

COMITÉ DE RÉDACTION

Rédacteur en chef :

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

Rédacteur en chef adjoint :

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

Membres :

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

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

La «REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE — série de ZOOLOGIE» paraît 6 fois par an.

Le prix d'un abonnement annuel est de \$ 6, — ; FF 29, — ; DM 24, —.

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.

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

— SÉRIE DE ZOOLOGIE —

TOME 13

1968

N° 2



SOMMAIRE

	<u>Page</u>
MIHAI BĂCESCU, <i>Afromysis guinensis</i> n.sp. and <i>Brasilomysis castroi</i> n.g. n.sp. from the waters of the tropical Atlantic	75
N. HONDRU, Neue <i>Sciaridae</i> -Arten (<i>Diptera-Nematocera</i>) . . .	87
ELENA TRACIUC, L'appareil génital femelle de <i>Pardosa proxima</i> (C.L. Koch) 1848 (Fam. <i>Lycosidae-Araneae</i>)	99
ZOE PETRE, MARIA CALOIANU and ALICE SĂVULESCU, Histopathological studies concerning the nuclear polyhedrosis virus changes in <i>Lymantria Dispar</i> L. larvae . . .	105
E.A. PORA, I. MADAR, NINA ȘILDAN-RUSU et A. ABRAHAM, Interaction entre les hormones corticoïdes et l'insuline dans le métabolisme glucidique chez <i>Rana esculenta</i>	111
MATHILDE JITARIU, HÉLÈNE HEFCO, WALTER MÜLLER, I. BOIȘTEANU et G. DAVIDEANU, Le rôle des substances caroténoïdes dans le développement embryonnaire des Salmonides	117
A.D. ABRAHAM, E.A. PORA, NINA ȘILDAN-RUSU and F. HODOȘAN, Studies on the thymolytic activity of pregn-5-ene-20-ones	125
C. WITTENBERGER, Alterations of the carbohydrate metabolism in trout, induced by effort and hypoxia	131
NICULINA VIȘINESCU, The homeostasis and rhythms of the energetic metabolism, body temperature and motor activity in hamster (<i>Cricetus cricetus</i> L.)	139
RADU CODREANU et DOÎNA BALCESCO, Révision et mise en synonymie de quelques Dendrocoelides obscures nouvellement décrits de Roumanie	145

AFROMYSIS GUINENSIS n. sp. AND *BRASILOMYSIS CASTROI* n.g. n.sp. FROM THE WATERS OF THE TROPICAL ATLANTIC

BY
MIHAI BĂCESCU

Descriptions of a new Mysid species of the Guinea shore, *Afromysis guinensis*, and of a new genus and species — *Brasilomysis castroi*, from the waters of the Brazilian coasts. *Mysidopsis californica* Tatt., a species known previously from the Pacific waters (California) only, is cited as the main biotope partner of the latter and emphasis is laid on the Pacific affinities of the Brazilian Mysid fauna.

There are in the tribe Leptomysini 4 very close genera, namely *Doxomysis* Hansen 1917 (including 9 species), *Tenagomysis* Thompson 1900 (including 11 species), *Afromysis* Zimmer 1916 (including 6 *bonae* species) and the recently built *Iimysis* Nouvel 1966 (including 2 species). It is probable that 2 of these can be maintained only as subgenera. While a revision of the above mentioned genera has become imperative, it should be based on the study of the microstructures of the different appendages, especially the structure of the male pleopod 3, which shows definite sexual characters, when the males of all these *Leptomysini* species are described. Till then I include in the genus *Afromysis* (an Indo-West Atlantic genus characterized by the peculiar structure of its oral parts) a new species occurring on the sandy coast of Guinea, not far from the mouths of the Niger river. Within the genus, this new species is distinguished as follows :

KEY TO THE IDENTIFICATION OF THE *AFROMYSIS* SPECIES¹⁾

- 1 (2) Cervical fold of carapace with 2 pairs of digitiform projections mediodorsally, anteriorly directed. Integument hirsute
1. *A. ornata* O. Tatt. 1957. Atlantic Ocean (off Nigeria)

1) In agreement with Nouvel's argumentation [4] I consider that *A. australiensis* Tatt. 1940 [6] should be transferred into the genus *Doxomysis* by having maxillar palpus trapezoid, with only 10 spine-like laminae and 4-jointed pereopodal propodus.

- 2 (1) Carapace without special projections. Integument smooth. . . 3
 3 (4) Telson armed with spines throughout the length of its sides 2. *A. hansonii* Zimmer 1916. West of South Africa.
 4 (3) Telson with unarmed portion in proximal half of its sides . . . 5
 5 (6) Unarmed portion separated from telson base by 1 latero-proximal spine only and telsonal sinus with 3—4 lateral laminae only 3. *A. dentisinus* Pillai 1957. India
 6 (5) Unarmed portion separated by series of 3—6 latero-proximal spines each; telsonal sinus narrow with more than 10 pairs of laminae 7
 7 (8) Terminal joint of maxillar palp very much elongate; telson and uropodal endopodite with broadened spines 4. *A. macropsis* W. Tatt. 1922. India
 8 (7) Terminal joint of maxillar palp dorsoventrally broadened, its appearance recalling the crescent rather than the acute angled triangle 9
 9 (10) Telson with 3 lateroproximal spines. All pereopods with 2 propodal joints. Uropodal endopodites with some 30 relatively distanced spines. Body length 6 mm. 5. *A. bainbridgei* O. Tatt. 1957. Atlantic, Sierra Leone
 10 (9) Telson with 4—6 latero-proximal spines. Pereiopods I—IV with 2 propodal joints, pereopod V with 3 propodal joints. Uropodal endopodites with 45 strong, dense spines. Body length 9 mm 6. *A. guinensis* n. sp. Atlantic, off Guinea

Afromysis guinensis n. sp.

(Figs 1 and 2)

Occurrence: Atlantic Ocean, coasts of Guinea; sand beach, 0.5 m depth, 15 July 1967; leg. I. Vasilescu.

Type specimen: 1♀ = 9.5 mm under no. 84, deposited in the Crustacean Collection of the "Gr. Antipa" Museum of Natural History, Bucharest.

Description. Body form robust, strikingly deep in coloration (resembling *Leptomysis lingvura*). Carapace short, completely uncovering last pleonite which is in the shape of a brown ring. Rostrum large triangular. Eyes globular, the cornea occupying half of its volume (Fig. 1A).

Antennular peduncle with distal joint produced (Fig. 1A) and with long flagellum provided with fine curled setae.

Antennal scale lanceolate, with apical lobe provided with 4 terminal setae and one subterminal seta. Its peduncle half its length (Fig. 1B).

Labrum not acute anteriorly. Mandibles (Fig. 1C) very similar to those of *A. hansonii*, but differing from those of *A. bainbridgei* in that the left mandible has more complicated portion above the lacinia mobilis which is trifid and with serrate denticles.

Fig. 1. — *Afromysis guinensis* ♀

A, Antennule and eye; B, antenna; C, masticatory surfaces of mandibles; D, maxillule; P, outgrowth characteristic for the genus, d, spine-like denticles; E, maxilla, arrow pointing to type of phanera on concave side of last segment of its palp; F, maxillipedes I and II (gnathopods) (orig.).

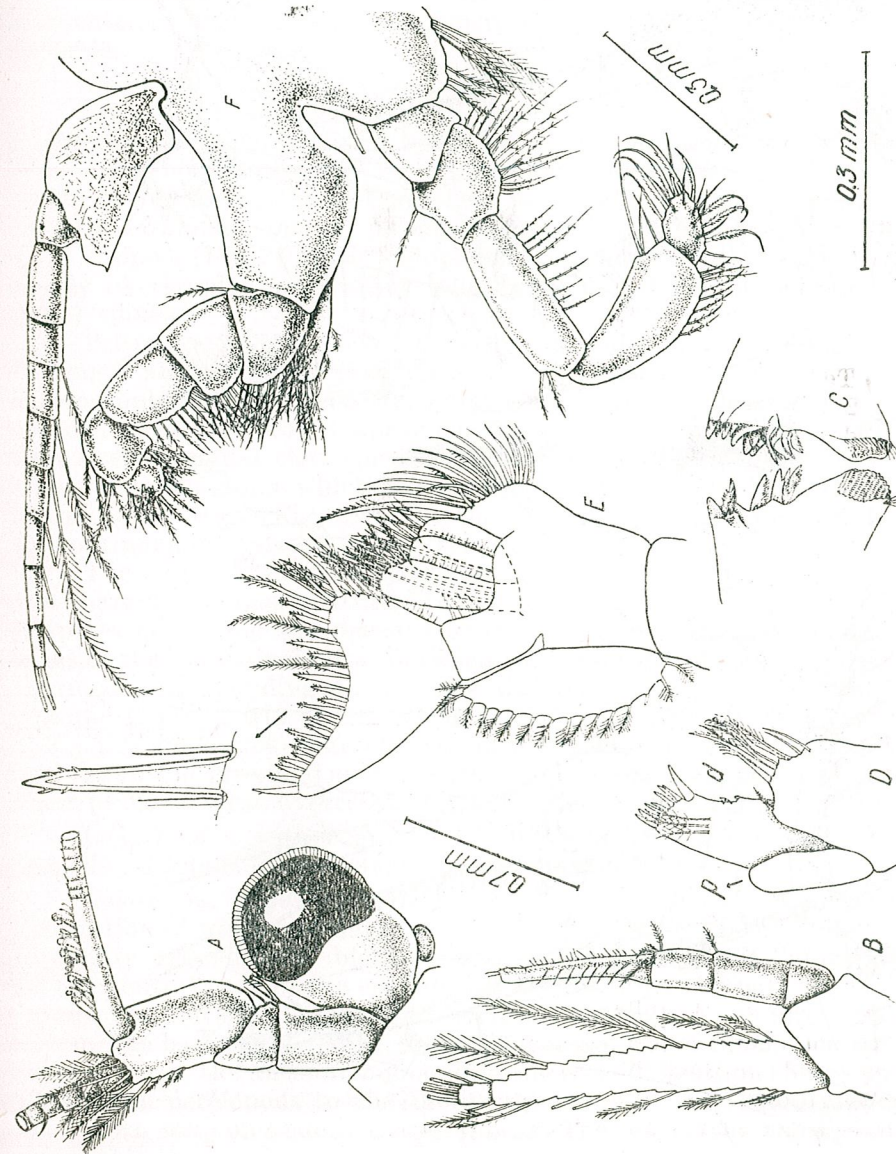
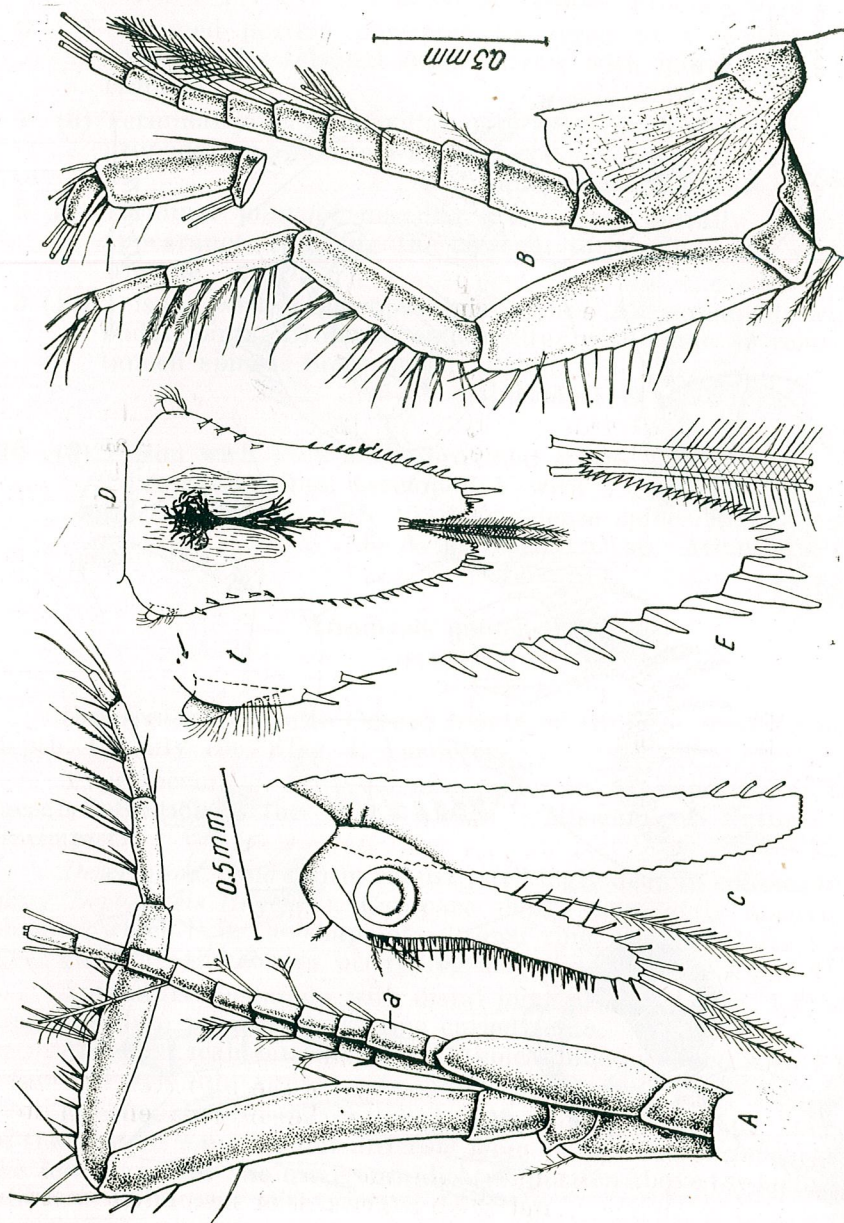


Fig. 2. — *Afromysis guinensis* ♀
 A, Pereiopod V (gnathopod 7); a, supplementary flagellum (anomaly) of its exopodite; B, pereiopod II; C, uropods; D, telson with hairy tubercles (t); E, tip of one of the lobes of the telson, enlarged (orig.).



