which the image of both labelled substances appear, the slide is covered with a new emulsion layer, separated from the first by celoidine. After the second development there appears the image of the distribution of the isotop with the stronger beta radiation.

It is evident that all these methods take into account the condition of the dark room. With the nuclear emulsions IFA one works at a yellowish-green Agfa filter 117 or 118, the minimal distance between the emulsion slide and the lamps being 1 m [19].

Each of the described methods has advantages and disadvantages. We consider that for quantitative autohistoradiography the stripping film method is the most adequate. For the study of the distribution of the isotopes in the cells, the coating method is used, which ensures a better resolution, but does not permit the quantitative evaluation of the autoradiograms.

The exposure time is function of the type and energy of the radiations emitted by the labelled substance and of the concentration of the radioactive substance incorporated in the studied section. There are many formulae for calculating the time of exposure. It is generally accepted that the sections taken from an organ with a tissular concentration of 0.2 microC/g  $I^{131}$ , 0.4 microC/g  $P^{32}$  or 0.05 microC/g  $C^{14}$ , need an exposure time of 15 days [14].

Some authors [17], [18] determine the radioactivity of the section with a GM-counter and the time of exposure by means of the received impulses. For instance, in the case of  $I^{131}$ , when measuring the activity of the section with a GM-counter with a terminal window VAZ 310, at Vakutronik counter, an exposure of two weeks is necessary for 100 impulses/minute. The experience shows, however, that the development of one slide, at different time intervals, is more efficient. Because of the chemical tropism for different cells or subcellular formations, the concentration of the radioactive substance within the same section needs different times of exposure and the material may be treated differently. The contact-autoradiographs, carried out with a radiological film, are easier to be developed and have a greater sensitivity than the nuclear emulsions. With these films we can find approximately the optimal time of exposure. If it exceeds two weeks, control autoradiographs are necessary, made with non-radioactive pieces (blind tests) to exclude artefacts, as the emulsion increases its background and reduces its clearness during the exposure in direct proportion with the exposure time [3].

The development of the autoradiographs is made in a dark room respecting certain conditions of time, temperature and pH. Development of the fluid and film-emulsions IFA EN<sub>1</sub> and EN<sub>2</sub> is achieved in the conditions indicated by the supplier [19] with some modifications:

Operations	Temperature °C	Time necessary for the operations (in minutes) Emulsion		Observation
		Fluid	Film	
Imbibing with water	5	—	1—2	may be neglected
Cold developer	5	—	2—3	
Developer	18—22	5—7	5—15	
Interrupting bath	18—22	1—2	2—5	
Water bath	18—22	1	3—6	
Fixing	18—22	twice the time of clearing (7—10)		
Washing I	18—22	1—2	2—4	running water
Washing II	18—22	3—6	6—10	

Composition of the developer: sodium sulphite 12 g, amidol 3 g, citric acid 1 g, KBr 0.3 g, water 1000 ml.

Fixator: sodium thiosulphate 300 g, sodium sulphite 0.6 g, potassium metabisulphite 0.3 g, water ad. 1000 ml.

During development the aqueous phases are a problem for the emulsion layer. The latter may be soaked and it may move on the surface of the specimen. To avoid this movement during the washes, it is recommended to pass the specimen through a 2% solution of sodium thiosulphate [18], after having treated it with thiosulphate and before washing in distilled water. In order to prevent mechanical deterioration and to ensure the development of the autoradiograph in optimal conditions, we use a device which makes possible the simultaneous development of 40 histological slides.

The resolution power is determined by the number of details shown in the image; it is defined by the minimum distance between two points on the surface of the section which are emitting radiations and which can be distinguished on autoradiographs. The resolution power depends upon a series of factors, among which we mention the special relation between the source of radiation (the section) and the photosensitive emulsion, the type and energy of the ionising radiation, the distribution of the radioactive substance in the tissue, the characteristics of the emulsion (concentration of BrAg), the diameter of the grains, the limit sensitivity of electrons, veil, etc.

In the case of 5-micron sections, using the stripping method with  $H^3$ , the resolution power is of 2 microns; under the same conditions for  $C^{14}$  and  $S^{35}$  it is of 3—5 microns.

#### QUANTITATIVE AUTOHISTORADIOGRAPHY

The quantitative determination of radioactivity of biological sections is based on the evaluation of the effect of emitted radiations upon the nuclear emulsion [15], [30]. The interaction of the ionising particles and the photographic emulsion is shown either by precipitation of silver

grains (contrast autoradiography), or by appearance of tracks (track autohistoradiography). In the first case the quantitative evaluation is done by counting the grains per unit of surface or by the densitometry of the grains. In the second case tracks are counted.

The densitometry is carried out using microphotometers [6], [15] and cytophotometers. The magnified image of the investigated area is projected, and its density is measured with a photoelectric cell. For densitometrical evaluations the most adequate are autohistoradiographs carried out with the apposition method.

The counting of grains is an easy method [15], [21]. To this purpose a micrometer is mounted on the ocular of the microscope, permitting to count the grains in a unit of surface. In case of these countings the thickness of the emulsion must be uniform. The error of the method is  $\pm 10\%$ . In laboratories with modern equipment the counting of grain is achieved by electronic counters. Only autoradiographies carried out under the same technical conditions may be compared. In quantitative autohistoradiography it is very important to know and study the background [26]. For autoradiographs prepared with fresh emulsion, perfect histological and autoradiographic techniques, a background of 10 grain per 100 microns<sup>2</sup> is admissible (admissible veil).

The possibilities of investigation by autohistoradiography in cell biochemistry are unlimited. The progress of radiochemistry made it possible to label the most various molecules (purinic, pyrimidinic bases, hormones, vitamins, enzymes, etc.). Using the autohistoradiographic method, the intimate biochemistry of the cell may be studied.

The autohistoradiographic method has also some disadvantages: only isotopes emitting soft alpha or beta radiations with a relatively high ionizing power may be used; the experiment takes a long time; the method often needs superphysiological doses of isotopes (on an average 0.5–5 microC/g animal body-weight) which reduces the possibility of applying the autohistoradiographic method in chronic experiments [16], [27]. In the acute experiment, however, this method proves indispensable for modern biochemical and cell physiology research.

In human biochemistry and pathology large doses are needed. Therefore tissue cultures removed by biopsy are used [20], and the labelled substances are added to the culture medium. After the incubation time has expired, tissues are treated by autohistoradiography, or in the case of large doses used for therapeutical purposes, by biopsy of labelled tissue *in vivo*.

#### APPLICATIONS

##### 1. The autohistoradiography in the study of iodine metabolism

As radioiodine is fixed rapidly and selectively at the level of the thyroid, it is possible to observe the dynamics of its fixation, the biosynthesis of the thyroid hormones as well as the genesis and behaviour of the substance into which iodine is incorporated (thyroglobuline).

In relatively small doses (5 microC/100 g animal body-weight) radioiodine is fixed in the cells of the thyroid follicle, first at the bottom

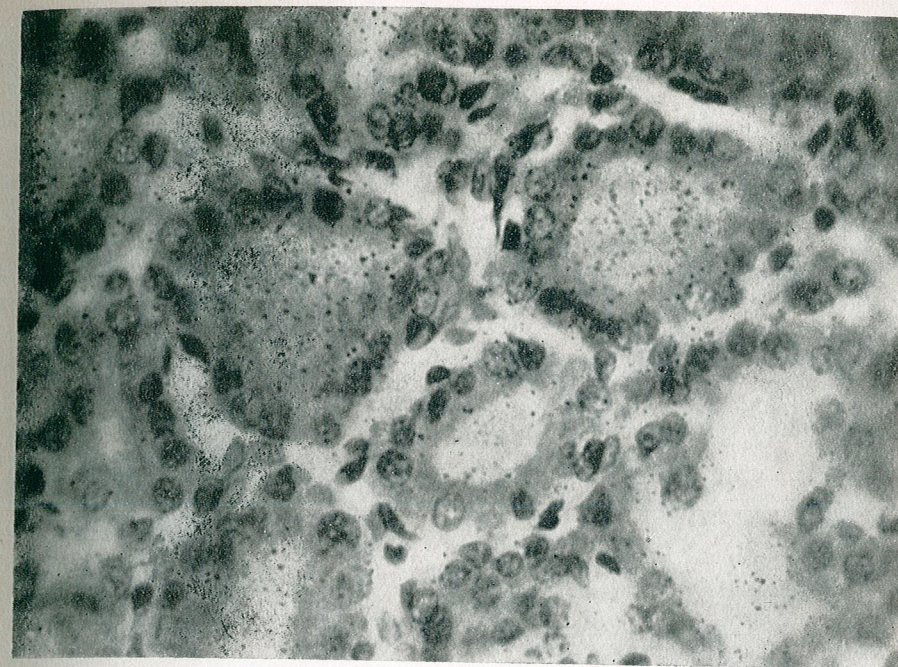


Fig. 1. — Rat thyroid. Autohistoradiograph with NaI<sup>131</sup>.

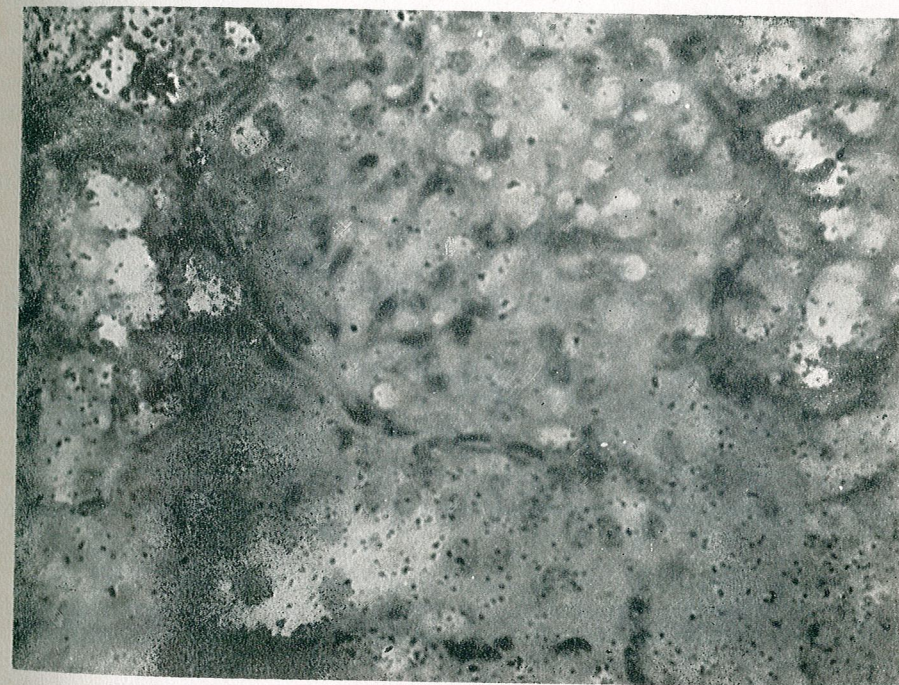


Fig. 2. — Rat kidney. Autohistoradiograph with neohydrin Hg<sup>203</sup>.

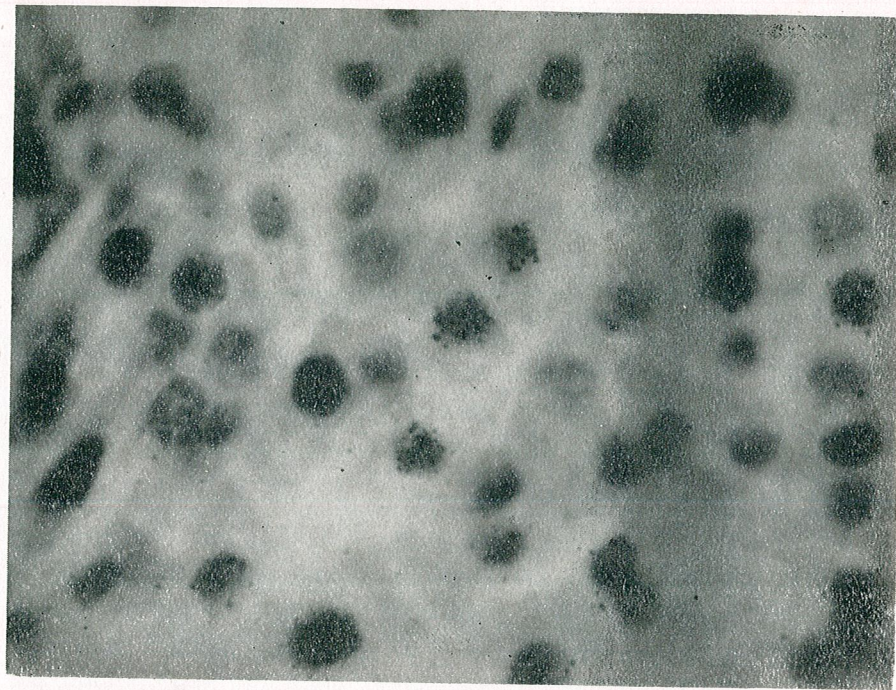


Fig. 3 a

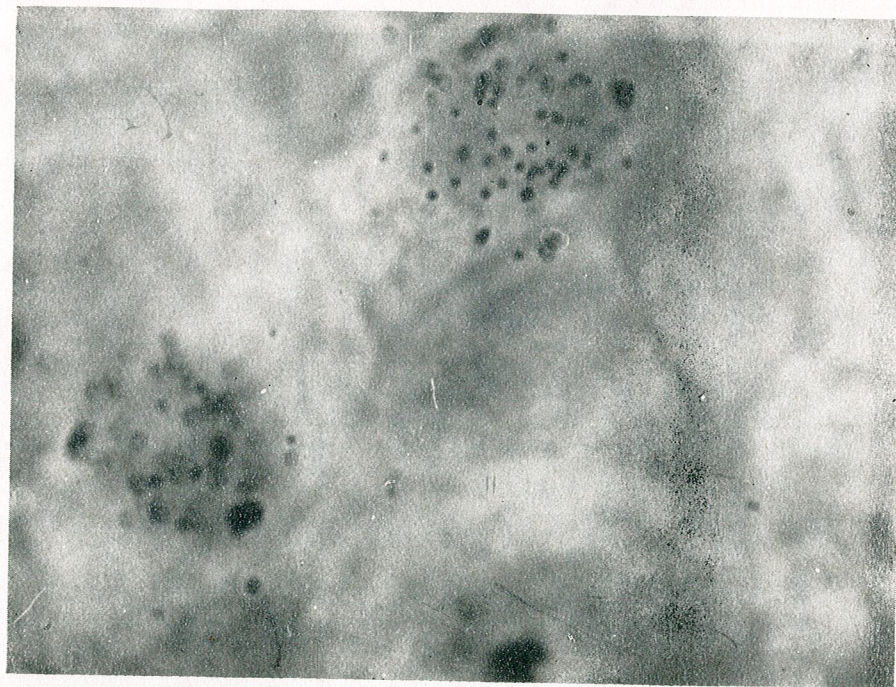


Fig. 3 b

Fig. 3 a, b. — Cells of *Vicia faba*. Autohistoradiograph with thymidine- $H^3$ .

then perinuclearly and finally in the apex (about 30 min. after injection). 30 to 40 min. later it appears also in the colloid, where it persists for 7—8 days. 24 hours after injection, iodine disappears from the cells and is incorporated only in the follicular colloid.

Not even the large doses (50 microC/100 g body-weight) did produce important local alterations, the maximal lesion obtained by high doses having a fibrosing-sclerogen nature.

It must be mentioned that there is also an extrathyroid uptake (brain, hypophysis, liver, kidneys, adrenals, etc.). Though it is low, it may be registered and used in the study of  $I^{131}$  metabolism in other organs (Fig. 1).

### 2. The autohistoradiography in the study of renal physiology and physiopathology

Renal physiopathology, as well as the distribution and mechanism of the mercury-diuretics were studied with Neohydrina- $Hg^{203}$  and Salyrgan- $Hg^{203}$ . It was established that the doses administered to animals (15 microC/100 g body-weight) do not produce severe and persisting histopathological alterations. On the other hand it became evident, that during the first 15 to 60 min. the diuretic concentrates exclusively in the cortex, but subsequently it appears also in the marrow and its way could be followed up to the level of the calyx.

These studies are used both for investigating the way of action and the topographic distribution of the diuretic and the functionality of the nephron in preexisting or induced nephropathies. They contribute to know the tubular alterations during the physiological and pathological variations of the renal vascular flow, of electrolytic alterations in the blood and of some dysendocrinies (aldosterone, antidiuretical hormone) (Fig. 2).

### 3. The autohistoradiography in the study of hepatic physiology and physiopathology

The study of the hepatic function was achieved with  $S^{35}$ -labelled methionine and Bengal-Rose  $I^{131}$ . Methionine has an appreciable hepatic tropism, having first a vascular, then a predominantly perinuclear and canalicular (Kupffer cell included) hepato-cellular distribution. The radioisotope accumulates mostly in the peripheral lobe (perikiernanian), being suitable for the adequate study of this most resistant zone in pathological conditions.

Bengal-Rose appears first in the vascular bed, it does not penetrate into the Kupffer cells of the hepatic sinusoids, but into the hepatic cells, where it can be found both in the cytoplasm (more abundantly), and in the nucleus (in smaller quantity). After 60 to 90 min. it is eliminated through the intra-, peri- and interlobular biliary canals as well as through the pericanalicular lymphatic capillaries.

The use of labelled Bengal-Rose is a sensitive test for exploring the functional capacity of the hepatic cell and for revealing interhepatic cholestase, even if this is very discreet.

#### 4. The autohistoradiographic method in studying the action of ionizing radiations upon DNA metabolism

Using as precursor of DNA synthesis  $H^3$ -labelled thymidine, it was stated that DNA synthesis in the meristemic cells of *Vicia faba* is inhibited by the ionizing radiations. As a conclusion it was stated that DNA synthesis is maximally inhibited when irradiation occurs in the  $G_1$  presynthetic period (Fig. 3).

#### REFERENCES

1. BASERGA R., NEMERHOFF K., *Two-emulsion radioautography*, J. Histochem. Cytochem. 1962, **10**, 5.
2. BASERGA R., BANKS D., *A simple procedure for the destaining of stripping-film autoradiographs*, J. Pathol. Bacteriol., 1962, **84**, 1, 239-241.
3. BASERGA R., NEMERHOFF K., *Factors which affect efficiency of autoradiography with tritiated thymidine*, Stain. Technol., 1962, **37**, 1.
4. BAECKELAND H., CHEVREMENT M., *L'histaautoradiographie. Quelques applications en biologie cellulaire animale*, Extr. Bull. Inst. Agr. Stat. Rech., Gembloux, **II**, 1960.
5. BELANGER L. F., *A method for routine detection of radiophosphates and other radioactive compounds in tissues. The inverted autograph*, Anat. Rec., 1960, **107**, 149-159.
6. BERTOFF G., KRISTERSON L., *Microdensitometer for the evaluation of radioautograms*, Rev. Scient. Instruments, 1961-1962, **32**, 11.
7. BOZAC A., URAY Z., BULBUK E., PAPILIAN V. V., *Contribuții la îmbunătățirea metodei autohistoradiografice*, I-a Conf. Radiobiol., Bucharest, 1964.
8. BOZAC A., BRIEF G., URAY Z., BULBUK E., *Efectul tisular al dozelor terapeutice de ion radioactiv asupra glandei tiroide*, Com. SSM, Cluj, 1963.
9. BOZAC A., PAPILIAN V. V., DEREVENCO V., HOLAN T., URAY Z., *Modificări histopatologice renale observate consecutiv injectării neohidrinei Hg-203*, Com. SSM, Cluj, 1964.
10. BOYD G. A., *Autoradiography in biology and medicine*, New York, Acad. Press, 1955.
11. DAVID L. J., *Radioautography. Principles and procedures*. J. Nucl. Med., 1963, **4**, 143-154.
12. DEREVENCO V., PAPILIAN V. V., URAY Z., BOZAC A., FĂRCĂȘANU M., *Cercetări privind acțiunea unor substanțe neurotrophe asupra funcției tiroidiene la șobolan*, I-a Conf. Radiobiologie, Bucharest, 1964.
13. FITZGERALD P. J., *Radioautography, its use in cytology. Analytical cytology*. R. C. Mellars edit., New York, McGraw-Hill Book Comp., 1955.
14. GHEORGHESCU B., BRASLA I., *Diagnosticul cu radioizotopi in clinică*, Ed. Medicală, Bucharest, 1964, 271-278.
15. GUIDOTTI G., *Principles of quantitative autoradiography*, Chicago, Med. Sch. Quart., 1963, **20**, 3.
16. HOLAN T., SZÁNTAI I., FĂRCĂȘANU M., GHERMAN C., *Modificări de ordin morfologic și funcțional în țesutul tiroidian iradiat cu I-131 in Simpozionul de biofizică celulară*, Bucharest, 1963.
17. *Künstliche radioaktive Isotope in Physiologie. Diagnostik und Therapie*, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1961, **1**, 321-352.
18. MEDVEČEKY L., PÉTER F., LAMPE L., *Az autoradiográfia metodikájával kapcsolatos néhány tapasztalat*, Kisérl. Orvostud., 1962, **11**, 49-55.
19. NICOLAE MARIETA, *Autoradiografia cu emulsii nucleare*, IFA, Bucharest, PN, 1962, 15.
20. OEHLERT W., *Durchführung und Anwendungsmöglichkeiten autoradiografischer Methoden in der Pathologie*, Schw. Med. Wschr., 1964, **94**, 29, 1009-1015.
21. OSTROWSKI K., SAWICKI W., *Photomicrographic method for counting photographic grains in autoradiograms*, Expt. Cell. Res., 1963, **31**, 89-99.
22. OSTROWSKI K., BARNARD C. A., STOCKA Z., DARZINKIEWICZ, *Autoradiographic method in enzyme cytochemistry*, Expt. Cell. Res., 1963, **31**, 89-99.
23. PATRICH I., FITZGERALD B. N., *Dry Mounting Autoradiographic Technics for Intracellular Localization of Water-Soluble Compounds in Tissue Sections*, Lab. Invest., 1961, **10**, 5.