Exopodite of maxillule with marked projection (*p*, Fig. 1D) which is, as a matter of fact, characteristic in the genus, and with 2 denticles (*d*, Fig. 1D) on lower portion. Endopodite with median phanera much stronger than those drawn for *A. bainbridgei* (Fig. 10D, O. Tattersall, 1957).

Maxilla with the distal segment of the palp typically broadened, more or less crescent-like in this species; its distal concave portion armed with more than 20 laminae spine-like but not segmented, double-serrate distally (Fig. 1E).

Thoracopods I and II as usually in the genus (Fig. 1F) with 7–8–segmented exopodite, the basal segment dorsally produced into a spine-like tubercle.

Pereiopods delicate, carpus and meros more swollen in p. I–IV.

Propodus bi-segmented in the pairs I–IV (Fig. 2B) and definitely tri-segmented in pereiopod V which bears an enormous, brown in coloration, marsupial plate (Fig. 2A). Pleopods uniramous; those of pair IV larger than the remaining ones. One pereiopod V with exopodite exceptionally biramous, one of the rami being short (*a*, Fig. 2A).

Uropods (Fig. 2C) with endopodite armed with more than 45 irregular, closely overlapping and rather long ($1/3$ – $1/2$ of the breadth of the lamina) spines.

Telson very little curved dorsally and only in its proximal portion, its length about that of last pleonite, with weak musculature and huge chromatophore. Its length (terminal spine included) less than twice its breadth (ratio 10 : 5.5). Shape of the telson as usual in the genus (Fig. 2D) with deep terminal cleft (measuring $5/6$ of the telson in length) armed with some 45 laminae which become progressively longer toward the ends of the apical lobes (Fig. 2E). On the outer half of the lobes the laminae are continued by 2 strong spines (the inner spine twice as short as the outer one). The sides of the telson are armed with 4–5 proximal submarginal (not marginal) spines ventrally that are hardly visible and with 13 pairs of spines occupying the margins of the posterior half that complete the series of the 2 terminal ones. Between the two rows of lateral spines a gap unarmed corresponding to a space for about 4 spines. On the dorsal proximo-lateral parts of the telson occur 2 hairy outgrowths (tubercles) (*t*, Fig. 2D and arrow) characteristic in the species. Their occurrence makes that the row of proximal spines begin farther down from the base of telson. Their plumose setae overreach in length the terminal spines.

Length of ♀ with 8 embryos = 9.5 mm from tip of scale to tip of uropods : 8.5 mm from rostrum to tip of telson.

Coloration. *A. guinensis* is extremely striking by its coloration, a variegation of white and dark brown. The last abdominal pleonite and last pereionite are entirely black-brown, both appearing as 2 dark rings. All the ventral part of the cephalothorax including the base of the thoracopods, the marsupial plates and the lower side of the pleonites are black-brown. The base of the telson, the inner sides of the uropodal endopodites, the oral parts, the antennule including the base of the inner flagellum, the cornea, the pereiopods to the meros are more or less equally black. A pale brown strip on abdomen and thorax. The rest of the body is more or

less transparent. Embryos translucent white, without any other addition of colour.

Type species is preserved in the "Gr. Antipa" Museum of Natural History Bucharest, Collection of Crustacea no 84.

Ecology. It is assumed that the species is a psammobiont since it was taken by dredging the sand with a fine dredger. The same dredge yielded 10 *Exocirrolana* and 2 *Amphipoda*.

Few ecological data are available concerning the remaining species of this genus. However, all are more or less transparent or occurring in pink hues.

Remarks. As can be seen from the above Key to identification of the species of the genus *Afromysis*, the new species is allied only with *A. bainbridgei* among the 6 known species of the genus, being especially similar in the maxillar palp and the anterior part of the body. However, it is easily distinguished from that species by its larger size (9.5 mm as to 6.4 mm the largest *A. bainbridgei* of the 250 specimens examined by O. Tattersall [3], by the presence of 3 propodal segments in pereopod V (in *A. bainbridgei* only 2 are described and figured), by the presence on the telson of 2 proximal hairy outgrowths (tubercles) (not occurring in *A. bainbridgei*) which determined a more remote insertion of the row of lateral spines and by a greater eccentricity of the apical spines of the lobes. Also, the uropodal endopodite bears more numerous, longer and denser spines than in *A. bainbridgei* and the telson is not so hollowed.

Brasilomysis n. g.

In a large sample of Mysids from the Brazilian waters sent to me by Dr A. Lemos de Castro predominate the genera *Promysis*, *Metamysidopsis* and particularly *Mysidopsis*, all of which are members of the tribe *Leptomysini*.

While examining the 3 *Mysidopsis*-species which I found in the sample my attention was drawn by the utmost elegance of several specimens having long pedunculate eyes, in striking contrast to the stout, globular eyed forms that characterize the genus *Mysidopsis*. The study of that mysid led me to the conclusion that it should be separated as a new genus (including perhaps also *Mysidopsis inermis* Coifmann 1937 [1] and named it *Brasilomysis*. The genus is characterized as follows:

Body very slender, recalling a *Mesodopsis* rather than a *Mysidopsis* especially if one considers the long pedunculate eyes that lack the dactylar process. Antennal scale extremely long and narrow with definite apical segment. Mandible reduced as a narrow molar part.

Pereiopods long and fine, each having 3 propodal joints. *The carpus of the last pereopod with a typical row of 10 to 15 phanera on postero-lower face having the appearance of papillaceous hooks with flagellate end*; opposing face with 4 to 6 strong spines, flagellate in the female specimens, short and not flagellate in the male specimens. This last pereopod in a natural position always stands pointing backwards, while the remaining pereopods point forwards (Fig. 3A).

Three pairs of oostegites in the females. Male pleopod IV with terminal, dimorphic spine-like seta as in the genus *Mysidopsis* Telson long, tongue-shaped, more or less naked in its terminal quarter and in remaining part of it having spinules gradually becoming large, close-set phanera, mucilaginous at their end, resembling by their shape some chisels drawn upwards.

Uropodal endopodite without spines or at the most with a minute spine.

Remarks. The typical features of the new genus are the particular structure of the carpus of the last pereopod, the occurrence of large phanera on the telson, and the utmost elegance of its profile, the extreme length and fineness of all appendages. The structure of the carpus of the last pereopod — which also marks definite sexual dimorphism — is generally unknown in the telson of Mysida, being comparable only to the chisel-like spines of the uropodal endopodite of *Mysidopsis californica*.

Brasilomysis castroi n. sp.

(Fig. 3 and 4)

Occurrence: Atlantic Ocean off the Brazilian shore, Ubatuba, São Paulo, 24.7.1967, 6♀, 2♂, and Saco de Mangaratiba, Sepetiba Bay, State of Rio de Janeiro, 21 Jan. 1959, leg. A. Lemos de Castro and Acoelho (20 ♀♀, 2 ♂♂)

Description. Very slender animal (Fig. 3A) with carapace produced in front into a short circular or even slightly concave plate (Figs 3D and 4E) overreaching eye base, bending suddenly over eyes and folded in terminal half (Fig. 3D). Antero-lateral corners of carapace rounded. Eyes with long, cylindrical peduncle without dactylar process; the rate between the eye length (peduncle plus corneal part) and the maximum eye diameter (at corneal part) is 2.5 (Figs 3E and 4E).

Antennae extremely long, with more swollen terminal joint in the male and yet not as enormous as in *Mysidopsis californica*, its biotope partner, and with rich sensorial ciliation on the male appendage (Fig. 3B), without separate spines or setae. The scale of the antenna is characteristic, nearly styliform, about twice overreaching the peduncle of A_2 and by a quarter that of A_1 . The rate between its length and maximum breadth is 14 (Fig. 4A), by which it resembles only *Mysidopsis (Brasilomysis inermis)* (Coif.). The definitely separate apical joint (not acute as in *Mysidopsis californica* ♂) representing 1/7 of the scale length; minute spinule at outer side of its base, underneath.

Mandible with huge yet usual palpus (Fig. 3C) in contrast to a minute yet complicated masticatory part (Fig. 3c) without laciniae mobiles.

Maxilla I (Fig. 3F) and maxilla II rather of the *Mysidopsis* type. The palpus and the exopodite of maxillae fine and densely ciliate on margins (unlike as in the endites); exopodite small, narrow with only 4 setae, all terminal as in *B. inermis* (Fig. 3G).

Maxillipede likewise of the *Mysidopsis* type (Fig. 3H), having 9-jointed exopodites.

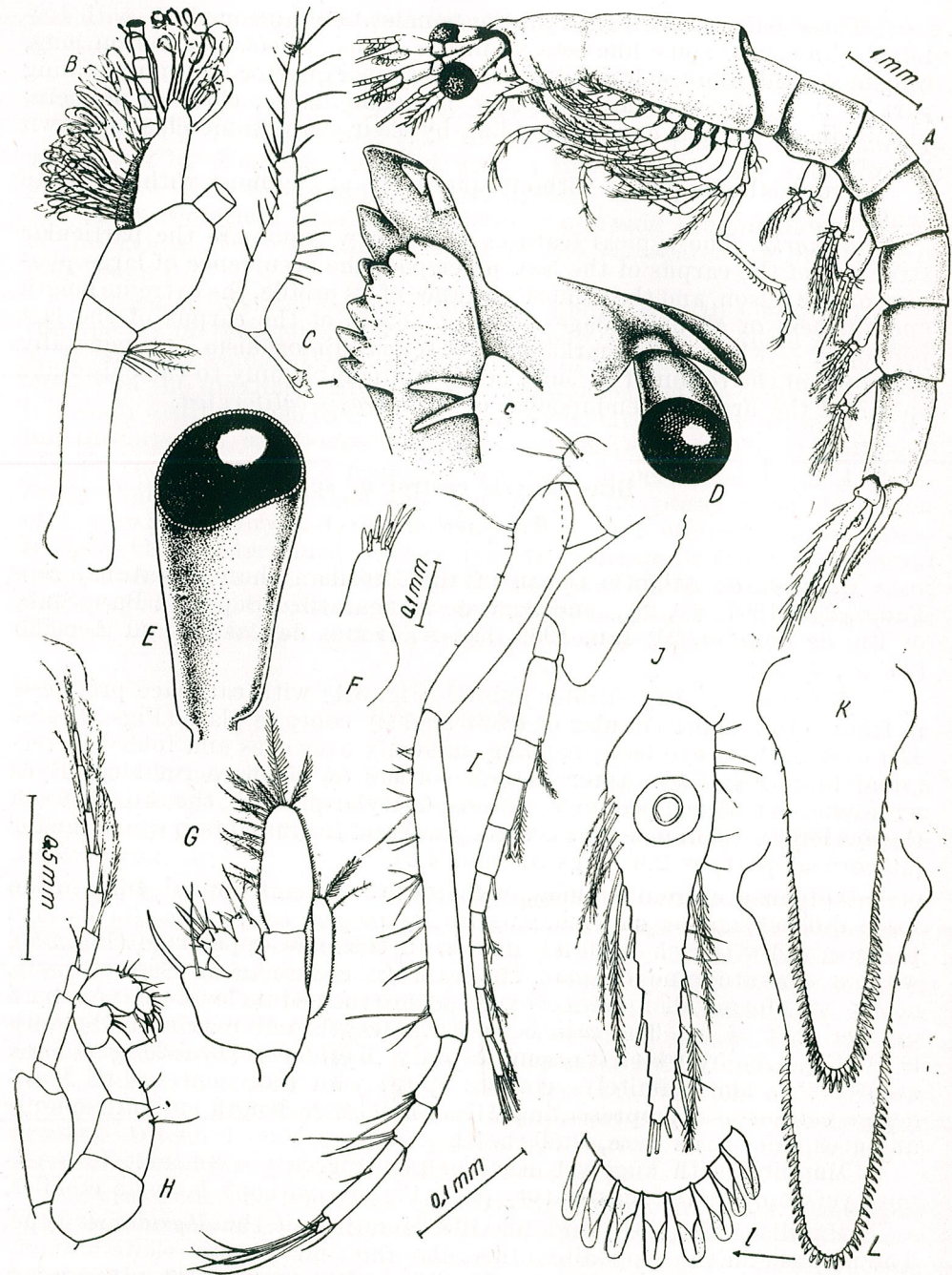


Fig. 3. — *Brasilomysis castroi* n.sp. (♂ = 8 mm)

A, ♂, profile; B, antennule; C, mandible and its palpus; c, masticatory part of left mandible; D, rostrum, profile; E, eye; F, maxillule; G, maxilla; H, maxillipede I; I, pereopod I; J, uropodal endopodite; K, ♂ telson; L, ♀ telson; l, apical part of ♀ telson, enlarged (orig.).