24. REINHOLDS E., BELLOCH-ZIMMERMANN V., WIRTH CH., *Zur Methodik der Gefrierschnitt-Mikroautoradiographie*, Experientia, 1960, **16**, 6, 286.
25. SCHNEIDER G., MOUNER W., *Autoradiographische Untersuchung über den Einbau von H-cytidin in die Kerne einiger Zellarten der Maus und über den Einfluß des Fixationsmittels auf die H3 Aktivität*, Acta Histochem., 1963, **15**, 171-181.
26. STILLSTROM J., *Grain Count Corrections in Autoradiography*, Int. J. App. Rad. Isotopes, 1963, **14**, 113-118.
27. TAUGNER R., IRAVANI I., WINKEL K., ASLAM M., *Die Verteilung von Hg<sup>203</sup> Mersalyl und Hg<sup>203</sup> Chlormerodryn in der Niere untersucht mit Hilfe der Gefrierschnitt-Autoradiographie*, Arch. exp. Path. u. Pharmak., 1963, **224**, 539-549.
28. TAYLOR I. H., *Autoradiography at the cellular level*, Physical techn. in Biol. Res., **3**, Cell and Tissues, New York, Acad. Press, 1956.
29. \* \* \* *Tehnica histopatologică*, Ed. de Stat, Bucharest, 1953.
30. WEBB I. M., *The reaction of ionizing particles with the photographic emulsion to produce the latent image. Manual for Autoradiography Course*. Oak-Ridge Inst. of Nuclear Studies, Oak-Ridge Tenn., 1951.

Section of Nuclear Medicine  
Cluj, Romania

EXPERIMENTELLE FORSCHUNGEN ÜBER DEN  
VERLAUF DES NESTBAUES BEI DER GATTUNG  
*MESSOR STRUCTOR* LATR. (HYM. FORMICIDAE)

VON

D. PARASCHIVESCU

Bei Versuchsforschungen unter experimenteller-Bedingungen über den Nestbau bei *Messor structor* Latr. in einer Vorrichtung mit künstlichen originalen Nestern hat Verfasser festgestellt, daß der Bauplan der Nester demjenigen der natürlichen Nester ähnelt und dabei die Anzahl der von den Arbeitsameisen gebauten Gängen und Kammern ermittelt. Im Laufe des Baues wurde auch eine tägliche Änderung der Neststruktur und der Bestimmung der Räume festgestellt. Unter experimentellen Bedingungen ist die Baudauer für ein Nest durchschnittlich 27—36 Tage, Zeit, die auch für den Wiederaufbau eines beschädigten Nestes benötigt wird.

Das Problem des Nestbaues der Formiciden unter experimentellen Bedingungen und das Studium der Biologie dieser sozialen Insekten mit Hilfe von künstlichen Nestern hat zahlreiche Ameisenforscher beschäftigt, da der Nestbau und die Arbeitsweise hierbei Vorgänge sind, die unter natürlichen Bedingungen schwer zu beobachten sind.

Noch im vorigen Jahrhundert haben Ameisenforscher wie: Huber [1], [2], [5], [10], Janet [1], [2], [5], [10], Wassmann u.a. künstliche Nester aus verschiedenen Baustoffen wie: Gips, Holz, Glas erdacht, aus denen sie Nester verschiedener Formen und Abmessungen gebaut haben: Parallelepipede verschiedener Größe, Glasballons, horizontal oder vertikal fixierte Rahmen. Die Mehrzahl der Versuche wurde an Ameisenexemplaren vorgenommen, die vom praktischen Standpunkt aus wertvollen Arten angehören (die Arten der Gattung *Formica*) und zur Bekämpfung von Forstschädlingen verwendet werden Gösswald [4], Otto [6], Brian [2].

Die Resultate ihrer Forschungen haben zur Erweiterung der Kenntnis der Biologie der Ameisen beigetragen und die Ausarbeitung der verschiedenen Kolonisierungsmethoden der Ameisen in gewünschten Gebieten ermöglicht.

Desgleichen konnten durch Zucht von Ameisen der Gattung *Formica* in künstlichen Nestern wertvolle Ameisenrassen erzielt werden, die zur biologischen Bekämpfung der Forstschädlinge verwendet wurden. Auf diese Weise hat man eine bessere Kenntnis der Biologie dieser Arten erlangt.

In unseren früheren Arbeiten [7] — [9] haben wir die verschiedenen Formen des Nestbaus in der Natur von der Gattung *Messor structor* Latr., beschrieben, desgleichen die Verbreitung dieser Gattung in unserem Lande.

In der Mehrzahl der beobachteten Fälle, baut die Gattung *Messor structor* Latr. das Nest unterirdisch in trockenem Boden, mit kraterförmiger, aus feinem Boden bestehender Öffnung. Dieses Material stammt von der Ausschachtung der Gänge und Kammern und dem Heraus-schaffen der Bodenteilchen durch die Arbeiterinnen und Ablagern bei der Nestöffnung (Abb. 1).

Durchschnittlich sind die Kraterdimensionen: 1—2 cm Höhe mit einem Durchmesser der Nestöffnung von 0,5 cm.

Der Plan der Gänge und Kammern stellt die Struktur des Nestes im Längsschnitt dar (Abb. 2).

In der vorliegenden Arbeit haben wir uns vorgenommen, den Ablauf des Nestbaus bei der körnerfressenden Gattung *Messor structor* Latr., Unterfamilie *Myrmicinae* Lepeletier zu untersuchen.

#### MATERIAL, METHODE UND ERGEBNISSE

In der Nähe der Ortschaften Palas-Constanța und Agigea haben wir im Frühjahr des Jahres 1964 3 von der Gattung *Messor structor* Latr. bewohnte Nester aus dem Boden ausgehoben.

Das eingesammelte Material bestand aus Eiern, Larven verschiedener Stadien, Arbeiterinnen verschiedenen Alters, Geschlechtstieren und der von der Ausschachtung des Nestes stammenden Erde.

Das gesamte Material wurde vorsichtig in drei Tüten aus Kunststoff eingefüllt und am gleichen Tag ins Laboratorium gebracht um die Versuche in einer originalen Vorrichtung mit künstlichen Nestern zu beginnen. Diese Gattung ist von Goetsch [3] erforscht worden, der in einem Gypsnest (nach Meyer und Eidman) die Getreideernährung untersuchte.

Nachdem das lebende Material von der Erde getrennt wurde, mit der es gebracht worden war, wurde die Erde in das künstliche Nest eingeführt bis dieses vollkommen gefüllt war. Hierauf wurde das gesamte lebende Material (Arbeiter, Eier, Larven) vor die äußere freie Oberfläche des künstlichen Nestes gebracht. Bei den anderen Nestern wurde in gleicher Weise verfahren. Von diesem Augenblicke an fingen die Arbeiterinnen an, ins Nest einzudringen und Gänge zu bauen. Im folgenden werden wir den Verlauf eines Nestbaues beschreiben (B).

Am Anfang gruben die Arbeiterinnen zwei senkrechte Gänge von 3—4 cm Länge und 0,5—1 cm Breite. In den ersten Stunden wurden drei Kammern gebaut. In zwei davon brachten die Arbeiterinnen die Eier, Larven und Puppen. In die gleichen Kammern haben sich auch die



Abb. 1. — Kraterförmige Öffnung eines von *Messor structor* Latr. unter natürlichen Bedingungen gebauten Nestes. Palas-Constanța; Mai 1964.

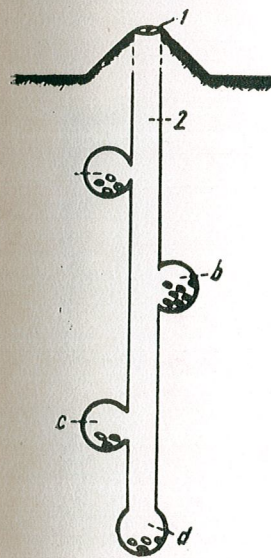


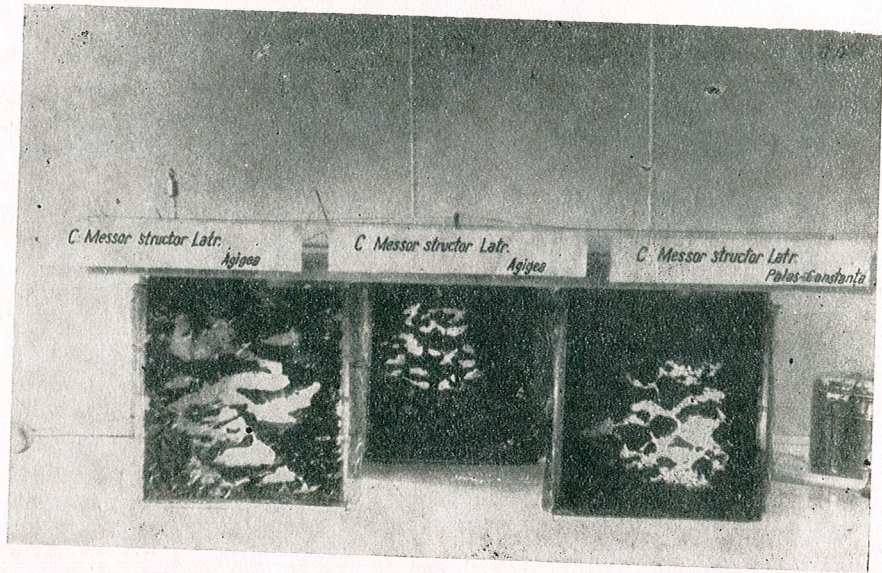
Abb. 2. — Nestform bei der Gattung *Messor structor* Latr. (Schnitt durch das Nest);  
1, — die kraterförmige Öffnung der Nester; 2, die Hauptgalerie der Nester; a, b, c, d, ovale Kammern mit Eiern und Larven mit Kokons.





3a

Abb. 3 a, b. — Kraterförmige Öffnung eines von *Messor structor* Latr. unter experimentellen Bedingungen gebauten künstlichen Nestes.  
a, Laboratorium; b, eigene Vorrichtung mit künstlichen originalen Nestern.