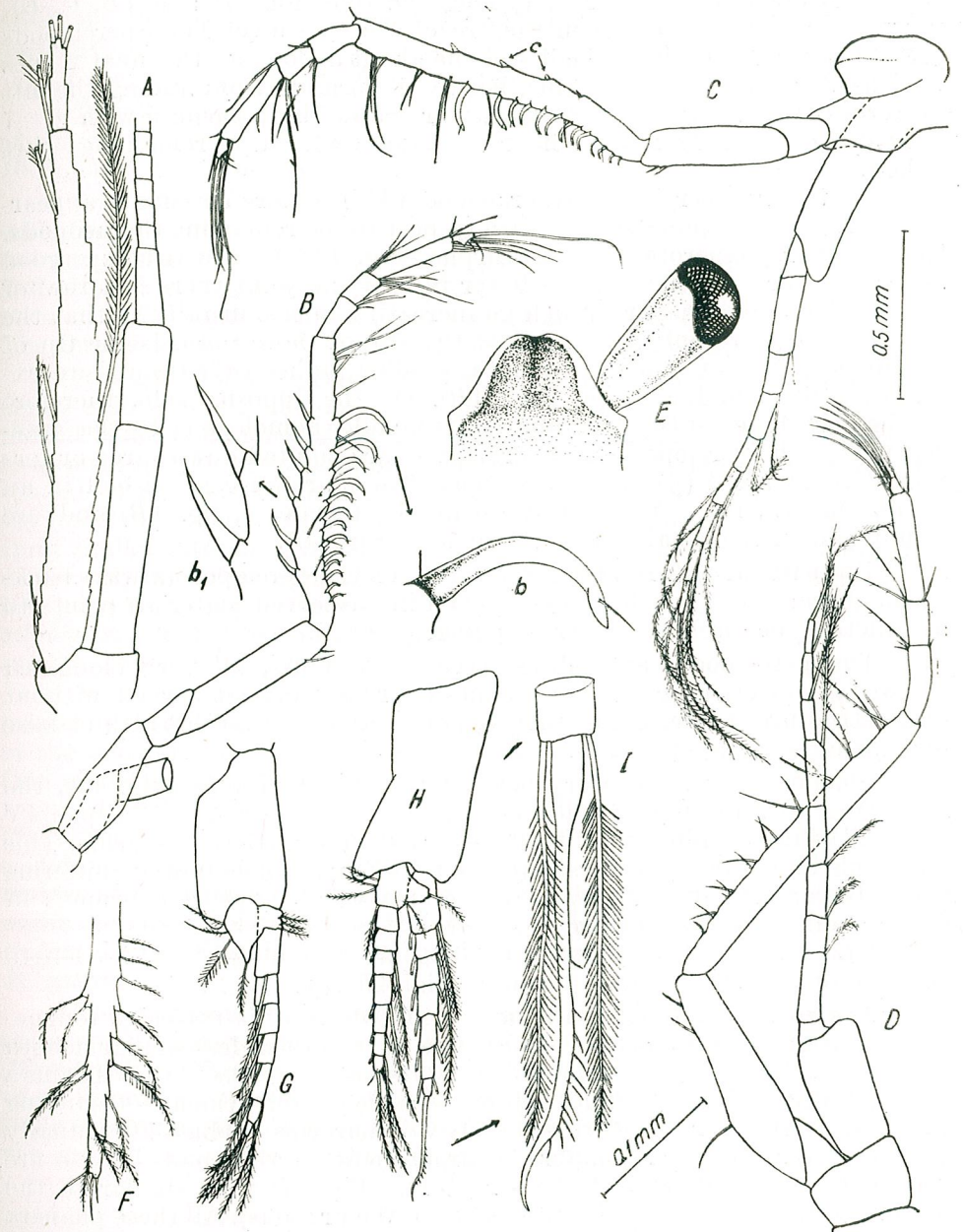


Fig. 4. — *Brasilomysis castroi* n.sp. (♀ = 10 mm, ♂ = 8 mm)

A, antennae; B, last pereopod (thoracopod VIII)♀; b, one of typical, sickle-like, adhesive phanera, enlarged; b₁, two of typical flagellate spines of anterior face of its carpopodite; C, last pereopod of ♂ individual, with minute carpal spines (c); D, pereopod III of one female specimen; E, rostrum and eye viewed from above; F, ♀ last pleopod; G, ♂ pleopod I; H, ♂ pleopod IV; I, dimorphic phanera of its exopodite, enlarged (orig.)

Pereiopods I–IV extremely long and fine (Figs 3I and 4B, C, D), usually forward directed when they reach the eyes level. These pereiopods present 3 propodal joints, the distal one about as long as the next 2 ones together, and a minute dactylus, hardly discernible from among the tuft of terminal setae (6–7). Paradactylar claws fine; carpus with 6–7 bunches of 2–4 hairs on infero-anterior face, the remaining part naked.

Last pair of pereiopods (thoracopod VIII) is more massive in appearance, *always backwards directed* with respect to the remaining thoracopods. The peculiar phanerotaxy of its carpus (Fig. 4B, C) constitutes a good generic feature. Indeed, on the lower face of the joint there is a row of 10–15 sickle-like phanera which go increasing in size distally so that the proximal ones are only 1/4 or 1/3 of the size of those towards the tip of pereiopod and they end in a smooth, swollen (adhesive?) tip and an external, subterminal cilus (*b*, Fig. 4B). On the opposite side, therefore on the dorsal face of the joint and in its middle (homologous to the anterior face in the pereiopods that normalwise are pointed downwards or forwards) there are 4 (♂) or 6 (♀) spines. These are strong and end in an acute, smooth, flagellum shaped tip in the female (*b*, fig. 4B) and are minute and of the usual type in the male (*c*, Fig. 4C).

Both the armature and the position of this pereiopod (always backwards directed — as in Fig. 3A —, even in preserved material) points to a function of prehension or clinging.

The pereiopodal exopodites have 8–9 joints, all very elongate; the distal end of the base of the joints is prominent but curved without other structures there. Penis minute, hardly thicker than breadth of base of exopodite of pereiopod V.

Pleopods of the natatory type; first one uniramous (Fig. 4G), the remaining ones biramous, with 7–8 joints for each ramus. Pleopod IV (Fig. 4H) with terminal thorny seta, serrate on slightly curved side. This seta slightly overreaches the subapical setae (Fig. 4I), definitely differing from similar seta in *Mysidopsis californica* which appears enormous in comparison with the former.

Last female pleopod twice as long as remaining ones, its length nearly equal to that of last pleonite (Fig. 4F).

The telson, as long as its supporting pleonite, is typically tongue-shaped, of the *Mysidopsis californica* type. It is more or less similar in both sexes (Fig. 3K); the proximal third of its sides is naked, then begins a series of small sparse spinules of the usual type and which — beginning with the 9th (♂) or the 15th (♀) — have their tips “jellied”, gradually becoming very peculiar phanera, characteristic of the genus. These are broadened close set, shovel-like structures (Fig. 3I) very similar to the features found in *Mysidopsis californica* (in the uropods). All these phanera are upwards directed and are smooth and adhesive in appearance. One may count to 68–76 similar shovel-like spines.

The uropods are longer than the telson; the inner uropod (Fig. 3J), about as long as telson, is bearing a large statocyst but lacks spines. It is only in 2 cases out of 10 examined male uropods that I was able to trace one minute spine on statocyst.

The size, more or less equal in both sexes, reaches 10–11 mm in adult specimens (size measured from tip of A_1 to tip of uropods); standard size only 7–9 mm.

Ovigerous females with 6–10 eggs or embryos.

Type specimen (♀) under no 85 deposited in the Crustacean Collection of the “Gr. Antipa” Museum of Natural History, Bucharest. Paratypes: 10 ♀♀ and 3 ♂♂ from Ubatuba.

Coenosis. *Brasilomysis castroi* was captured at Ubatuba together with *Promysis atlantica* W. Tatt. (8 ♀♀, 10 ♂♂, all adult specimens although not surpassing 6 mm in size), *Metamysidopsis* n. sp. (5 ♂♂, 4 ♀♀, 2 juv.) and *Mysidopsis californica* (17 ♂♂, 11 ♀♀, all of them adult individuals measuring 7–8 mm); the two last species are new in the Brazilian waters. The former species was recently recorded by Da Costa [2].

Remarks. Of all species referred to as *Mysidopsis* till lately, *Brasilomysis castroi* resembles only *M. inermis* Coifmann 1937 [1]. They have indeed some common features, *e. g.* body elegance, slender appendages, long pedunculate eyes, peculiar structure of maxilla II. Perhaps also the special structure of the last pereiopod. I say perhaps, because its author says nothing about it in his text, but his drawings of the propodal joints show similar rates as found in our species; moreover, he gives the drawing of the carpus of that appendage, which shows both margins dentate (Fig. 5A, page 10). I suppose the teeth he saw are the typical phanera of *Brasilomysis*. For that reason I transfer this species from the genus *Mysidopsis* to the new genus *Brasilomysis*.

B. inermis differs from *B. castroi* by its triangular rostrum, by a longer dimorphic seta of pleopod IV, by the spinulation of the usual type of the telson as well as by its smaller size (adult individuals: 5–7 mm). One of its features, strongly emphasized by Coifmann [1] (twice in the text and in Fig. 5D) is the absence of a terminal joint in the antennal scale (“assenza di sutura nella squama”, *i.e.*, p. 10). This feature could be quite a definite separating character if one had the certainty this is not a matter of inaccurate observation. Anyhow, the type specimen of *Brasilomysis inermis* was captured at the mouth of the Guyas river, in the Pacific waters off the Ecuador. As such it is geographically well separated from *B. castroi*.

The common occurrence of this genus in the littoral Pacific waters of tropical America similarly as that of the genus *Metamysidopsis* and of *Mysidopsis californica* in the Atlantic waters of tropical America points to an impressive similarity of faunas which in its turn points clearly out to some communication of both regions that are zoogeographically older than the present water way of the Panama Channel.

REFERENCES

1. COIFMANN ISABELLA, Ann. Museo Zool. Univ. Napoli (N. S.), 1937, 7, 3, 1–14.
2. DA COSTA H. R., Bol. Museum Nacional N.S. Brasil Zool., 1964, 247, 1–9.
3. II N. *Mysidae* — *Fauna Japonica*, Tokyo, 1964.
4. NOUVEL H., Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 1966, 102, 1–2, 319–324.

5. PILLAI N. K., Bull. Central Res. Inst. Univ. Tranvancore, ser. C., 1957, 5, 1.
6. TATTERSALL W. M., Rec. Austr. Mus. Sidney, 1940, 20, 5, 327—346.
7. — A review of the Mysidacea of the United States, National Museum. Bul. 1951, 201.
8. TATTERSALL OLIVE S., Proc. Zool. Soc., 1957, 129, 1, 81—128.
9. ZIMMER C., Michaelsen Beiträge zur Kenntnis der Meeresfauna Westafrikas, 1916, 2, 55—66.

“Gr. Antipa” Museum
of Natural History
Bucharest

Received November 14, 1966

NEUE SCIARIDAE-ARTEN (DIPTERA-NEMATOCERA)

VON

N. HONDRU

Five new species are described in this work: *Trichosia* (*Leptosciarella*) *longistilis*, *Corynoptera tridentata*, *Epidapus* (*Epidapus*) *fagicola*, *Bradysia spinidensa*, *Bradysia lobata*.

Trichosia (*Leptosciarella*) *longistilis* n. sp.

(Abb. 1)

♂ Körperfarbe schwärzlich-braun, Flügel durchsichtig gelb, Beine gelb-braun und etwas dunkler an den Tarsen.

Augen mit kurzen Haaren bedeckt; Augenbrücke 2—3reihig, 4. Fühlergeißelglied 1,5mal so lang wie dick; Hälse der Fühlergeißelglieder normal länglich.

Die 3gliedrigen Taster (Abb. 1C) ähnlich denen der Art *Tr. atricha* Tuomik.

Flügel mit $r > r_1$, im Verhältnis von ungefähr 2 : 1; r_1 endet vor der m-Gabelung und trägt 5—6 Makrotrichien; $c=2/3w$; m-Stiel länger als m_1 und m_2 , wenig sichtbar am Präparat. m-Gabel und Cu_{1a} mit Makrotrichien; Cu_{1b} ohne Makrotrichien; x-Segment etwas kürzer als y, nackt; y am Distalende mit 1—2 Makrotrichien; Cu-Stiel $1/2x$.

Postpronotum nackt, Anteppronotum mit 3 Stacheln. Episternit mit 6—8 Stacheln in einreihiger Anordnung.

Genitalien wie in Abb. 1A. Stylus (Abb. 1B) länglich, morphologisch ähnlich dem der Art *Tr. atricha* Tuomik.

Die beschriebene Art unterscheidet sich von *Tr. atricha* Tuomik, durch folgende Merkmale:

<i>Trichosia longistilis</i> sp. n.	<i>Trichosia atricha</i> , Tuomik
Augenbrücke : 2—3reihig	Augenbrücke : 3—4reihig
Ind. 4 Af : 1,5	Ind. 4 Af : 2,0—2,2
$c = 2/3 w$.	$c = 1/2 w$
$r > r_1 = 2 : 1$	$r < r_1$
Fühlergeißellänge : 1,108 mm	Fühlergeißellänge : 1,6 mm

Abb. 1. — *Trichosia longistitis* sp. n.

A, Männliche Genitalien, Ventralansicht; B, Stylus, Ventralansicht; C, Taster; D, Vorderschienenende.

Flügelänge : 1,650 mm
Flügelbreite : 0,675 mmFlügelänge : 2,15 mm
Flügelbreite : 0,85 mm

Rumänien : Călugăreni (Bezirk Ilfov) 3.VII.1964, 3♂♂ : 7.VII.1964, 8♂♂.

Biometrik

	Min.	Max.	Med.	Bein	Beinglieder	Min.	Max.	Med.
Körper	2,175	2,500	2,358	I	Schenkel	0,450	0,575	0,516
					Schienen	0,550	0,650	0,591
					Metatars	0,250	0,650	0,275
Flügelänge	1,500	1,775	1,650		Tars	0,600	0,700	0,658
Flügelbreite	0,650	0,725	0,675	II	Schenkel	0,500	0,650	0,583
					Schienen	0,550	0,700	0,641
					Metatars	0,250	0,325	0,283
Fühlergeißellänge	1,025	1,175	1,108	III	Tars	0,525	0,725	0,642
					Schenkel	0,650	0,775	0,725
					Schienen	0,750	0,975	0,866
					Metatars	0,300	0,425	0,365
					Tars	0,675	0,900	0,775

Index 4 Af: 2—2,15
Flügelindex : 2,44*Corynoptera tridentata* n. sp.