C. *Messor structor* Latr. Agigea

C. *Messor structor* Latr. Agigea

C. *Messor structor* Latr. Palas-Constantia

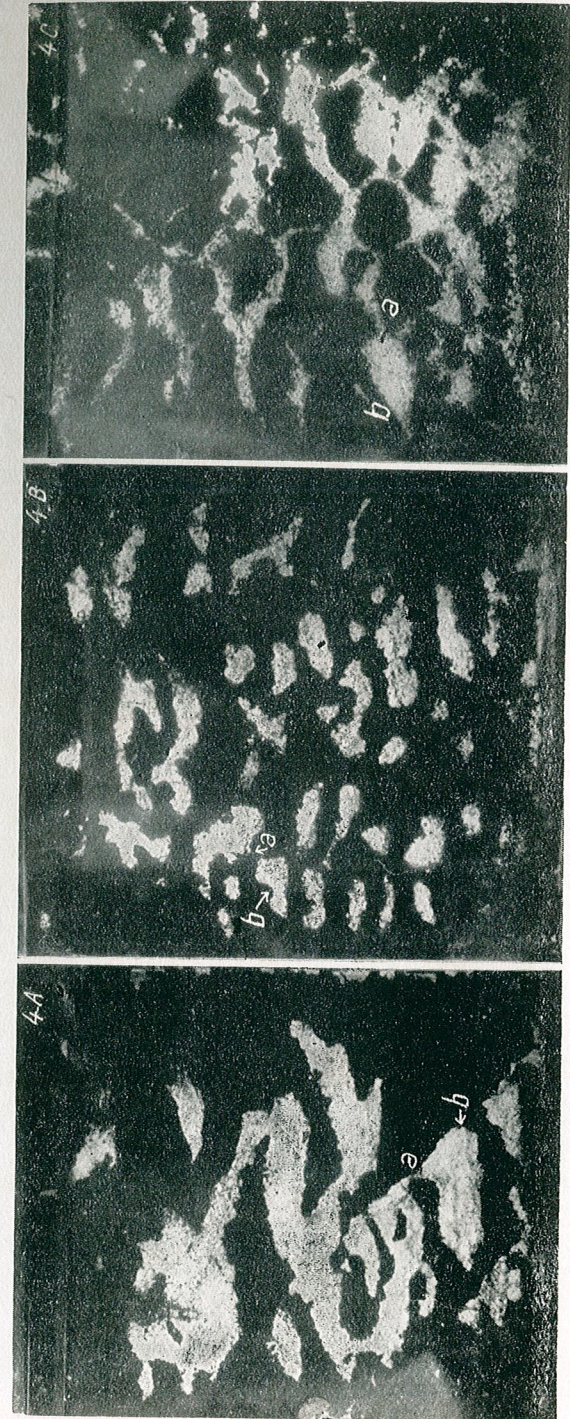


Abb. 4. — Ansichten der künstlichen Nester (A — Palas-Constantia) B und C—Agigea) die von *Messor structor* Latr. unter künstlichen Bedingungen gebaut wurden; ungefähr 20 Tage nach Beginn des Baues.  
(a — Gang; b — Kammern).

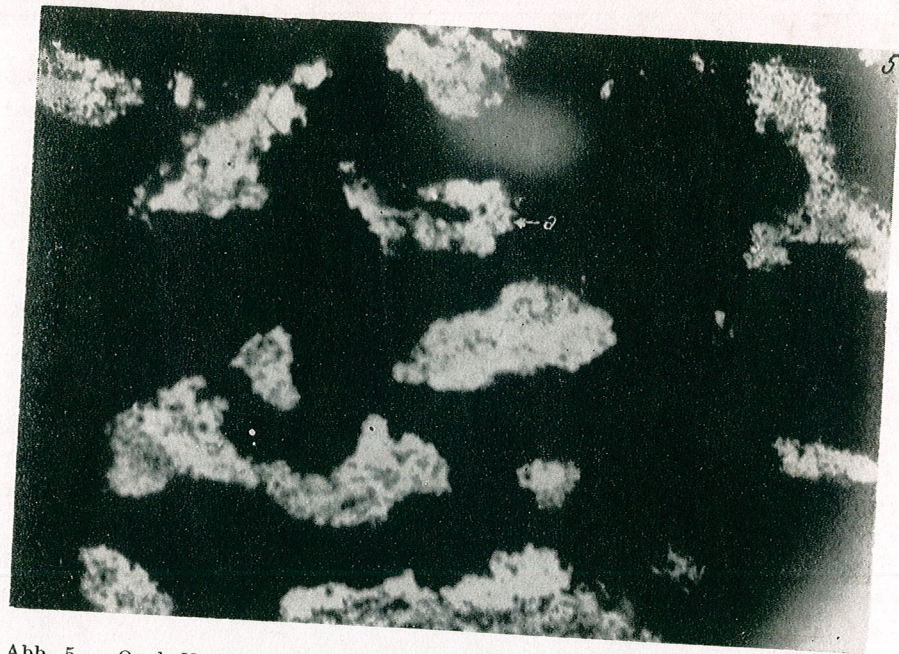


Abb. 5. — Ovale Kammern mit Eiern, Larven, Puppen und Weibchen in der Mitte der Kammer (a).

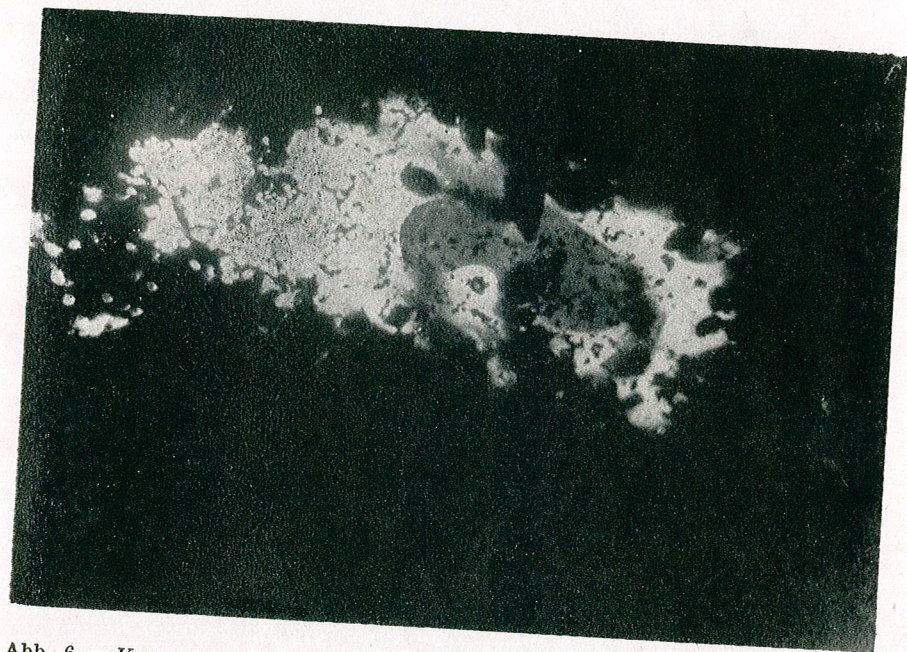


Abb. 6. — Kammer mit stark vergrößerter Brut; Larven, Arbeiterinnen, die ein junges Weibchen betreuen.

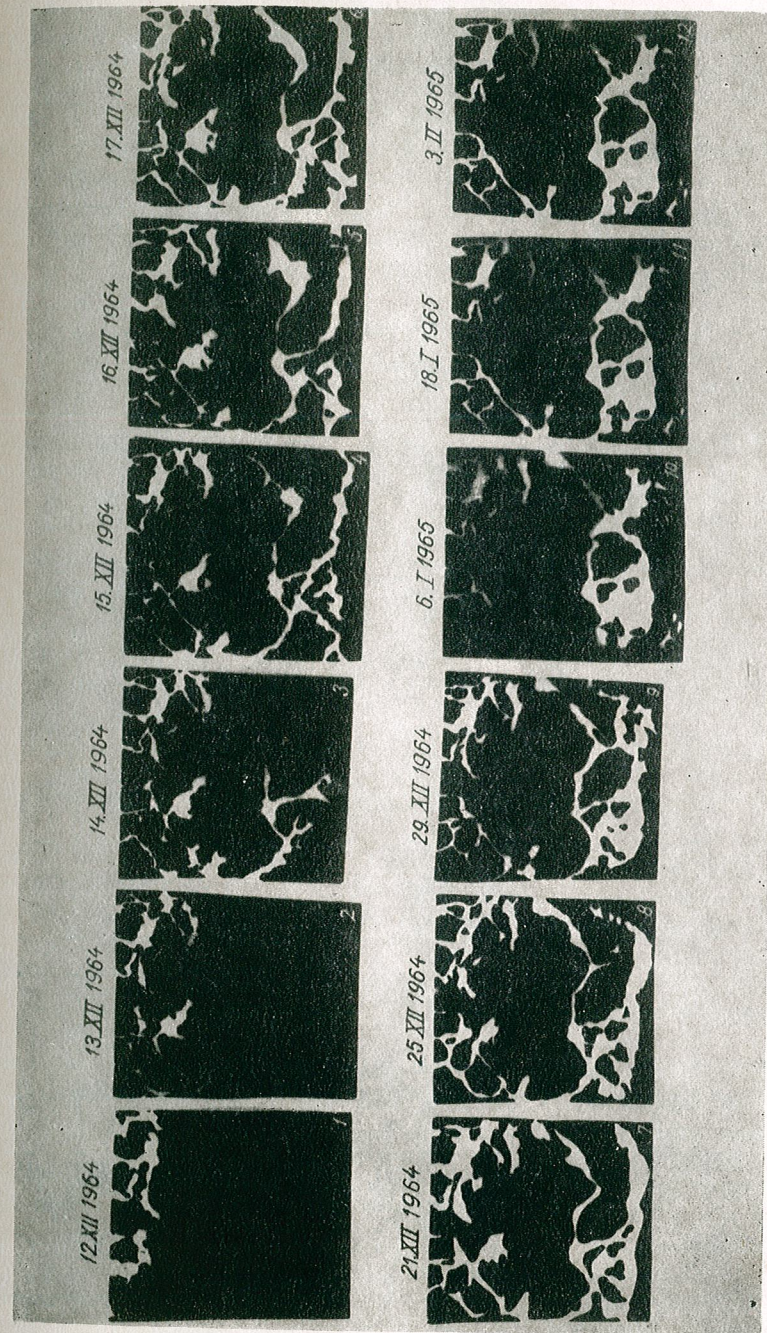


Abb. 7. — Ansichten, die wichtige Etappen des Verlaufes des Nestbaues seitens der Gattung *Messor structor* Latr. darstellen.

Weibchen begeben. Die von der Ausschachtung der Kammern und Gänge stammende Erde wurde hinausgeschafft und um die Nestöffnung herum in Form einer Arena abgelagert, wodurch diese ein kraterförmiges Aussehen, ähnlich demjenigen in der freien Natur bekam (Abb. 3 a,b). Hierauf gruben die Ameisen in gleicher Weise senkrecht und seitlich in 27 Tagen eine Anzahl von 20 Kammern (Abb. 4) (Nester A, B und C). Der Bau der Gänge und Kammern unterscheidet sich voneinander auch je nach der Bodenart des betreffenden Nestes (Nest A ausgelaugter Tschernosem, B und C kohlenstoffhaltiger Tschernosem).