(Abb. 2)

♂ Körperfarbe schwärzlich-braun, Beine gelblich-braun und dunkler an den Tarsen.

Augen schwach behaart. Augenbrücke 3—4reihig. Taster 3gliedrig (Abb. 2C) und länglich. Letztes Tasterglied 1,5mal länger als das zweite. Fühlergeißel aus länglichen Gliedern mit deutlichem Hals gebildet.

4. Fühlergeißelglied 3mal länger als breit.

Flügel gelblich-braun, glasklar und gekennzeichnet durch $r \leq r_1$: r_1 endet kurz vor der m-Gabelung; $x=y$, x mit 1—3 Makrotrichien, y mit 5—9 Makrotrichien, Cu-Stiel = $1/4 - 1/2 x$; $c = 3/5 w$.Durch die Genitalien (Abb. 2A) ist die Art ähnlich der *C. camptochaeta* Tuomik, und *C. verrucifera* Ldf; der Stylus endet in einem starken Dorn, unterhalb dessen, ungefähr in der inneren Hälfte, 2 kleinere, gleich lange, parallele und leicht gebogene Dorne zu finden sind.Aufgrund der Beschaffenheit des Stylus kann die Art in die Gruppe der *C. fulvicollis* eingereiht werden. Rumänien: Sinaia (Bezirk Prahova); 27. V. 1963, 7♂♂. Călugăreni (Bezirk Ilfov); 16. VI. 1964, 12♂♂.

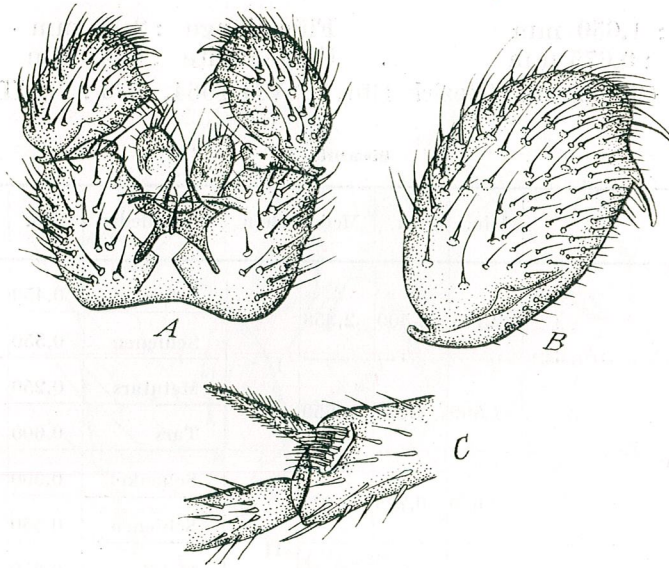


Abb. 2. — *Corynoptera tridentata* sp.n.
A. Männliche Genitalien, Ventralansicht; B. Stylus, Ventralansicht; C. Sporn und Kamm der Vorderschiene.

Biometrik

	Min.	Max.	Med.	Bein	Beinglieder	Min.	Max.	Med.
Körper	2,500	3,300	2,866	I	Schenkel	0,625	0,775	0,675
					Schienen	0,925	1,025	0,933
					Metatars	0,475	0,600	0,529
Flügelänge	2,175	2,500	2,369	II	Tars	1,075	1,455	1,246
					Schenkel	0,750	0,900	0,808
					Schienen	1,056	1,225	1,087
Flügelbreite	2,500	3,100	2,729	III	Metatars	0,450	0,675	0,550
					Tars	1,125	1,450	1,254
					Schenkel	0,925	1,125	1,004
Fühlergeißellänge	0,925	1,125	1,008	III	Schienen	1,250	1,525	1,333
					Metatars	0,500	0,750	0,641
					Tars	1,125	1,525	1,346

Index 4 Af : 2,7
Flügelindex : 2,44

Epidapus (Epidapus) fagicola n. sp.

(Abb. 3)

♂ Körperfarbe rötlich-braun; Augen schwarz; Beine gelblich-braun. Augenbrücke 3reihig. Glieder der Fühlergeißel mit langen Hälsen; 4. Glied 3mal länger als breit. Taster 2gliedrig (Abb. 3C).

Flügel gekennzeichnet durch $r=r_1$; r_1 endet deutlich vor der m-Gabelung; r_1 mit 9–10 Makrotrichien versehen; $x > y$, im Verhältnis 5 : 1, beide nackt; c lang, $5/7$ w. m-Stiel lang, überragt m_1 und m_2 ; Cu-Stiel ist $1/2-2/3$ x.

Genitalien in Abb. 3A gegeben.

Große Ähnlichkeit mit *E. gracilis* Winn. und *E. intermittens* Tuomik.

	<i>Ep. fagicola</i> sp. n.	<i>Ep. gracilis</i> Winn.	<i>Ep. intermittens</i> Tuomik
Augenbrücke	3reihig	3reihig	2–4reihig
Index 4 Af	3	2,5	2,4
Taster	2gliederig	1gliederig	1gliederig
Cu-Stiel	$1/2-2/3$ x	deutlich	deutlich

Biometrik

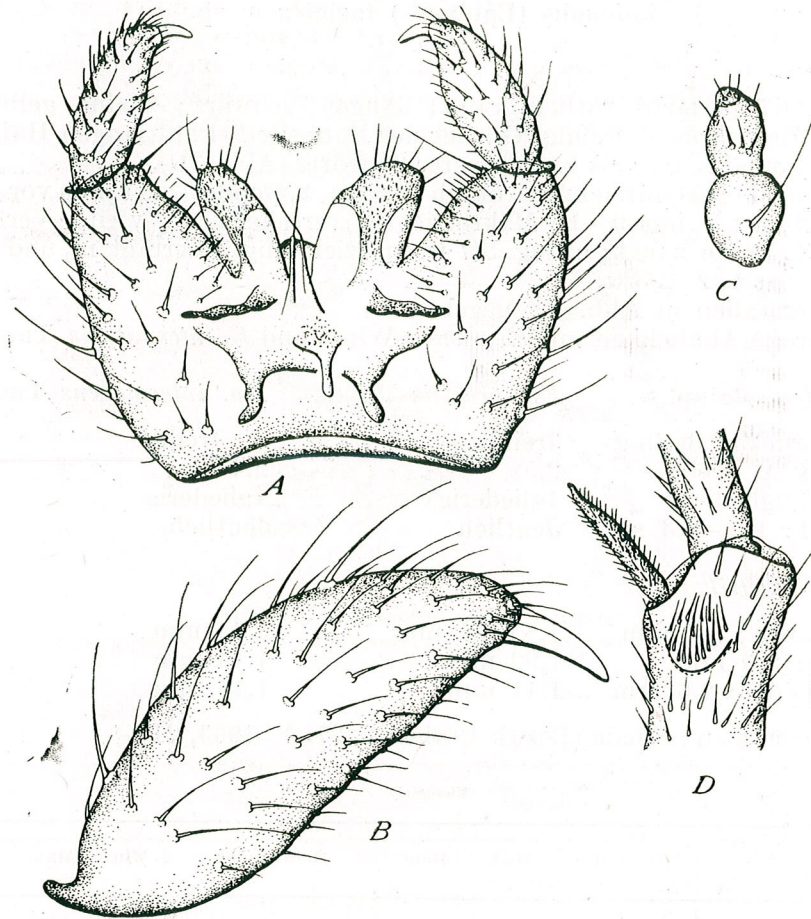
Flügelänge	2,4 mm	1,8–2,1 mm	1,45 mm
Körper	2,5 mm	1,92 mm	1,45 mm
Fühlergeißel	2,6 mm	1,44 mm	1,45 mm

Rumänien : Sinaia (Bezirk Prahova), 27. V. 1963, 21♂♂

Biometrik

	Min.	Max.	Med.	Bein	Beinglieder	Min.	Max.	Med.
Körper	2,250	2,875	2,569	I	Schenkel	0,550	0,700	0,633
					Schienen	0,750	1,050	0,900
					Metatars	0,350	0,550	0,461
Flügelänge	2,000	2,800	2,438	II	Tars	0,850	1,200	1,072
					Schenkel	0,650	0,800	0,738
					Schienen	0,850	1,150	0,994
Flügelbreite	0,850	1,110	0,962	III	Metatars	0,350	0,550	0,461
					Tars	0,900	1,300	1,083
					Schenkel	0,950	1,100	1,055
Fühlergeißellänge	2,400	2,600	2,580	III	Schienen	1,000	1,400	1,211
					Metatars	0,350	0,550	0,538
					Tars	0,850	1,250	1,105

Index Af : 3
Flügelindex : 2,6–3

Abb. 3. — *Epidapus (Epidapus) fagicola* sp. n.

A, Männliche Genitalien, Ventralansicht; B, Stylus, Ventralansicht; C, Taster; D, Sporn und Kamm der Vorderschiene.

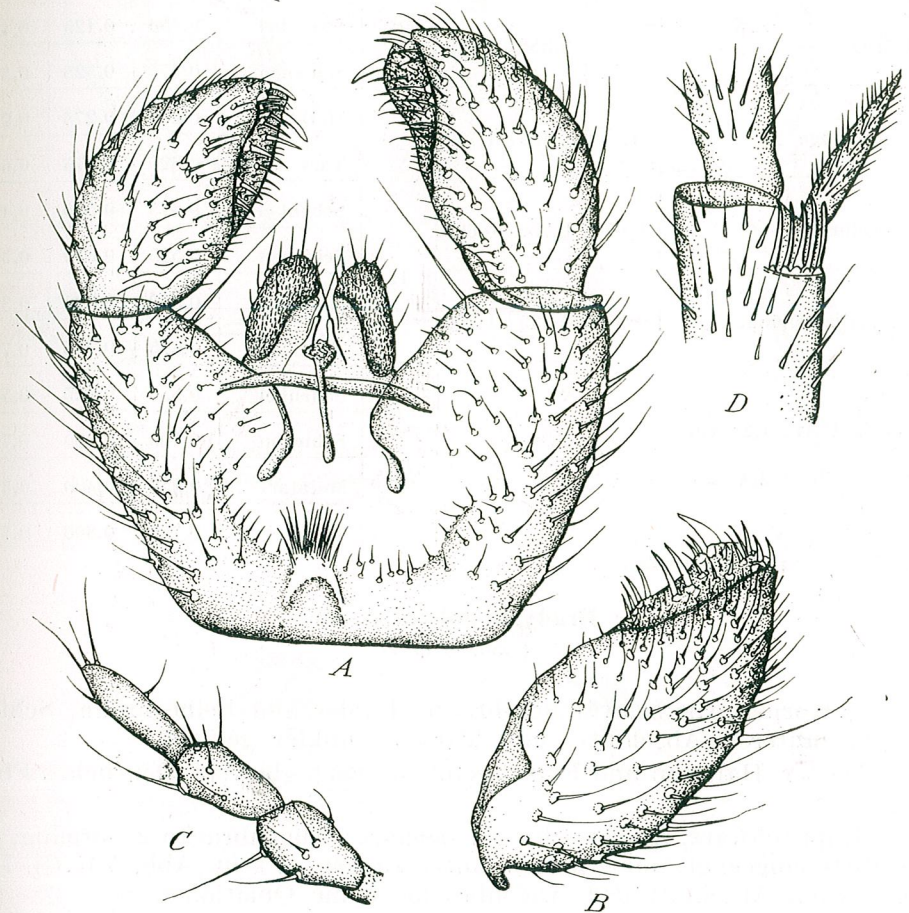
***Bradysia spinidensa* n. sp.**

(Abb. 4)

♂ Kopf und Körper schwarz. Augenbrücke 3—4reihig. Taster (Abb. 4C) 3gliederig; letztes Glied länger und dünner als die zwei ersten. 4. Glied der Fühlergeißel 1,2—1,6mal länger als breit. Flügel gekennzeichnet durch $r < r_1$; das Verhältnis zwischen diesen ist $1 : 2$, $x = y$, beide nackt. Cu-Stiel = x ; $d = 3/5 - 2/3 w$.

Postpronotum nackt; Anteppronotum in der Mitte mit 2—3 Dörnchen versehen. Vorderschienenendkamm aus 5—6 einreihig angeordneten Stacheln gebildet (Abb. 4D).

Genitalien wie in Abb. 4A, sind gekennzeichnet durch einen Stylus mit 2 starken Dornen, einer davon apikal, der andere, auf der Innenseite, subapikal. Beide sind von einer Anzahl Dörnchen umgeben, woher übrigens auch die Benennung der Art *spinidensa* abgeleitet wurde.

Abb. 4. — *Bradysia spinidensa* sp. n.

A, Männliche Genitalien, Ventralansicht; B, Stylus, Ventralansicht; C, Taster; D, Sporn und Kamm der Vorderschiene.

Genitalien mit einem Basallappen, der wie bei *B. callicera* eine große Zahl Borsten trägt.

Die allgemeine Beschaffenheit des Stylus (Abb. 4B) ist ähnlich derjenigen, die bei den Arten der Gruppe *B. amoena* Winn. anzutreffen ist.

Rumänien: Copăceni (Bezirk Ilfov) 27. IX. 1962 1♂;

2.VIII.1964, 6♂♂; 5.—15. IX. 1964 7♂♂;

Voluntaru (Bezirk Ilfov) 18. IV. 1962, 3♂♂.

Biometrik

	Min.	Max.	Med.	Bein	Beinglieder	Min.	Max.	Med.
Körper	2,075	2,350	2,212	I	Schenkel	0,400	0,425	0,423
					Schienen	0,475	0,525	0,510
					Metatars	0,250	0,275	0,270
Flügelänge	1,750	1,825	1,760	II	Tars	0,625	0,675	0,655
					Schenkel	0,475	0,525	0,490
Flügelbreite	0,650	0,750	0,695	III	Schienen	0,525	0,650	0,610
					Metatars	0,300	0,325	0,315
Fühlergeißellänge	1,350	1,425	1,290	III	Tars	0,675	0,725	0,700
					Schenkel	0,550	0,625	0,585
					Schienen	0,700	0,800	0,750
Index 4 Af : 1,2—1,6								
Flügelindex : 2,4—2,7								
					Metatars	0,350	0,400	0,375
					Tars	0,750	0,800	0,770

Bradysia lobata n. sp.

(Abb. 5, 6, 7)

♂ Körperfarbe schwärzlich-braun; Fühler und Beine braun, Schienen, im unteren Abschnitt, und Tarsen dunkler gefärbt.

Taster, Halteren und Flügel gelblich-braun glasklar. Deutliches Flügelgeäder.

Kopf schwarz, Augen schwach behaart; Augenbrücke 2—3reihig, in der Mitte eingengt, ohne jedoch unterbrochen zu sein (Abb. 5A, C). Im eingengten Abschnitt der Augenbrücke keine Omatidien.

Fühlergeißelglieder mit dichten, nach oben gebogenen Haaren. Hals der Glieder kurz, 4. Fühlergeißelglied 2—2,5mal größer als breit.

Taster 3gliederig (Abb. 5B); erstes Glied kugelförmig und mit Sinnesgrube versehen; 2. Glied kleiner als das erste, glockenförmig und trägt 4—5 Dörnchen; 3. Glied klein, länglich und hat 5—6 Dörnchen.

Notum deutlich behaart, Anteprototum mit 4—6 Dornen, protorakales Episternit mit 8—9 langen Dornen; Postpronotum nackt. Halteren tragen 2 Reihen, je 6—8zählende Börstchen.

Flügel wie in Abb. 6. Hinteres Flügelgeäder deutlich; $c = 4/5 w$; $r > r_1$; r_1 mit 6—7 Makrotrichien endet deutlich vor der m-Gabelung; $x = 3y$, beide nackt, m-Stiel länger als m_2 ; Cu-Stiel ungefähr $2/3$ vom x-Abschnitt.

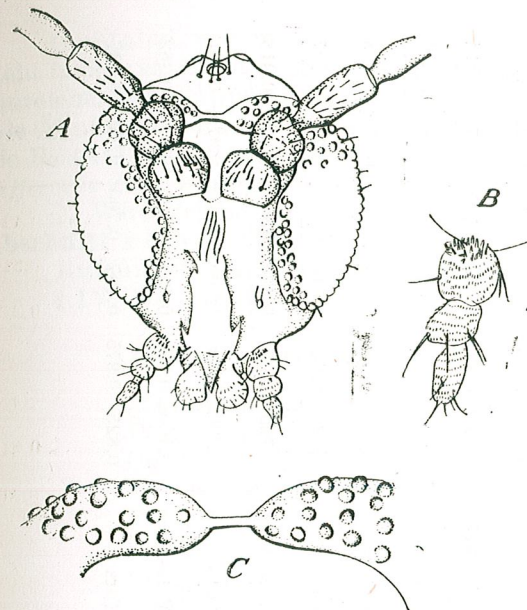


Abb. 5. — *Bradysia lobata* sp. n.
A. Kopf, B. Taster; C. Augenbrücke.



Abb. 6. — *Bradysia lobata* sp. n. Flügel.

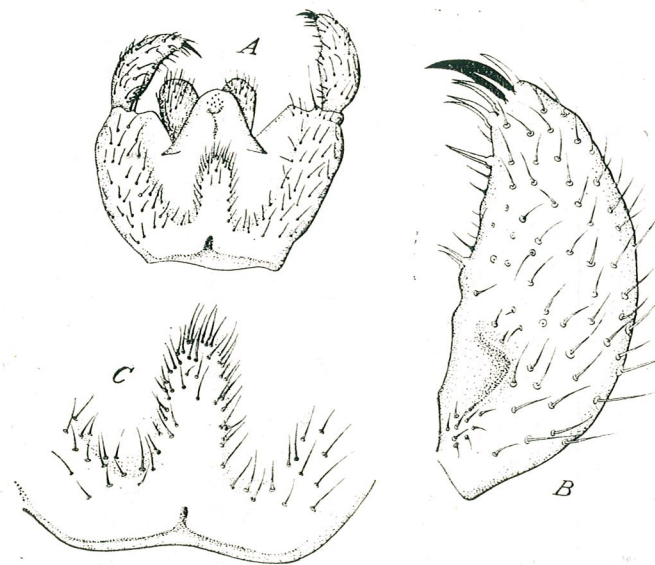


Abb. 7. — *Bradysia lobata* sp. n.
A. Männliche Genitalien, Ventralansicht; B. Stylus, Ventralansicht; C. Basis der männlichen Genitalien.

Biometrik

	♂♂			♀♀			Bein	Beinglieder	♂♂			♀♀		
	Min.	Max.	Med.	Min.	Max.	Med.			Min.	Max.	Med.	Min.	Max.	Med.
Körper	2,250	3,000	2,600	3,500	4,425	3,950	I	Schenkel	0,550	0,700	0,630	0,625	0,650	0,636
Flügelänge	2,250	2,750	2,512	2,500	2,600	2,525		Schienen	0,625	0,850	0,732	0,625	0,650	0,637
Flügelbreite	0,825	1,000	0,807	0,850	0,900	0,870		Metatars	0,300	0,400	0,350	0,300	0,350	0,318
Fühlerlänge	1,500	1,875	1,677	1,075	1,250	1,131	II	Tars	0,725	0,825	0,787	0,675	0,725	0,687
								Schenkel	0,650	0,825	0,742	0,725	0,775	0,744
								Schienen	0,700	0,950	0,837	0,725	0,775	0,750
							III	Metatars	0,325	0,450	0,372	0,300	0,350	0,318
								Tars	0,725	0,925	0,810	0,675	0,750	0,717
								Schenkel	0,725	0,975	0,877	0,900	0,950	0,918
								Schienen	0,900	1,200	1,065	0,925	0,975	0,962
								Metatars	0,400	0,500	0,455	0,325	0,375	0,362
								Tars	0,825	0,975	0,907	0,700	0,750	0,737

Index 4 Af : 2,7
Flügelindex : 2,7

Index 4 Af : 3
Flügelindex : 1,5

Genitalien wie in Abb. 7. Das kennzeichnende Merkmal der Art besteht in dem stark entwickelten Basallappen, der bis zur Hälfte der Koxiten hinreicht. Basallappen lateral und an der Spitze mit langen Haaren besetzt. Die Ähnlichkeit mit *Br. albanensis* Ldf. in bezug auf den Stylus und auf die Beschaffenheit der Augenbrücke bewog uns, die Art in die Gruppe *Br. rufescens* Zett. aus dem Bestimmungsschlüssel Tuomikoski's einzureihen.

♀. Wird gekennzeichnet durch $r = r_1$; r_1 endet in der m-Gabelung; Abschnitt x etwas länger als y; Cu-Stiel = $1/2 x$.

Rumänien: Călugăreni (Bezirk Ilfov) 13. X. 1964, 28 ♂♂ + 32 ♀♀; 4.IV.1964, 19 ♂♂ + 12 ♀♀

Bradysia lobata sp. n.*Bradysia albanensis* Ldf.

♂ Fühlerindex : 2,5

2,5—3

Flügelindex : 2,7

3

Cu-Stiel : 2,3 x

 $1/3 - 1/2 x$ $c = 4/5 w$. $c = 1/2 w$

Fühlerlänge : 1,5—1,8 mm

2—2,2 mm

Flügelänge : 2,2—2,7 mm

2,4—2,7 mm

Flügelbreite : 0,8—0,9 mm

0,8—0,9 mm

Hinterbein

Schenkel : 0,7—0,9 mm

1,1—1,25 mm

Schienen : 0,9—1,2 mm

1,2—1,4 mm

Metatars : 0,4—0,5 mm

0,65—0,75 mm

Tars : 0,8—0,9 mm

1,4—1,6 mm

♀ Flügelänge : 3,5—4,4 mm

3—3,5 mm

Flügelbreite : 1,0—1,2 mm

1,0—1,2 mm

Hinterbein

Schenkel : 0,9—0,95 mm

1,2—1,3 mm

Schienen : 0,92—0,97 mm

1,4—1,6 mm

LITERATUR

1. BUKOWSKI W., LENGERSDORF FR., *Neue Lycoriiden-Arten aus der Krim*, Konowia, 1936.
2. FREY R., *Not. Entomol.*, 1948, **27**, 33—92.
3. LENGERSDORF FR., *Lycoriidae*, in LINDNER E., *Die Fliegen der palaearktischen Region*, Stuttgart, 1928—1930.
4. SÉGUY E., *Mem. Mus. d'Hist. Nat. Série A, Zool.*, 1959, **17**, 2.
5. TUOMIKOSKI R., *Ann. Ent. Fenn.*, 1959, **25**, 1.
6. — *Ann. Ent. Fenn.*, 1959, **25**, 3.
7. — *Ann. Zool. Soc. Vanamo*, 1960, **21**, 4.
8. — *Ann. Ent. Fenn.*, 1960, **26**, 4.

Institut für Biologie „Traian Săvulescu“
Abteilung für Morphologie, Ökologie
und Systematik der Tiere

Eingegangen am 31. Mai 1967

L'APPAREIL GÉNITAL FEMELLE DE *PARDOSA*
PROXIMA (C.L. KOCH) 1848 (FAM. LYCOSIDAE-
ARANEAE)

PAR

ELENA TRACIUC

By means of serial sections, the anatomy of the female genital tract in *Pardosa proxima* is studied. The genital apparatus has 3 distinct parts, two being interior and one exterior.

The ovules are formed by the exterior walls of the ovary; a secretion is equally produced inside the ovaries and evacuated in the atrium by an annex system of the ovary.

The sections prove the absence of the oviductal, uterus and vagina functions; these formations do exist morphologically, but play only a secretory role and do not lead the ovules. The expulsion of the ovules is achieved through the rupture of the posterior wall of the atrium.

Le problème de l'appareil génital interne des *Araneae* était considéré comme élucidé. En se fondant sur certains travaux d'anatomie, on a tiré la conclusion générale concernant tout le groupe.

Bertkau [1], en étudiant le genre *Atypus*, a trouvé un ovaire annulaire qui se prolonge par un seul oviducte. Il décrit, pour la première fois, le développement des ovules à la surface de l'ovaire et leur détachement lorsqu'ils atteignent la maturité.

Schimkevitsch [11] a affirmé l'existence des ovaires à deux oviductes, de l'utérus et du vagin. Les cellules épithéliales de l'utérus produisent une sécrétion enveloppant les ovules arrivés à la maturité.

Vogt [12] a décrit chez *Epeira diadema* deux ovaires et deux oviductes qui s'unissent en un utérus se prolongeant par un vagin. Il constate que les ovules sont situés à l'extérieur, n'ayant pas de liaison avec l'appareil d'évacuation, qu'il décrit d'ailleurs séparément.

Comstock [4], dans un chapitre sur les organes de reproduction du traité concernant les *Araneae*, en s'étayant sur toutes les données existantes, donne un schéma général de tout l'appareil génital femelle. Ce sché-

ma a été ultérieurement repris par tous les traités d'Arachnologie [7], [9], [5], [3], [8], [10], [6].

Wiehle [13] décrit la vulve de *Holocnemus hispanicus*.

Bhatnagar et Rempel [2] ont fait une ample description de l'épigyne dans le développement post-embryonnaire de *Latrodectus curacaviensis*.

Le présent travail apporte de nouvelles données sur l'appareil génital femelle, surtout en ce qui concerne le fait que les ovocytes sont externes et ne peuvent migrer par les oviductes.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Notre étude a porté sur un grand nombre de femelles de *Pardosa proxima*, capturées dans la forêt de Brănești (Région de Bucarest). Le matériel a été déterminé par F. Bourlacom, que nous remercions tout particulièrement à cette occasion.

Le matériel a été fixé dans le mélange de Duboscq-Brasil et Bouin. Les coupes sériées de 7 et 8 μ ont été colorées à l'hémalum-éosine et à la picrofuchsine (van Gieson), et on a effectué des schémas et des photos. Dans le but de contrôler les résultats, nous avons effectué de nombreuses dissections.

DESCRIPTION ANATOMIQUE

L'appareil génital femelle de *Pardosa proxima* est logé ventralement dans l'abdomen, et il est constitué par les trois parties suivantes :

1. Les *ovaires* en nombre de deux se trouvent entre l'intestin et les muscles ventraux ; ils sont entourés par les glandes séricigènes et par les diverticules hépatiques. Ils ont la forme de sacs allongés, dont la partie dorsale est creusée, tandis que celle ventrale proémine au dehors, de manière progressive, atteignant son maximum dans le tiers postérieur (fig. 3, 17). Dans la partie postérieure des sacs ovariens, l'épithélium forme des septa incomplètes partageant la cavité de l'ovaire en loges qui communiquent entre elles.

A partir de l'épithélium se développent à l'extérieur, vers la cavité générale, des ovocytes qui sont liés à l'épithélium par un pédicule massif formé de nombreuses cellules (fig. 35). Les ovocytes sont couverts par une membrane qui les relie au pédicule ; ils sont démunis de cellules folliculaires. Les éléments sexuels sont formés seulement par la face ventrale des ovaires (fig. 18). Arrivés à leur maturité, les éléments sexuels se détachent du pédicule et tombent dans la cavité générale. De cette cavité ils sont poussés vers les parois latérales de l'abdomen au fur et à mesure de la maturation et du détachement d'autres ovocytes, ce qui fait ressembler la femelle avant la ponte, à un sac plein d'œufs. Par leur grand nombre ainsi que par leurs dimensions considérables ils remplissent l'abdomen, en pressant et en comprimant les diverticules hépatiques et les poumons, ce qui provoque en même temps l'extension de la musculature ventrale et latérale.