Der Baurhythmus war in den ersten Tagen durchschnittlich 3—4 Kammern pro Tag: die Kammern hatten im allgemeinen folgende Abmessungen: 2—3 cm Breite, 1—2 cm Höhe und 0,6 cm Dicke (Tabelle 1,

Tabelle 1

Versuchsdaten betreffend den Nestbau bei *Messor structor* Latr.

Nr. des Versuchsnestes	Name der Ortschaft aus der das Nest stammt	Datum des Einsammelns des Materials und des Versuchsbegins	Anzahl der Individuen	Baudauer (Tage)	Anzahl der gebauten Kammern	Durchschnittliche Zahl der täglich beim Nestbau beobachteten Arbeiterameisen *)
A	Palas-Constanța	25.V.1964	400 ♀♀ 6 ♀	27	20	40
B	Agigea	25.V.1964	300 ♀♀ 1 ♀	32	36	35
C	Agigea	25.V.1964	200 ♀♀ 1 ♀	34	17	30

\*) Die Kennzeichnung der Arbeiterinnen erfolgte durch Auftragung eines Farbpunktes auf ihren Thorax (Weiße Aquarellfarbe)

Abb. 5 und 6). Wie man aus der Tabelle feststellen kann, hat nur ein Teil der Arbeiterameisen am Nestbau teilgenommen. Der Rest der Arbeiterinnen war um die Weibchen, Eier, Larven verschiedener Stadien und um die Puppen bemüht. Wir haben ferner beobachtet, daß die Anzahl der Ameisen die am Nestbau teilnahmen bei allen drei Versuchsnestern nahezu die gleiche ist, unabhängig von der Anzahl, die die betreffende Kolonie bevölkerten.

Unter natürlichen Bedingungen bauen die Ameisen ihr Nest im Falle von Beschädigungen in der Mehrzahl der Fälle wieder auf. Gelegentlich der Auffrischung der Erde aus den Versuchsnestern haben wir eines davon (B) geöffnet und täglich den Verlauf des Nestbaues, sieben Monate nach der Einrichtung des betreffenden Nestes verfolgt.

Für diese Arbeit haben wir die gleiche Methode verwendet, wir haben also zuerst das Nest mit Erde gefüllt und hierauf das lebende Material auf den Schnitt durch das Nest gebracht.

Beim Wiederaufbau des Nestes konnten die gleichen Bauetappen verfolgt werden: Ablauf des Bauprozesses des Nestes, Bauplan des Nestes wie im ersten Fall, Baurhythmus, Anzahl der Arbeiterameisen.

Um die Konturen der Gänge und Kammern genau erkennen zu können und ihre Dimensionen zu messen, haben wir ein eigenes Verfahren verwendet: ihre Abbildung wurde durch die durchsichtige Glaswand auf Lichtpauspapier kopiert und zwar während der ersten 10 Tage täglich, wenn der Bau noch beschleunigt vor sich geht, später bis zum

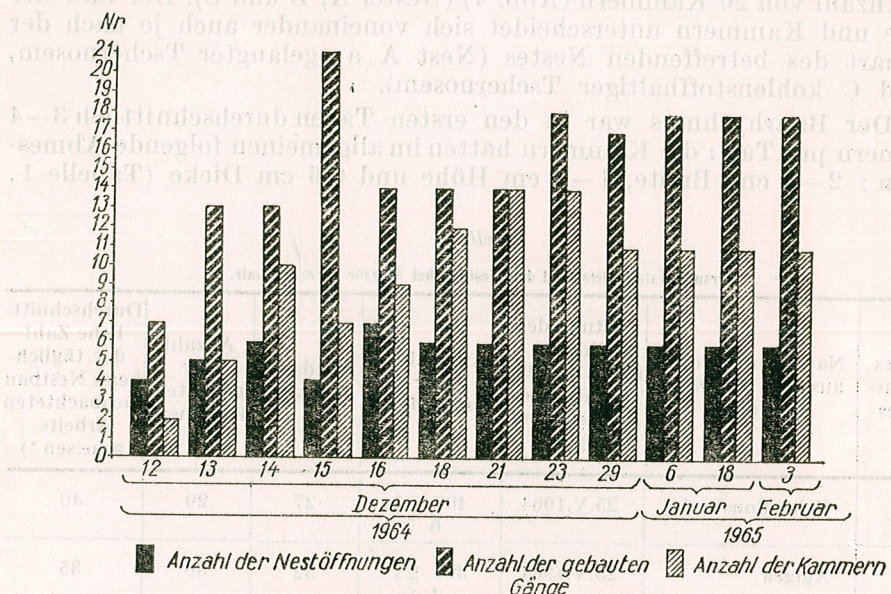


Abb. 8. — Täglicher Ablauf des Nestbaues von *Messor structor* Latr.

Abschluß des Baues alle zwei Tage. Die Dauer des Baues war in diesem Falle 36 Tage. Sowohl die allgemeine Struktur des Nestes, wie auch der Verlauf des Nestbaues, die kraterförmige Nestöffnung, die Gänge und Kammern zeigten im allgemeinen Ähnlichkeit mit denen, die gelegentlich des ersten Baues erzielt wurden (Abb. 7).

Die Daten bezüglich des täglichen Baurhythmus sind in Tabelle 2 und Abbildung 8 wie folgt veranschaulicht:

Aus Tabelle 2 geht hervor, daß die Arbeiterinnen das innere Aussehen des Nestes täglich geändert haben. Im Verlaufe des Baues bleiben das Aussehen einer Kammer, eines Ganges und der Anfangsstruktur des Nestes niemals die gleichen bis zum Schluß. Wenn man die aufeinanderfolgenden Bilder vergleicht, kann man feststellen, daß die Änderungen von einem Tag auf den anderen stattfinden. So unterscheidet sich z.B. der frisch gebaute Gang und die Kammer (Abb. 7) die am 12.XII.1964 mit Nr. 1 beziffert wurden, sowohl dem Aussehen als den Ausmaßen nach von dem vom Nest am 13.XII.1964 genommenen Bild, das mit Nr. 2 beziffert wurde. Wenn man auch weiterhin die anderen Bilder verfolgt, stellt man eine Reihe von Veränderungen fest. Diese Veränderungen werden wahrscheinlich von den Arbeitsameisen während des Nestbaues deshalb vorgenommen, um der Neststruktur eine möglichst große Lebensdauer zu geben. Die Widerstandsfähigkeit des Baues unter den gegebenen Versuchsbedingungen gestattet sowohl eine ständige Lüftung

Tabelle 2  
Täglicher Baurhythmus der Gänge und Kammern bei Wiederaufbau eines beschädigten Nestes

Lfd. Nr.	Datum der erhaltenen Aufnahmen	Anzahl der Nestöffnungen	Durchschnittlicher Durchmesser der Öffnung cm	Anzahl der gebauten Gänge	Durchschnittliche Maße der Gänge		Anzahl der Kammern	Durchschnittsmaße der Kammern		Bemerkungen
					Länge cm	Breite cm		Länge cm	Breite cm	
1	12.XII.1964	4	1 - 2	7	1 - 6	0,5 - 2	2	4,5 - 3,5	1 - 1,5	Die Maße aller Räume des Nestes sind sämtlich Außenmaße
2	13.XII.1964	5	0,2 - 1	13	1 - 6	0,3 - 1	5	5 - 5,5	1 - 1,5	
3	14.XII.1964	6	0,4 - 0,8	13	1 - 6	0,5 - 1,7	10	1,4 - 5,5	0,4 - 1,4	
4	15.XII.1964	4	0,3 - 1,7	21	1 - 14	0,3 - 1,8	7	3 - 5	1 - 2	
5	16.XII.1964	7	0,5 - 1,2	14	1 - 12	0,5 - 1,5	10	3,5 - 7,5	1 - 2	
6	17.XII.1964	6	0,3 - 1	14	1,5 - 8	0,2 - 0,8	12	3,5 - 4,5	1 - 3	
7	21.XII.1964	6	0,5 - 1	14	1,5 - 3,5	1,5 - 2,5	14	3 - 8	1 - 2	
8	23.XII.1964	6	0,5 - 1	18	1,5 - 4	1,5 - 2	14	3,5 - 7	1 - 2	
9	29.XII.1964	6	0,2 - 0,9	17	1,8 - 3,8	0,2 - 0,9	11	3,8 - 3,5	1 - 1,5	
10	6. I. 1965	6	0,3 - 1,4	18	1,4 - 5,8	0,3 - 0,8	11	3,4 - 3,5	1 - 5,5	
11	18. I. 1965	6	0,3 - 1,8	18	1,4 - 6	0,4 - 0,8	11	3,4 - 4	1 - 5	
12	2. II. 1965	6	0,3 - 1,8	18	1,4 - 6	0,4 - 0,8	11	3,4 - 4	1 - 5	

des Nestes als auch eine Erleichterung der Nahrungsmittelzufuhr ins Innere. Gleichzeitig ermöglicht sie auch den Arbeiterinnen, Kadaver und Lebensmittelreste vom Inneren in die Arena zu schaffen. Man kann des weiteren feststellen, daß auch die Bestimmung der Gänge und Kammern nicht immer die gleiche bleibt. Wenn in den ersten Tagen des Verlaufes des Nestbaues (12. — 13. XII. 1964) die Kammern Nr. 1 und 2 mit der Brut dieses Nestes bevölkert waren (Eier, Larven in verschiedenen Entwicklungsstadien), so wurden diese in den darauffolgenden Tagen in andere frisch gebaute Kammern gegen die Nestmitte zu gebracht (21. XII. 1964). Die Beförderung der Brut durch die Arbeitsameisen und die direkte Wanderung der Weibchen von Kammer zu Kammer hält auch nach der definitiven Fertigstellung des Nestbaues an. Der vorübergehende Aufenthalt der Brut und der Weibchen sowie der Nahrungsvorräte in der einen oder der anderen Kammer ist, wie wir glauben, von Temperatur, Lüftung und optimalem Feuchtigkeitsgehalt bedingt.

## SCHLUSSFOLGERUNGEN

Beim Bau von Beobachtungsnestern wurde bei der Gattung *Messor structor* Latr. folgendes festgestellt:

1. Unter Laboratoriumsbedingungen baut die körnerfressende Gattung ihr Nest nach einem Plan der dem Bauplan des Nestes unter natürlichen Bedingungen ähnelt.
2. Der Nestbau erfolgt unter natürlichen wie auch unter Laboratoriumsbedingungen nach einem vertikal ausgerichteten Bauplan mit kraterförmiger Gangöffnung nach außen hin, während die ovalen Kammern unregelmäßig längs der Gänge angeordnet sind.
3. Durch tägliche Beobachtungen des Nestbaues mit Hilfe der auf Lichtpauspapier erzielten Bilder konnten wir die von den Arbeitsameisen zum Bau von Gängen und Kammern benötigte Zeit messen.
4. Die Struktur des Nestes und die Bestimmung der Räume ändern sich während des Baues von einem Tag auf den anderen.
5. Durch Studium der einzelnen Bilder konnten wir feststellen, daß unter Versuchsbedingungen der Nestbau im Durchschnitt 27—36 Tage dauert, was auch für den Wiederaufbau eines beschädigten Nestes Gültigkeit hat.

## LITERATUR

1. BRAIN M. V., The Entomologist's Monthly Magazine, 1952, 38.
2. — The Entomologist's Monthly Magazine, 1951, 37.
3. GOETSCH W., Z. Morpho- u. Ökologie der Tiere, 1928, 10, 354.
4. GÖSSWALD K., Waldhygiene, 1963, 1, 32.
5. GRASSÉ P. P., Traité de zoologie. Anatomie. Systématique. Biologie. Insectes Supérieures et Hémiptéroïdes. 10/2, Masson, Paris, 1951, S. 120.
6. OTTO D., Die Rolten Waldameisen. Die Neue Brehm-Bücherei, Halle, 1962.
7. PARASCHIVESCU D., St. cerc. biol. — biologie animală, 1961, 13, 4.
8. — Com. Acad. R.P.R., 1962, 12, 1.
9. — Com. Acad. R.P.R., 1962, 12, 1.
10. STITZ A., Die Tierwelt Deutschlands, Formicidae. 37. Bd., Jena, 1939.

Eingegangen am 23. September 1966

Biologisches Institut  
„Traian Săvulescu”  
Abteilung Tierökologie

SUR TROIS DENDROCÉLIDES AVEUGLES NOUVEAUX  
DES SOURCES DU BANAT (ROUMANIE)

PAR

RADU CODREANU et DOÏNA BALCESCO

Pendant les derniers cinquante ans, une diversité inattendue des Dendrocèles obscuricoles a été mise en évidence en Europe, et la Roumanie compte parmi les régions qui ont déjà fourni un nombre élevé d'espèces caractéristiques de ce groupe. Grâce aux prospections extensives de nos biospéologues et aux matériaux réunis de longue date par l'un de nous, nous avons actuellement en étude une riche collection de Dendrocélides hypogés provenant de nombreuses stations de notre pays, et qui vont augmenter notablement le nombre de ces endémismes dans la faune roumaine.

Leur densité considérable sur un territoire relativement limité nous semble s'expliquer, ainsi qu'il a été déjà dit à propos d'autres relictés aquatiques ([7], p. 398), par les conditions paléohydrographiques spéciales qui, à la fin du tertiaire, ont précédé la sédimentation de la terre ferme autour de la chaîne des Carpates. La présence d'espèces régressives, appelées troglobies, dans la nappe phréatique et ses affleurements, nous apparaît comme étant liée en première ligne aux vicissitudes paléogéographiques de leur aire actuelle de répartition. Le colmatage des grands bassins lacustres d'autrefois a progressivement refoulé les épigés limniques dans les sources et plus profondément dans les eaux souterraines, qui du fait de leur persistance ont assuré la survivance de ces relictés.

Le déterminisme paléogéographique dans la distribution des Paludicoles aveugles ressortira mieux au fur et à mesure des données que nous allons publier. Nous commençons par trois stations du Banat, d'où l'on ne connaît jusqu'à présent qu'une seule espèce cavernicole, *Dendrocoelum (Eudendrocoelum) botosaneani* del Papa 1965, d'ailleurs insuffisamment définie. Tandis que tous les Dendrocélides déjà décrits de Roumanie sont assez éloignés entre eux, les trois espèces examinées ci-après s'apparentent étroitement quant à la structure de leur appareil copulateur, et nous avons dû recourir aux différences existant entre leurs organes adhésifs pour les séparer définitivement.

Leurs traits communs les plus saillants sont les suivants : position des oviductes en dedans de la courbure du canal de la bourse copulatrice

des Nestes als auch eine Erleichterung der Nahrungsmittelzufuhr ins Innere. Gleichzeitig ermöglicht sie auch den Arbeiterinnen, Kadaver und Lebensmittelreste vom Inneren in die Arena zu schaffen. Man kann des weiteren feststellen, daß auch die Bestimmung der Gänge und Kammern nicht immer die gleiche bleibt. Wenn in den ersten Tagen des Verlaufes des Nestbaues (12.—13.XII.1964) die Kammern Nr. 1 und 2 mit der Brut dieses Nestes bevölkert waren (Eier, Larven in verschiedenen Entwicklungsstadien), so wurden diese in den darauffolgenden Tagen in andere frisch gebaute Kammern gegen die Nestmitte zu gebracht (21.XII.1964). Die Beförderung der Brut durch die Arbeitsameisen und die direkte Wanderung der Weibchen von Kammer zu Kammer hält auch nach der definitiven Fertigstellung des Nestbaues an. Der vorübergehende Aufenthalt der Brut und der Weibchen sowie der Nahrungsvorräte in der einen oder der anderen Kammer ist, wie wir glauben, von Temperatur, Lüftung und optimalem Feuchtigkeitsgehalt bedingt.

#### SCHLUSSFOLGERUNGEN

Beim Bau von Beobachtungsnestern wurde bei der Gattung *Messor* Latr. folgendes festgestellt:

1. Unter Laboratoriumsbedingungen baut die körnerfressende Gattung ihr Nest nach einem Plan der dem Bauplan des Nestes unter natürlichen Bedingungen ähnelt.
2. Der Nestbau erfolgt unter natürlichen wie auch unter Laboratoriumsbedingungen nach einem vertikal ausgerichteten Bauplan mit kraterförmiger Gangöffnung nach außen hin, während die ovalen Kammern unregelmäßig längs der Gänge angeordnet sind.
3. Durch tägliche Beobachtungen des Nestbaues mit Hilfe der auf Lichtpauspapier erzielten Bilder konnten wir die von den Arbeitsameisen zum Bau von Gängen und Kammern benötigte Zeit messen.
4. Die Struktur des Nestes und die Bestimmung der Räume ändern sich während des Baues von einem Tag auf den anderen.
5. Durch Studium der einzelnen Bilder konnten wir feststellen, daß unter Versuchsbedingungen der Nestbau im Durchschnitt 27—36 Tage dauert, was auch für den Wiederaufbau eines beschädigten Nestes Gültigkeit hat.

#### LITERATUR

1. BRAIN M. V., The Entomologist's Monthly Magazine, 1952, 38.
2. — The Entomologist's Monthly Magazine, 1951, 37.
3. GOETSCH W., Z. Morpho- u. Ökologie der Tiere, 1928, 10, 354.
4. GÖSSWALD K., Waldhygiene, 1963, 1, 32.
5. GRASSÉ P. P., *Traité de zoologie. Anatomie. Systématique. Biologie. Insectes Supérieures et Hémiptéroïdes.* 10/2, Masson, Paris, 1951, S. 120.
6. OTTO D., *Die Roten Waldameisen.* Die Neue Brehm-Bücherei, Halle, 1962.
7. PARASCHIVESCU D., St. cerc. biol., — biologie animală, 1961, 13, 4.
8. — Com. Acad. R.P.R., 1962, 12, 1.
9. — Com. Acad. R.P.R., 1962, 12, 1.
10. STITZ A., *Die Tierwelt Deutschlands, Formicidae.* 37. Bd., Jena, 1939.

Eingegangen am 23. September 1966

Biologisches Institut  
„Traian Săvulescu“

## SUR TROIS DENDROCELIDES AVEUGLES NOUVEAUX DES SOURCES DU BANAT (ROUMANIE)

PAR

RADU CODREANU et DOÏNA BALCESCO

Pendant les derniers cinquante ans, une diversité inattendue des Dendrocœles obscuricoles a été mise en évidence en Europe, et la Roumanie compte parmi les régions qui ont déjà fourni un nombre élevé d'espèces caractéristiques de ce groupe. Grâce aux prospections extensives de nos biospéologues et aux matériaux réunis de longue date par l'un de nous, nous avons actuellement en étude une riche collection de Dendrocœlides hypogés provenant de nombreuses stations de notre pays, et qui vont augmenter notablement le nombre de ces endémismes dans la faune roumaine.

Leur densité considérable sur un territoire relativement limité nous semble s'expliquer, ainsi qu'il a été déjà dit à propos d'autres relictés aquatiques ([7], p. 398), par les conditions paléohydrographiques spéciales qui, à la fin du tertiaire, ont précédé la sédimentation de la terre ferme autour de la chaîne des Carpates. La présence d'espèces régressives, appelées troglobies, dans la nappe phréatique et ses affleurements, nous apparaît comme étant liée en première ligne aux vicissitudes paléogéographiques de leur aire actuelle de répartition. Le colmatage des grands bassins lacustres d'autrefois a progressivement refoulé les épigés limniques dans les sources et plus profondément dans les eaux souterraines, qui du fait de leur persistance ont assuré la survivance de ces relictés.

Le déterminisme paléogéographique dans la distribution des Paludicoles aveugles ressortira mieux au fur et à mesure des données que nous allons publier. Nous commençons par trois stations du Banat, d'où l'on ne connaît jusqu'à présent qu'une seule espèce cavernicole, *Dendrocoelum (Eudendrocoelum) botosaneanii* del Papa 1965, d'ailleurs insuffisamment définie. Tandis que tous les Dendrocœlides déjà décrits de Roumanie sont assez éloignés entre eux, les trois espèces examinées ci-après s'apparentent étroitement quant à la structure de leur appareil copulateur, et nous avons dû recourir aux différences existant entre leurs organes adhésifs pour les séparer définitivement.

Leurs traits communs les plus saillants sont les suivants: position des oviductes en dedans de la courbure du canal de la bourse copulatrice

comme chez les *Paradendrocoelum*; atrium mâle se prolongeant en un étroit conduit musculéux; même type du pénis, ayant un diverticule antérieur de la vésicule séminale, entre les trajets des vaisseaux déférents. Par ces caractères, elles se rapprochent le plus de *Dendrocoelum* (*Dendrocoelides*) *racovitzai* de Beauchamp 1949 de l'Olténie. Vis-à-vis de *Polycladodes voynovi* Codreanu 1929\*, elles s'écartent par l'emplacement des oviductes, la musculature externe du pharynx et la fossette adhésive. La position des oviductes ne suffit pas à les rattacher aux *Paradendrocoelum*, qui deviendraient un groupement artificiel si on y rassemblait toutes les espèces possédant ce caractère.

Passons successivement à la description de nos trois espèces nouvelles, qui correspondent jusqu'à plus ample informé au sous-genre *Dendrocoelides* de Beauchamp 1919.