Dans la partie antérieure, les ovaires se rétrécissent et forment deux prolongements canaliculaires — de faux oviductes —, qui se dirigent

ventralement jusqu'à proximité de la paroi dorsale de l'atrium où ils s'unissent (fig. 30).

2. La *poche sous-ovarienne* est située entre la jonction médiane des prolongements ovariens et la paroi dorsale de l'atrium avec laquelle elle communique. Cette poche a un aplatissement dorso-ventral, et ses bords forment deux cornes latérales qui prennent contact avec les prolongements ovariens avec lesquels ils communiquent (fig. 10).

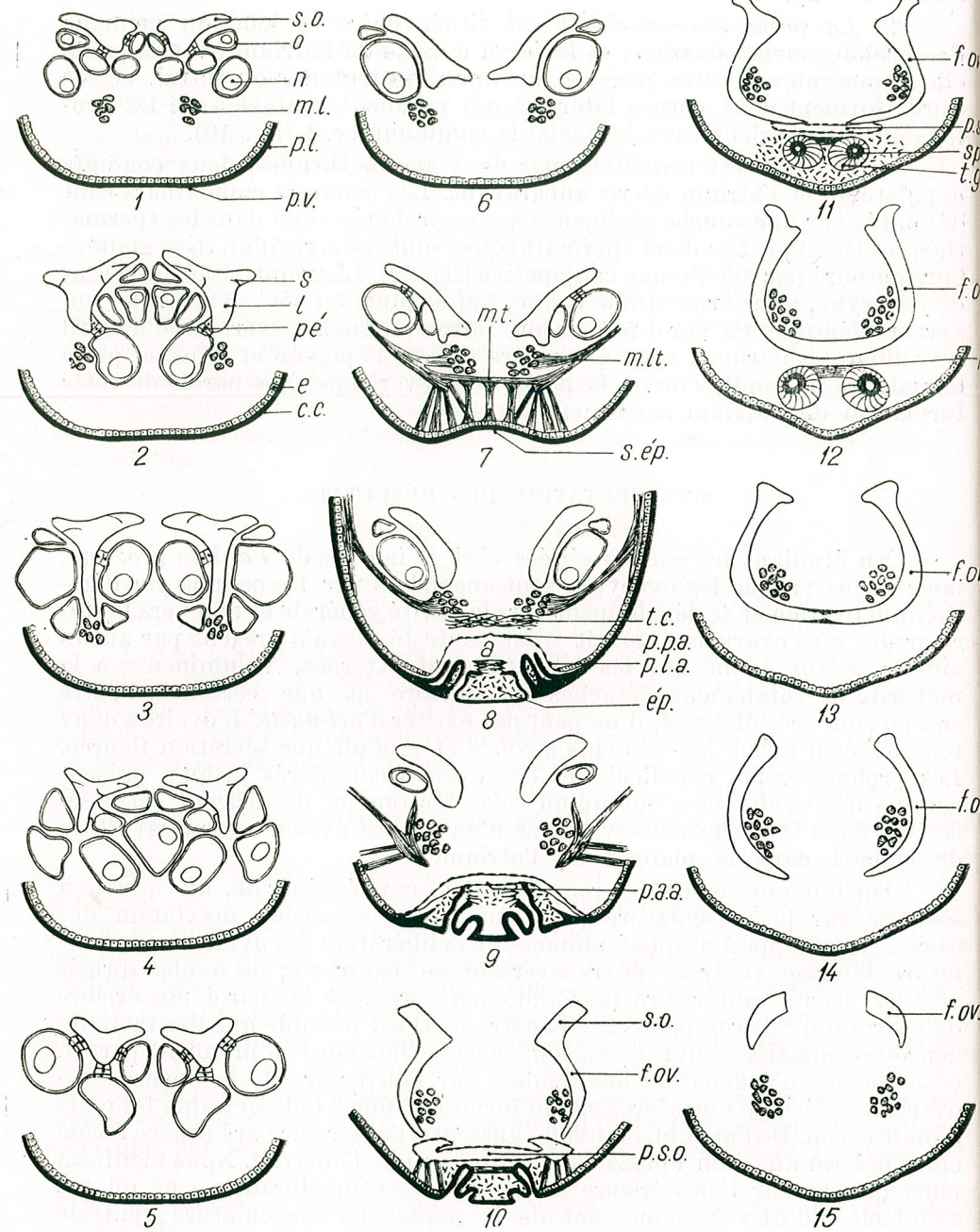
3. La *vulve* est constituée par deux spermathèques, deux conduits copulateurs et l'atrium décrit auparavant. Les conduits copulateurs sont délimités par une couche chitineuse qui se prolonge aussi dans les spermathèques (fig. 28). Les deux spermathèques sont couverts d'un tissu glandulaire entouré par une thèque conjonctive (fig. 29). L'atrium, situé au-dessus de l'épigyne, a la forme d'une coupe, qui conduit du côté ventral, à l'ouverture génitale. Sa paroi postérieure forme un angle ouvert avec le bord du sillon épigastrique, celle antérieure tapisse l'épigyne et dans sa paroi dorsale (le plafond), s'ouvre la poche sous-ovarienne. Les parois de cette formation de l'atrium sont membraneuses.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

En étudiant les coupes sériées chez la femelle de *Pardosa proxima*, nous avons vu que les ovocytes sont engendrés par les cellules de l'épithélium ovarien et se développent vers la cavité générale et non vers l'intérieur des sacs ovariens ; ce fait n'est contesté jusqu'à présent par aucun auteur. Étant donné que les ovocytes sont externes, volumineux à la maturité et totalement détachés de l'ovaire et que certains d'entre eux en sont très éloignés, il ne peut pas exister d'*ovi-ducte*. L'ovaire a deux fonctions : il forme les éléments sexuels et produit une sécrétion figurée. Les prolongements canaliculaires des ovaires considérés jusqu'à présent comme des oviductes n'ont qu'un rôle sécréteur et ils dirigent cette sécrétion dans la poche sous-ovarienne d'où elle est évacuée par l'ouverture de celle-ci dans le plafond de l'atrium.

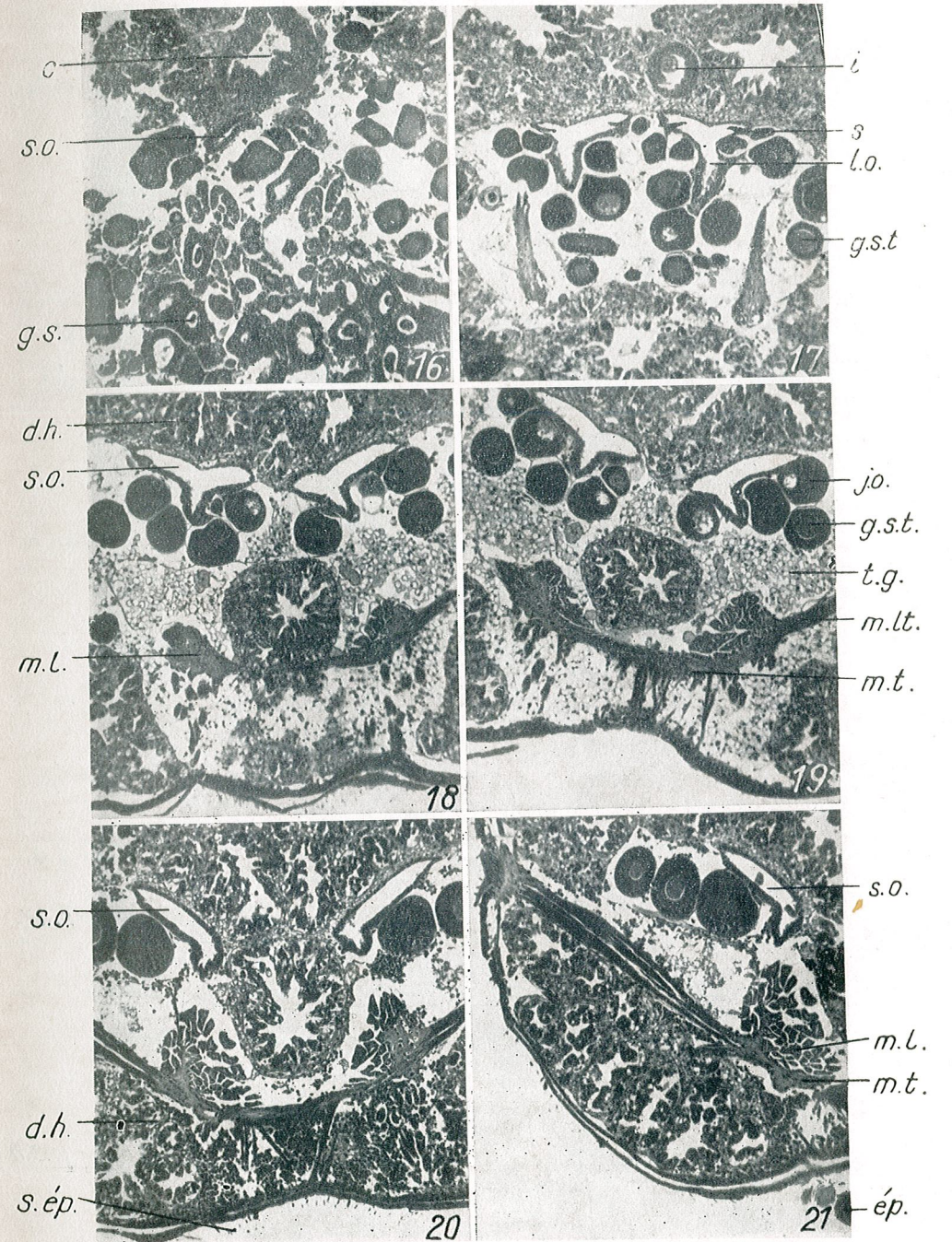
Du fait que les ovules remplissent la cavité générale, une pression s'exerce sur la musculature provoquant une extension maximum des fibres. Nous supposons qu'au moment de la libération des ovules, la musculature latérale, ventrale et transversale se contracte, les ovules dirigés vers la partie antérieure de l'abdomen pressent la paroi postérieure de l'atrium qu'ils rompent en y pénétrant. Il est possible que des facteurs neuro-hormonaux — qui nous sont encore inconnus — prennent part à ce processus d'évacuation des ovules. Par l'ouverture de la poche sous-ovarienne s'écoule une sécrétion qui forme le ciment qui agglutine les œufs dans le cocon. De l'atrium, les ovules glissent à l'extérieur par l'espace formé entre le bord du sillon épigastrique et le bord de l'épigyne. Nous mentionnons que la paroi postérieure de l'atrium est membraneuse et qu'elle s'amincit plutôt vers le moment de la ponte. La musculature ventrale qui s'insère sur le bord du sillon épigastrique est très puissante, ce qui permet de supposer qu'elle prend part au processus d'accumulation des ovules dans la cavité générale ainsi qu'à leur élimination ultérieure.

PLANCHE I

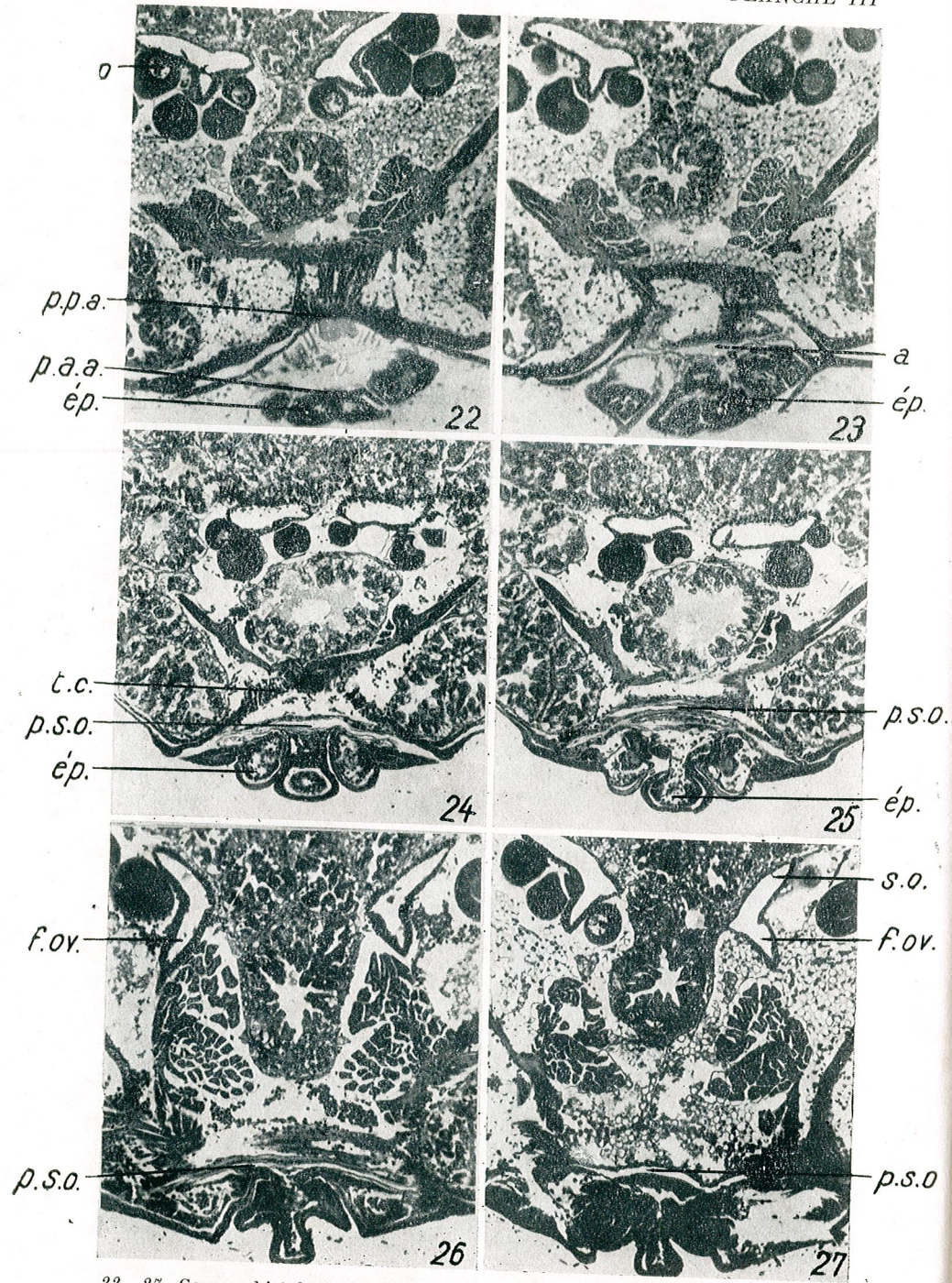


1-15, Schémas des coupes histologiques de l'abdomen de *Pardosa proxima*. Représentation postéro-antérieure.