### 1. *Dendrocoelum* (*Dendrocoelides*) *debeauchampianum* n. sp.

*Type de l'espèce.* Source de « Ogaşul Ulmului », affluent de Frăsincea, à Cornereva, district d'Orşova, région du Banat, juillet 1957, legit L. Boţşaneanu\*\*.

44 exemplaires, dont 11 sexués, fixés au liquide de de Beauchamp. Etude de 4 individus montés *in toto* et 4 séries de coupes frontales, sagittales et transversales, colorées à l'hématoxyline ferrique-éosine.

Taille après fixation de  $12,6 \times 3,2$  mm descendant jusqu'à  $4,5 \times 2$  mm. Corps peu ondulé sur les côtés, doublés par un discret liséré glandulaire; extrémité postérieure assez pointue. Bord frontal à peine différencié, montrant dans quelques sujets deux petits lobes latéraux et un rebord médian sécrétoire. Pas d'organe adhésif, les coupes sagittales n'offrant qu'une étroite zone épithéliale subterminale, remplie d'une sécrétion éosinophile et dépourvue de tout équipement musculaire.

Forme dépigmentée, yeux absents, orifice de la poche pharyngienne situé environ à  $2/3$  de la longueur totale, pore génital très postérieur, au niveau des  $4/5$  du corps. Tronc intestinal antérieur portant 12—16 paires de ramifications principales, les deux branches postérieures pourvues de 16—19, forment de petites digitations du côté interne surtout en arrière du pharynx et s'anastomosent en un court segment terminal, avec 2—3 paires de cæcums. Pharynx égal à  $1/5$ — $1/4$  de la taille, offre dans sa musculature externe, d'environ  $1/6$  de l'épaisseur radiaire, 3—4 couches circulaires en dedans de la longitudinale, tandis que sa musculature interne s'épaissit jusqu'à  $1/5$ , ayant 6—8 rangées circulaires entremêlées de 5 longitudinales.

Repérés d'après les spermatozoïdes accumulés dans les trompes, les ovaires se trouvent au niveau des deux premières paires de diverticules

\* Contrairement au doute émis par de Beauchamp ([1], p. 162), notre espèce obscuricole est bien un *Polycladodes* par les fibres longitudinales supplémentaires de la musculature externe du pharynx, la structure de sa fossette adhésive ovalaire et la conformation de son appareil copulateur, autant de caractères qui la rattachent indubitablement à l'espèce-type, *Polycladodes alba* Steinmann.

\*\* Voir le travail de cet auteur ([3], p. 23), pour les détails de la station.

digestifs antérieurs, étant suivis à la maturité complète, par les glandes vitellogènes brun verdâtre qui remplissent toute l'épaisseur du parenchyme interstitiel jusqu'à la queue. Elles refoulent les testicules uniquement dorsaux et s'étendant jusqu'à l'arrière du corps. Sur les côtés du pharynx et au-dessus de la zone copulatrice, les canaux déférents se dilatent en deux paires de réservoirs spermatiques.

Pénis trapu, au bulbe généralement surbaissé par rapport à la papille, qui se gonfle alors distalement par suite d'une énorme distension du canal éjaculateur. Par contre, lorsque celui-ci se rétrécit, il peut se produire un élargissement considérable de la vésicule séminale rehaussant le bulbe. Les canaux déférents y pénètrent du côté dorsal, longent la vésicule séminale, habituellement sous la forme d'un cæcum antérieur étroit, et s'ouvrent vers le milieu du pénis. L'épithélium papilleux de la vésicule séminale devient une assise cubique assez haute dans le canal éjaculateur et à la surface de la partie pénienne libre. Les fibres musculaires en coupole et les circulaires délimitant le bulbe font place aux muscles longitudinaux dans la papille, où ils alternent avec les circulaires, qui sont très renforcés distalement. Il n'y a pas de glandes particulières à signaler.

L'atrium mâle revêtu d'un épithélium fort aplati, sans musculature notable dans sa partie élargie abritant le pénis, se continue à droite vers l'atrium commun par un conduit long et étroit, recouvert d'un épithélium papilleux, entouré d'un manchon d'une seule assise de fibres circulaires, suivies de trois rangées longitudinales, surtout dans sa paroi dorsale. A son ouverture dans l'atrium commun, lequel a un épithélium cubique et une double couche circulaire, il reçoit dorsalement l'oviducte commun dilaté, accompagné de glandes coquillières roses et compactes. L'oviducte gauche passe entre le canal de la bourse et le conduit atrial mâle, réalisant une disposition caractéristique des *Paradendrocoelum*.

L'organe musculo-glandulaire, placé à gauche du pénis, est nettement plus petit que celui-ci et possède un bulbe très arrondi en contraste avec la papille courte et brusquement amincie, avec sa pointe recourbée vers l'ouverture génitale. Paroi du bulbe formée de fibres denses en coupole, le cul-de-sac glandulaire s'accompagne d'une sécrétion éosinophile métachromatique, un faisceau musculaire ventral extérieur au bulbe s'insère à la naissance de la papille.

Bourse copulatrice de hauteur variable présente un canal extrêmement élargi en son milieu, renfermant un riche épithélium papilleux, bordé par une gaine de trois rangées de fibres circulaires, parsemées d'éléments longitudinaux médians. Le canal se rétrécit à son embouchure dans l'atrium commun, se plaçant en face de l'orifice génital, marqué par des bouquets de cellules papilleuses et un sphincter qui continue la double couche de fibres circulaires du reste de la paroi atriale.

Cette nouvelle espèce se définit par l'alliance des caractères suivants : bord frontal réduit à un bourrelet glandulaire, papille pénienne massive, adénodactyle piriforme arrondi, situé à gauche, canal dilaté de la bourse copulatrice. Nous sommes heureux de la dédier à M. le professeur Paul de Beauchamp (Paris), qui a puissamment contribué au progrès de nos connaissances sur les Tricladés troglobies, y compris ceux de la Roumanie.

## 2. *Dendrocoelum (Dendrocoelides) atriostrictum* n. sp.

*Type de l'espèce.* Puissante source droite du ruisseau « Ogaşul Şere-  
niak », affluent gauche de « Valea Caraşului » à Caraşova, altitude 200 m,  
en bas des monts Semenic, district de Reşiţa, le 14 avril 1966, tempéra-  
ture de l'eau 10°C, roches calcaires, sous les pierres immergées.  
29 exemplaires vivants, jeunes et adultes, dont 10 sexués, fixation  
au de Beauchamp. Matériel étudié : 4 spécimens en préparations totales,  
colorées ou non au carmin aluné, et 5 séries de coupes frontales, sagittales  
et transversales à l'hématoxyline ferrique-éosine.  
Dimensions des sexués après fixation : de 11,5 × 4 mm jusqu'à  
8 × 2,8 mm.

Sur le vivant, corps rubané étroit, blanc laiteux, à l'intestin rosé  
ou grisâtre, tête sans trace d'yeux, ayant une pelote adhésive flanquée de  
deux lobes latéraux plus apparents lorsque la partie antérieure se soulève  
en extension maximum ; extrémité postérieure acuminée. Contractiles,  
les animaux serrent leur corps et se détachent difficilement du substratum.  
Après fixation, bord frontal trilobé, avec deux faibles éminences  
latérales obtuses, qui flanquent la portion médiane rétractée et se rabattent  
ventralement sous la forme de deux lèvres plus ou moins rapprochées.  
Côtés du corps légèrement ondulés, marqués par une bordure glandulaire  
prenant davantage le carmin. Sur les coupes sagittales, on distingue un  
véritable organe adhésif, avec une dépression subterminale bordée par  
un épithélium infranucléé, parcouru de glandes éosinophiles foncées, et  
sur lequel s'applique un plexus en éventail, qui se détache de la muscu-  
lature ventrale en la renforçant d'environ 4 rangées de fibres longitudi-  
nales jusqu'au niveau des ovaires.

L'orifice de la poche pharyngienne se trouve à un peu moins de 2/3  
du corps, l'ouverture génitale au 4/5, le pharynx semble plus court que  
dans l'espèce précédente, ne mesurant que 1/6—1/5 de la longueur totale.  
Musculature pharyngienne externe à 1—2 couches de fibres circulaires en  
dedans de la longitudinale, formant 1/10 de l'épaisseur radiaire, tandis  
que le manchon interne, constitué de 4—5 rangées circulaires alternant  
avec 3 couches longitudinales, égale 1/5 de la paroi du pharynx. Intestin  
offrant 13—15 paires de ramifications antérieures, 12—17 sur les branches  
latérales et 2—4 en arrière de la zone copulatrice, où les deux troncs s'anas-  
tomosent irrégulièrement, sans constituer un tronçon unique.

Ovaires avec leurs trompes remplies de spermatozoïdes placés der-  
rière la 2<sup>e</sup> paire de cæcums digestifs et suivis par les testicules et les  
glandes vitellogènes, qui arrivent jusqu'à l'extrémité postérieure. Nette-  
ment dorsaux, les testicules sont plus nombreux avant le pharynx, où  
il y a 4—5 follicules entre les diverticules intestinaux, alors qu'ils devien-  
nent épars dans la moitié caudale. De minuscules boucles de spermato-  
zoïdes situées à l'embouchure des glandes vitellogènes et longeant ven-  
tralement le trajet des deux oviductes, fournissent un aspect très carac-  
téristique dans les préparations totales. Réservoirs spermatiques des  
canaux déférents du type ordinaire.

Pénis de conformation semblable à l'espèce précédente, mais beau-  
coup plus allongé, avec sa partie distale élargie en une sorte de gland  
séparé par une constriction nette du reste de la papille. Musculature

assez dense à fibres convexes entrecroisées délimitant le bulbe élevé et  
le fond de la vésicule séminale, tandis que des couches longitudinales et  
circulaires alternent dans la papille, ces dernières étant épaissies sous l'é-  
pithélium cubique revêtant la base du gland et son orifice. Epithélium  
frangé dans toutes les cavités du pénis. Les canaux déférents traversent  
latéralement le bulbe, flanquant la vésicule séminale, généralement ré-  
trécie, parfois dilatée, et débouchent assez haut dans le canal éjaculateur,  
au-dessus des culs-de-sac de l'atrium mâle. La paroi du gland peut s'écarter  
pour élargir fortement sa lumière, ou bien elle se retire, en plissant dista-  
lement la papille refoulée vers la vésicule séminale distendue.

L'atrium mâle commence par une loge spacieuse entourant le pénis  
et se continuant sur la droite par un couloir étroit, qui s'ouvre dans l'atrium  
commun devant l'adénodactyle et l'orifice génital. Tapissé par un épi-  
thélium papilleux très fin, reposant sur une triple couche circulaire,  
bordée de 2—3 rangées longitudinales, ce conduit atrial reçoit distalement  
l'oviducte commun, qui se trouve embrassé par le canal de la bourse, de  
même que ses deux branches transverses, accompagnées de glandes co-  
quillières.