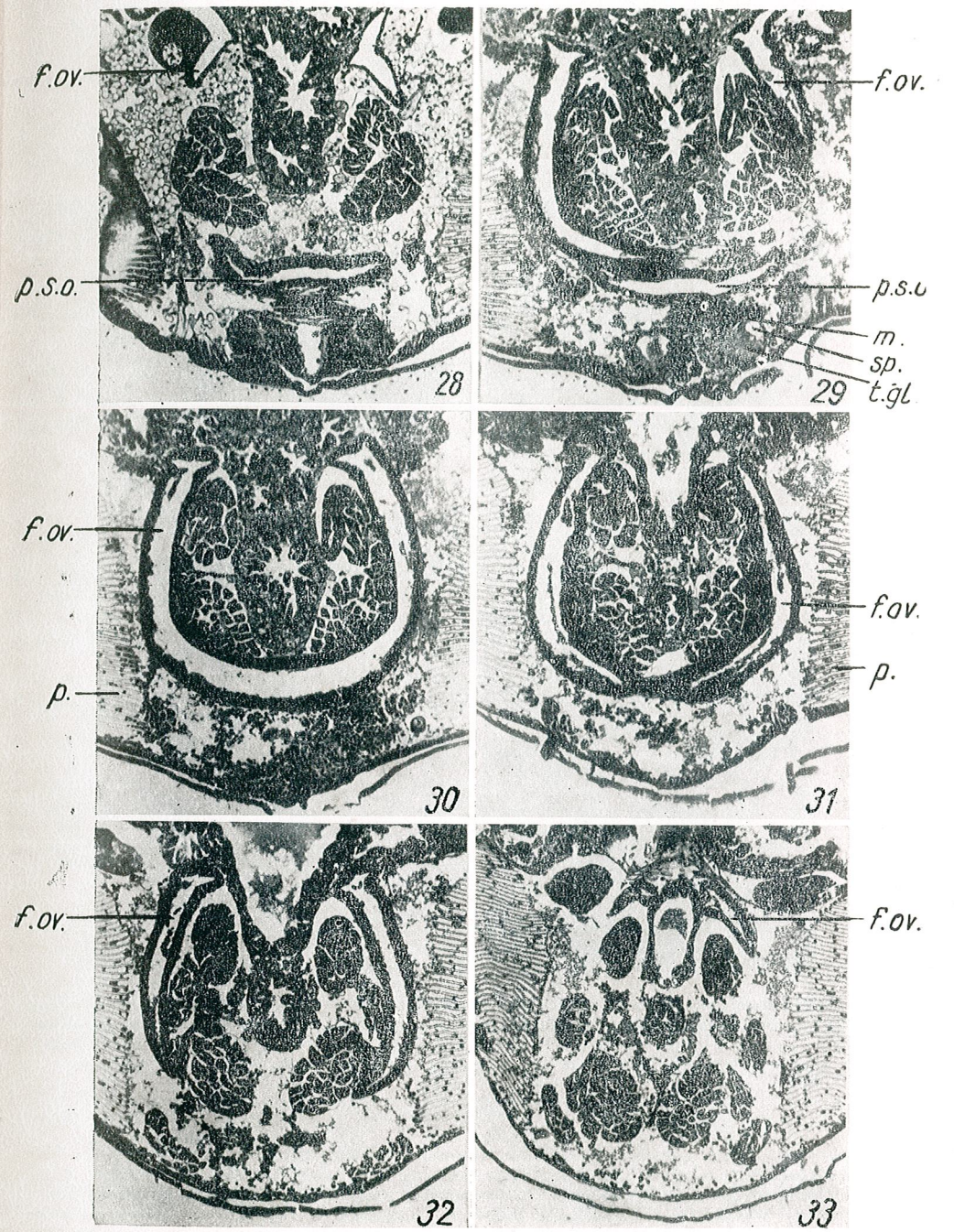
PLANCHE II



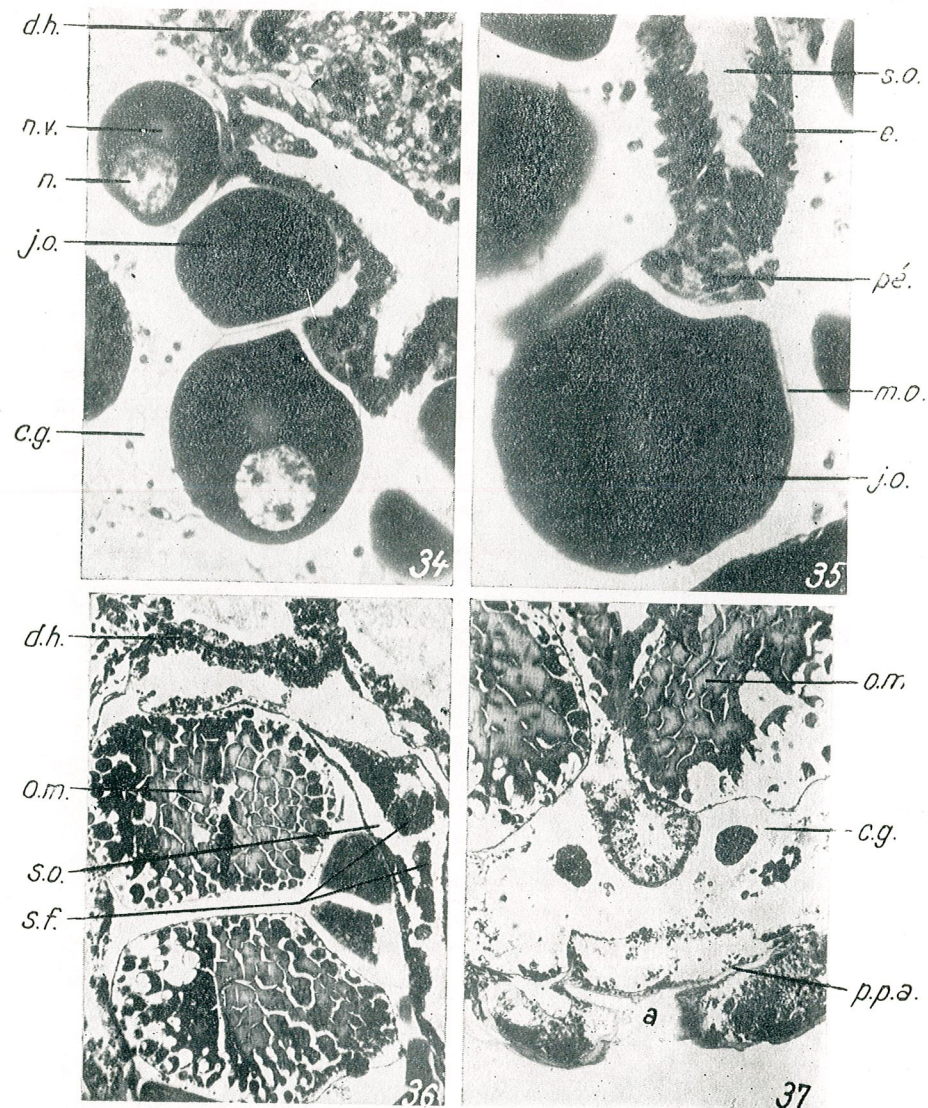
16-21, Coupes histologiques transversales de l'abdomen de *Pardosa proxima*. Représentation postéro-antérieure (oc. 6; ob. 6,3).



22-27, Coupes histologiques transversales de l'abdomen de *Pardosa proxima*.
Représentation postéro-antérieure (oc. 6; ob. 6,3) (suite).



28-33, Coupes histologiques transversales de l'abdomen de *Pardosa proxima*.
Représentation postéro-antérieure (oc. 6; ob. 6,3) (suite).



Différents états de croissance des ovocytes. 34, Sac ovarien à jeunes ovocytes (oc. 6; ob. 25); 35, jeune ovocyte à pédicule bien développé (oc. 6; ob. 40); 36, ovaire à abondante sécrétion figurée et ovocytes à l'état de maturité (oc. 6 ob. 6,3); 37, début de lyse de la paroi postérieure de l'atrium peu avant la ponte. Coupe transversale (oc. 6; ob. 6,3).

Abréviations

a., atrium; b.s.ép., bord du sillon épigastrique; c., cloaque; c.c., cuticule chitineuse; c.g., cavité générale; d.h., diverticules hépatiques; e., épithélium; ép., épigyne; f. ov., faux oviductes; g.s., glandes séricigènes de divers types; g.s.t., glande séricigène tubulaire; i., intestin; j.o., jeunes ovocytes; l., loges ovariennes; m., muscle des spermathèques; m.l., musculature longitudinale; m.l., musculature latérale; m.o., membrane de l'ovocyte; m.t., musculature transversale; n., noyau; n.v., noyau vitellin; o., ovocyte; o.m., ovocyte mûr; p., poumon; pé., pédicule; p.a.a., paroi antérieure de l'atrium; p.l., paroi latérale de l'abdomen; p.l.a., paroi latérale de l'atrium; p.p.a., paroi postérieure de l'atrium; p.s.o., poche sous-ovarienne; p.v., paroi ventrale de l'abdomen; s., septa; s.ép., sillon épigastrique; s.f., sécrétion figurée; s.o., sac ovarien; sp., spermathèque; t.c., tissu conjonctif; t.g., tissu gras; t.gl., tissu glandulaire

CONCLUSIONS

1. L'appareil génital femelle de *Pardosa proxima* est constitué par trois parties : les ovaires, la poche sous-ovarienne et la vulve.
2. Les ovules situés à l'extérieur par rapport à l'ovaire, sont éliminés de la cavité générale par la contraction de la musculature et la rupture de la paroi dorsale de l'atrium.
3. Les prolongements canaliculaires des ovaires et la poche sous-ovarienne n'ont que le rôle de sécréter et de conduire cette sécrétion dans l'atrium.
4. Les formations nommées par tous les auteurs oviductes, vagin et utérus ne sont pas les vecteurs des éléments sexuels mais de leur propre sécrétion et de celle produite par l'ovaire.

Remerciements. Je tiens, à cette occasion, à exprimer mes plus vifs et chaleureux remerciements à M^{me} le professeur D^r Margareta Dumitresco et à M. le D^r I. Fuhn pour l'aide plus que précieuse qu'ils m'ont accordée à l'élaboration de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. BERKAU PH., Arch. Naturg., 1875, 41, 1, 235-262.
2. BHATNAGAR, R. D.S., REMPEL J. G., Canad. Journ. Zool., 1962, 40, 465-510.
3. BONNET P., *Bibliographia Araneorum*, Frères Douladoure, Toulouse, 1945.
4. COMSTOCK J. H., *The Spider book*. Garden City, New York, 1920.
5. GERHARDT U., KÄSTNER A., *Araneae in Kükenthal's Handb. der Zool.*, 1937-1938, 3, 2.
6. IVANOV A. V., *Les Araignées, morphologie, biologie et importance économique*. Ed. Univ. Leningrad, 1965.
7. LANG A., *Traité d'Anatomie comparée et de Zoologie*, I, Masson et Cie., Paris, 1891.
8. MILLOT J., *Ordre des Aranéides* dans P. GRASSÉ, *Traité de zoologie VI*, Masson et Cie Editeurs, Paris, 1949.
9. NIELSEN E., *De danske edderkoppers Biologi*. Levin und Munksgaards forlag, Copenhagen, 1932.
10. SAVORY TH., *Arachnida*. Academic Press, London-New York, 1964.
11. SCHIMKEWITSCH W., Zool. Anz., 1884, 4, 234-238.
12. VOGT C., YUNG E., *Traité d'Anatomie comparée pratique*, Paris, 1894.
13. WIEHLE H., Zool. Anz., 1933, 104, 352-357.

Institut de Biologie «Traian Săvulescu»
Laboratoire de Morphologie animale

Reçu le 18 octobre 1967

HISTOPATHOLOGICAL STUDIES CONCERNING THE
NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS CHANGES IN
LYMANTRIA DISPAR L. LARVAE

BY

ZOE PETRE, MARIA CALOIANU and ALICE SĂVULESCU

This paper presents a detailed histopathological study on the *Lymantria dispar* L. larvae, infected by the nuclear polyhedrosis virus. A very rich histological material was analysed, which evinced a different reaction to the virus infection in various tissue types. The adipose tissue, the hypodermic and the tracheal epithelium are the most susceptible to the infection.