Organe musculo-glandulaire piriforme étroit, aussi long que le pénis,  
ayant le bulbe situé à droite de celui-ci et la pointe irrégulièrement recour-  
bée vers l'ouverture génitale. Il offre un plexus musculaire en turban très  
haut, suivi d'un cæcum glandulaire produisant une sécrétion basophile  
abondante.

Bourse copulatrice vésiculeuse ou polyédrique, plus haute que large,  
garnie d'un luxuriant épithélium papilleux, passant dans son canal qui  
court dorsalement et à gauche, avec une partie médiane fortement ren-  
flée. Gaine musculaire du canal composée de 2—3 rangées de fibres circu-  
laires internes et longitudinales externes. La musculature circulaire se  
dédouble au passage du canal de la bourse dans l'atrium commun, lequel,  
contrairement à l'espèce précédente, est fermé au niveau du vagin, car  
le pore génital se trouve ici sur la droite, corrélativement à l'adéno-  
dactyle.

*D. atriostrictum* n. sp., tout en offrant des ressemblances avec les  
deux autres espèces décrites ici, s'en écarte cependant par les caractères  
que voici : organe adhésif rétractile, mû par un plexus musculaire modéré ;  
gros pénis à couche circulaire distale délimitant un gland ; adénodactyle  
de la longueur du pénis et placé à droite, où c'est le canal de l'atrium  
mâle, et non pas celui de la bourse copulatrice, qui débouche devant l'ori-  
fice sexuel externe.

## 3. *Dendrocoelum (Dendrocoelides) banaticum* n. sp.

*Type de l'espèce.* Ruisseau Stirmine, à l'endroit appelé « Cuptor »,  
village de Brăduleţul de Jos (Maidan), district d'Oraviţa, le 7 octobre  
1961, legit L. Botoşaneanu.

46 exemplaires fixés au de Beauchamp, dont 11 sexuellement mûrs,  
18 pourvus de testicules et d'une ébauche copulatrice variable, 17 jeunes.  
Préparations étudiées : 10 *in toto*, avec ou sans coloration, 5 séries de coupes  
frontales, sagittales et transversales, colorées à l'hématoxyline ferrique-  
éosine.



Taille après fixation : sexués depuis  $9,5 \times 4$  mm à  $7 \times 2,8$  mm, jeunes jusqu'à  $5,5 \times 2,2$  mm.  
Par leur bord frontal fortement échanuré et les follicules testiculaires nettement détachés du parenchyme, les représentants de cette espèce font d'abord penser à *Dendrocoelum* (*Dendrocoelides*) *clujanum* Codreanu 1943, mais la conformation de leur appareil copulateur est tout à fait autre.

Corps assez contractile, ondulé sur les côtés, mais à liséré glandulaire peu marqué. Tous les échantillons fixés ont un bord céphalique profondément découpé par une forte rétraction de la pelote adhésive qui s'infléchit ventralement sous la forme d'une grande lèvre médiane. Sur les coupes sagittales, celle-ci est bordée par un épithélium infranucléé glandulaire très épais, bourré d'une sécrétion de bâtonnets éosinophiles foncés. Une traînée de petites glandes arrondies d'un rouge plus vif parcourt le parenchyme céphalique, s'entremêlant aux fibres dorso-ventrales et au puissant plexus en éventail, qui agit sur la bordure glandulaire. Ce dernier se développe aux dépens de la gaine musculaire ventrale, qui augmente de 5 à 7 couches de fibres, décroissant graduellement jusqu'en arrière des premières rangées de testicules. Il en résulte un organe adhésif plus complexe que dans l'espèce précédente.

Animaux dépigmentés, démunis d'yeux ; orifice de la poche pharyngienne à  $2/3$  et pore sexuel à  $4/5$  de la longueur totale. Pharynx égal à  $1/6$  de la taille, sa musculature externe, formée d'une couche longitudinale et 1-4 circulaires, vaut moins de  $1/10$  de la paroi pharyngienne, alors que la musculature interne, renfermant 6 rangées longitudinales qui alternent avec 7-8 circulaires, tend vers  $1/5^e$  de l'épaisseur radiaire. Cæcums intestinaux se répartissant comme suit : 10-13 paires sur le tronc antérieur, 14-18 sur les branches latérales et 1-4 après leur réunion postérieure, laquelle est extrêmement variable, ne formant pas un tronçon net. Sur leurs parties internes, les deux troncs latéraux bourgeonnent de nombreux diverticules courts, surtout chez les immatures bien nourris. Ovaires placés derrière la première ou la deuxième paire de cæcums digestifs antérieurs. Les testicules commencent après les paires 3-4, sont exclusivement dorsaux, et bien qu'ils accompagnent tout le réseau intestinal, leur densité maximum est dans la région prépharyngienne, étant très apparents, après ou sans coloration, même chez les spécimens à zone copulatrice incomplètement différenciée. Vitellogènes dispersées entre les ramifications intestinales du corps entier, et plus ventralement que les testicules, mais peu visibles dans les préparations totales.

Pénis cylindrique, moins long que dans l'espèce précédente, à la papille légèrement pincée au milieu ou raccourcie par un repli distal, est même apte à infléchir son bout dans la vésicule séminale excessivement dilatée, cependant sans jamais gonfler son extrémité en forme de gland. Les fibres lâches du bulbe font un contraste avec la texture compacte de la papille, due à des faisceaux de fibres longitudinales et surtout à une couche circulaire périphérique, qui déjà nette dans les culs-de-sac de l'atrium mâle, devient particulièrement dense dans sa région distale. Les canaux déférents entrent dorsalement dans le bulbe, où ils convergent relativement haut vers le canal éjaculateur, à la base d'une vésicule séminale, souvent étroite, mais qui peut être distendue lors

d'une forte rétraction de la papille. L'épithélium cubique externe de celle-ci fait suite à de hautes franges dans la lumière des canaux.

Autour du pénis, la partie élargie de l'atrium mâle a un épithélium presque bas, doublé de deux rangées de fibres circulaires, et d'une couche longitudinale, qui se prolongent par un long manchon de 4 rangées circulaires et 3 longitudinales, tapissé de hautes cellules papilleuses, conduisant à l'atrium commun, en face de la pointe de l'adénodactyle et de l'orifice sexuel. Juste à son abouchement, ce canal musculéux rétréci reçoit par en bas l'oviducte commun, dont la branche gauche accompagnée de glandes coquillières rouges, se fraye un passage entre le couloir atrial et la courbure ventrale du canal de la bourse, comme chez les *Paradendrocoelum*.

L'atrium commun, ayant de rares fibres circulaires et un revêtement aplati, forme un sphincter puissant et des bouquets de cellules papilleuses à l'orifice génital externe. L'organe musculo-glandulaire a son bulbe piriforme à droite du pénis et par sa papille vermiculaire, il dépasse nettement ce dernier en longueur. Son cul-de-sac glandulaire offre un double aspect sécrétoire : épaisse production basophile proximale et une fine sécrétion granuleuse vers sa pointe, qui est souvent engagée dans le vagin.

La bourse copulatrice, comprimée verticalement au début de la puberté, prend ultérieurement une forme lobulée élargie. Son conduit, légèrement aplati, est moins large que dans les deux espèces précédentes et également moins dévié à gauche que chez *D. (D.) atriostrictum* n. sp., aboutissant ici à proximité de l'ouverture sexuelle. Son riche épithélium papilleux est enserré par une couche circulaire et 2-3 rangées de fibres musculaires longitudinales qui s'atténuent à la courbure ventrale du canal, où s'épaissit en revanche le manchon circulaire en une sorte de sphincter vaginal.

Cette dernière espèce se caractérise par les traits suivants : organe adhésif avec un puissant plexus musculaire d'origine ventrale ; pénis uniformément calibré, à pointe rétractile et même invaginable ; organe musculo-glandulaire sur le côté droit et plus long que le pénis ; canal de la bourse sans dilatation marquée.

L'échancre frontale due à l'organe adhésif et l'invagination de la papille pénienne rappelleraient le *Dendrocoelum* (*Eudendrocoelum*) *botosaneanii* del Papa 1965, mais aucune conclusion n'est possible à cet égard, du fait que l'auteur italien attribue des caractères invraisemblables à son espèce : canal déférent unique perçant l'apex du bulbe pénien et oviducte commun débouchant dans le canal de la bourse, disposition propre aux *Dugesia* parmi les Planariides.

★

Vu le caractère préliminaire de ce travail, nous avons encore suivi l'opinion de de Beauchamp sur l'unicité du genre *Dendrocoelum*, mais son hétérogénéité croissante nous semble justifier de plus en plus notre proposition d'autrefois ([6] 1950, p. 636) de le démembrer, en érigeant en genres, tous les sous-genres dont on connaît des espèces oculées. Malgré leur labilité à l'obscurité, les yeux, là où ils existent, permettent une séparation taxonomique sans défaut.

Reçu le 6 mars 1967

Institut de Biologie « Traian Savulesco »  
Laboratoire de Morphologie animale

## BIBLIOGRAPHIE

1. BEAUCHAMP P. de, *Turbellariés, Hirudinées, Branchiobdellidés*. Deuxième série. Arch. Zool. exp. gén. Paris, 1932, **73**, Biospeologica, 58, 113—380, 55 fig., 3 pl.
2. — *Turbellariés*. Troisième série. Arch. Zool. exp. gén. Paris, 1949, **86**, Biospeologica, 69, 50—65, 4 fig.
3. BOTOȘĂNEANU L., *Cercelări asupra Trichopterelor din masivul Retezat și Munții Banatului*. Acad. R.P.R. Bucarest, 1959, 165 p., 32 fig.
4. CODREANU R., *Polyeladodes voynovi n. sp., nouveau Triclade obscuricole de Roumanie*. C. R. Soc. Biol. Paris, 1929, **101**, 963—966, 1 fig.
5. — *Dendrocoelum (sous-genre Dendrocoelides) clujanum n. sp., nouveau Triclade sous-terrain de Transylvanie*. Anal. Acad. Rom., Bucarest, 1943, Mem. Sect. Șt. ser. III, **18**, 7, 135—158, 3 fig., 4 pl.
6. — *O nouă triclădă epigea relictă din defileul Dunării, Palaeodendrocoelum romanodanubiale n.g. n.sp.* Anal. Acad. R.P.R., Bucarest, 1950, Ser. Geol. Geogr. Biol. **3**, mem. 16, 599—641, 3 fig., 2 pl.
7. — *Răspândirea unei Planarii polifaringiene Crenobia alpina montenigrina (Mrázek 1903) în Carpații sudici*. An. Inst. Cerc. Pisc. Bucarest, 1956, **1**, 325—399, 3 fig., 1 pl.
8. PAPA R. del, *Descrizione di Dendrocoelum (Eudendrocoelum) botosaneanii n. sp. della grotte del Banato (Romania)*. Monit. Zool. Ital. Firenze, 1965, **73**, 156—162, 4 fig.

## 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 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 Independenței, Bucarest.