In the investigated material we did not find any pathological alteration at the level of the digestive epithelium, the Malpighi tubes and the sericigenic glands. The infection liability of other tissue types of the *Lymantria dispar* L. larve is discussed.

The researches performed in recent years on the nuclear polyhedral viruses have displayed different aspects of the viral infection mechanism, the modifications generating the virogenic stroma (central chromatic mass) and the viral inclusions in the infected cell nuclei [1], [12], [16], [22], [23].

Our previous investigations demonstrated the important part played by the nucleoli in the formation of the virogenic stroma and the changes which take place in the nucleic acids in the case of some Lepidoptera, these being a previous step to the formation of viral inclusions [15], [17].

The rather different results reported in a number of insect species as to the infection degree of some tissues by the nuclear polyhedral viruses, and the few data — often inconsistent — concerning the nuclear polyhedrosis in *Lymantria dispar* L., induced us to make a detailed histopathological study on the *Lymantria dispar* L. larvae, infected by the nuclear polyhedrosis virus.

MATERIAL AND METHOD

We used for our experiments several groups of *Lymantria dispar* L. larvae, healthy and experimentally infected *per os* by the nuclear polyhedrosis virus, at various ages during their development.

REV. ROUM. BIOL.—ZOOLOGIE, TOME 13, N° 2, p. 105—109, BUCAREST, 1968

The samples were fixed in Carnoy and Duboscq-Brasil solutions embedded in paraffin and sectioned by 6 μ . The sections were stained with ferric hematoxylin-eosine according to Heidenhain, hemalaun-eosine green light according to Masson, methyl-pyronine green reaction and Feulgen's reaction.

RESULTS

A very rich histological material was analysed, which evinced a different reaction to the nuclear polyhedrosis virus infection in various tissue types.

The tissues most liable to the viral infection are the adipose tissue, the hypodermis and the tracheal epithelium.

The adipose tissue in Arthropodes is thought to play the role of the liver in vertebrates [4], [7], [12] and is the site of some metabolic processes which are essential to the organism. This tissue in the healthy larvae is formed by strips of large cells with a rather homogeneous structure, the nucleus being generally in a central site (Plate I, 1). The nuclear polyhedrosis virus causes characteristic alterations in the adipose cells, where the nuclei become hypertrophic and reach the whole cell size, the trabecular structure and the fat drops being very difficult to distinguish around these pathologically modified giant nuclei (Plate I, 2). In the same fat tissue strip, nuclei in different stages of the polyhedrogenesis process are found.

The hypodermal tissue, which is composed of one layer of cells with comparatively the same appearance and size, marking the limits of the endocuticle to the body hole (Plate I, 3), is also subjected to severe modifications following the viral infection. The nuclei become hypertrophic and in most of them occur polyhedric inclusions which are liberated from the nucleus in the advanced stages of the disease (Plate I, 4).

As to the tracheal epithelium, it is usually composed of a single flat cell layer (Plate II, 5); following the viral infection the whole tracheal system shows the characteristic alterations caused by the nuclear polyhedrosis virus. The tracheal epithelium cells acquire a prismatic shape, and the hypertrophic nuclei are full of polyhedra (Plate II, 6). In about 80 to 90 per cent of cases, in the tracheae of large size, the viral infection induces the formation of several layers of tracheal epithelium cells (Plate II, 7).

The figurative element analysis of the infected larva hemolymph (hemocytes) shows that the alterations of the various hemocyte types following the viral infection have not the same intensity. Typical nuclear polyhedrosis alterations were demonstrated in the (micronuclear) plasmotocytes, which are full with polyhedra as a result of the infection (Plate III, 11), but others are less or not at all altered. Among the latter, the oenocytes, large cells with a lobate nucleus, playing an important part in the moulting physiological processes, are not influenced by the viral infection (Plate III, 13).

In the investigated material we did not find any pathological alteration at the level of the alimentary tract, the Malpighi tube cells, the male and female sexual cells and in their associated trophocytes, and in the

trichogenic cells (Plate III, 12). The nerve, muscle and gland tissues also show no pathological alterations, but some elements of other tissue types (tracheal and conjunctive elements) which are in close relation with these tissues, are always infected.

Thus, by investigating the structure of the elements composing the nervous system, it may be observed that following the nuclear polyhedrosis virus infection, there are no alterations at the neurone or neuroglia cell level, only the giant tracheal cells from the nerve ganglions are subjected to the characteristic pathologic alterations caused by polyhedrosis (Plate IV, 14, 15).

The muscle tissue exhibits no changes at the muscular fibre level, these keeping their miofibrils and nuclei unchanged, but the conjunctive sheath surrounding the muscular fibres show severe alterations at the nuclei level, building up finally polyhedral inclusions (Plate IV, 16, 17).

At the sericogenic glands level, only the tracheal epithelium crossing the glandular tissue exhibits the characteristic changes (Plate IV, 18, 19).

The above data demonstrate not only a different reaction degree of the host tissues to the viral infection, but also a different intensity in the pathologic alterations, which run from scanty changes in the cell nucleus till the alteration of the whole tissue topography, as in the case of trachea.

DISCUSSION

The data in this paper are supporting and supplementing the observations made by Glaser [8] in 1915 in *Lymantria dispar* L. as to the infection liability of various larval tissue types.

We cannot agree however with the Breindl's [3] subsequent suggestions that the muscle and nervous tissues in *Lymantria dispar* L. are subjected to pathologic alterations by nuclear polyhedrosis, since in this instance only some associated tissue are infected and not the proper muscle and nervous tissues.

The strong alteration particularly of the fat tissue, the hypodermis and the tracheal epithelium induced by the nuclear polyhedrosis in *Lymantria dispar* L. may be compared to the same alterations reported by a number of investigators in various Lepidoptera species infected with nuclear polyhedral viruses, such as: *Vanessa urticae* L., *Euxoa segetum* L. [13]; *Bombyx mori* Linnaeus [16]; *Taumatopoea pityocampa* Schiff [19]; *Petrocera amplicornis* Walker [5]; *Tineolla bisseliella* L. [18]; *Plusia gamma* L. [20]; *Aporia crataegi* L. [10]; *Stilpnotia salicis* L. [16]; *Erannis tiliaria* (Harris) [17]; *Lambdina fiscelaria somnaria* (Hulst) [11]; *Malacosoma alpicola alpicola* Staudinger [1].

It may therefore be concluded that regardless of the insect host and its specific nuclear polyhedrosis virus, the adipose tissue, the hypodermic and the tracheal epithelium are always the most sensitive to the viral infection, being deeply altered.

As to the infection liability of other tissue types, a high diversity of opinion results from the published reports. For example, concerning the nerve tissue, Smith and Xeros [18] point out that there are polyhedric

inclusions in the nerve ganglions of the *Tineolla bisseliella* L. larvae, and Ossowski [12] emphasizes the nerve and perinerve cell infection in the *Katocalia junodi* (Heyl) polyhedrosis. Morris [11] states that in *Lambdina fiscellaria somniaria* (Hulst) the neurilemma of the nerve string is infected, and Benz [1] claims the infection of the nerve sheath in *Malacosoma alpicola*. (Staudinger). Day and collab. [5] in *Pterolocera amplicornis* Walker, and Steopoe, Săvulescu and Ploaie [16] in *Stilpnotia salicis* L. point out that the nerve tissue is not infected. We have demonstrated that in *Lymantria dispar* L. the infection occurs only in the tracheal epithelium cells which are penetrating in the nerve ganglions, this being in full agreement with the opinion of the authors mentioned above [16].

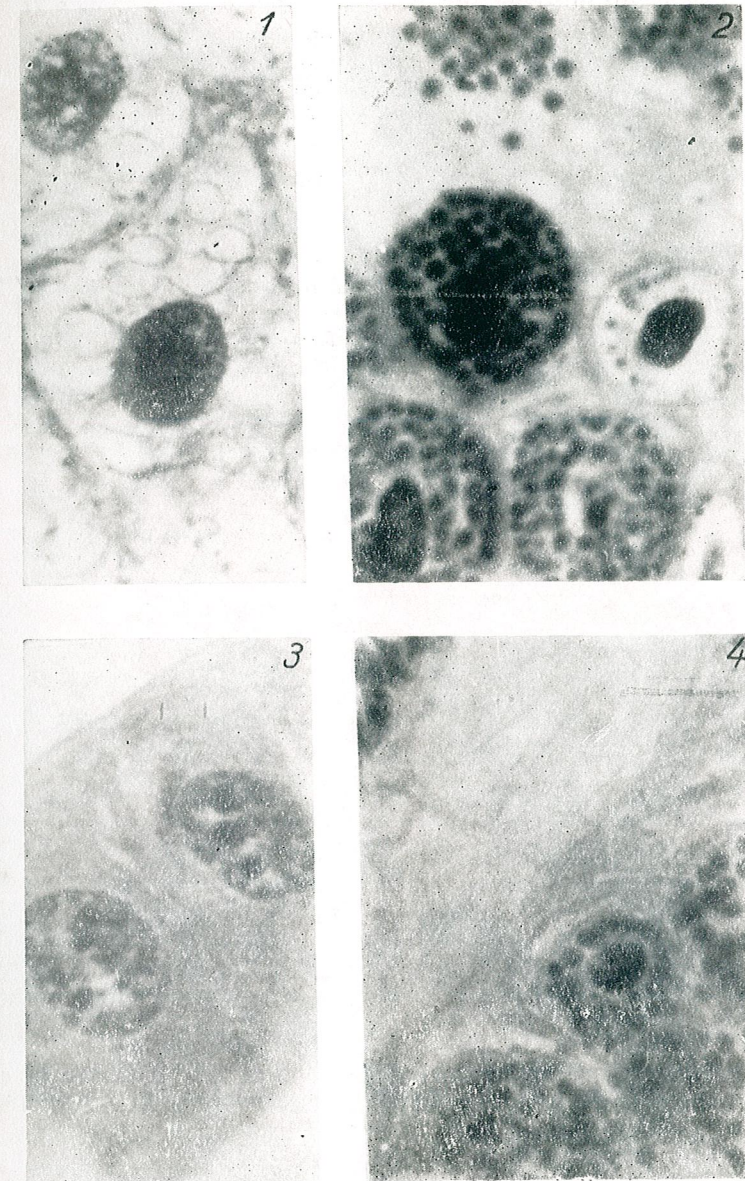
A similar condition may be found in the discussion about the infection at the muscle tissue level. While Iwashita and collab. [9] emphasize the liability of this tissue, Day and collab. [5], Steopoe and collab. [16], and ourselves found no changes in the muscle fibre.

There are also misunderstandings about the intestine epithelium infection, the Malpighi tubes and the serigenic glands. According to Day and collab. [5] these tissues show no morpho-pathological changes in the *Pterolocera amplicornis* Walker nuclear polyhedrosis, but Smith and Xeros [18] state that the serigenic glands and the Malpighi tubes in *Tineolla bisseliella* L. are subjected to nuclear polyhedric virus infection. Steopoe and collab. [16] state that the intestinal cells (those with a striated plate as well as the young ones from the regenerating nests) of *Stilpnotia salicis* L. are infected with nuclear polyhedrosis virus, and also the serigenic gland cells, but not the Malpighi tube cells. Our investigations did not reveal any nuclear polyhedrosis virus infection in the digestive epithelium, the Malpighi tubes and the serigenic glands.

It is difficult to correlate the infection liability of the various tissue types to their origin, since we found that tissues of the same origin have different responses to infection. Thus, while the hypodermis and the tracheal tissue are strongly affected by polyhedrosis, the nerve tissue, having the same ectodermal origin, is not infected. Generally, the tissues with ectodermal and mesodermal origin are most affected by nuclear polyhedrosis. It seems that in liability to infection a special importance must be referred to the degree of specialisation of the tissues.

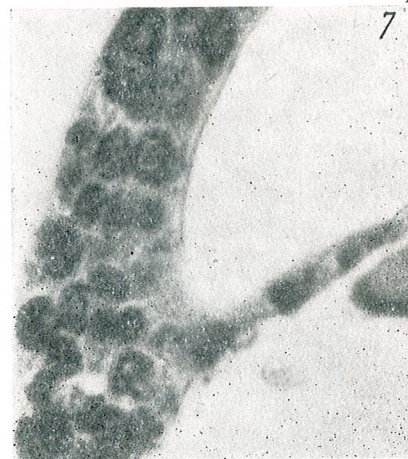
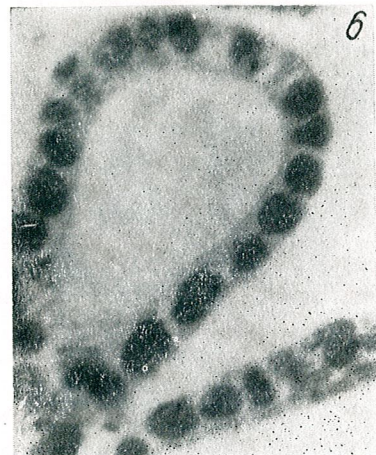
The great diversity of results in different polyhedrosis may be explained by assuming the existence of different viruses, with various degrees of virulence, in relation with different hosts which may have a variated infection liability, depending on different biological and ecological factors. From this standpoint, a particular significance has the virus concentration and its way of penetration in the host. We may also add the period elapsed between the infection occurrence and the time of fixation of the material for the histological analysis.

It is obvious that all these changes were detected by the occurrence of polyhedral inclusions in the nuclei of the different tissue types or of the virogenic stroma and other phenomena associated to the pathological process, such as the nuclei and nucleoli hypertrophy. There may be also some biochemical and structural changes, which cannot be recorded by the light microscope, but possibly by the electron microscope, and this possibility is the object of further investigations to be made in our laboratory.



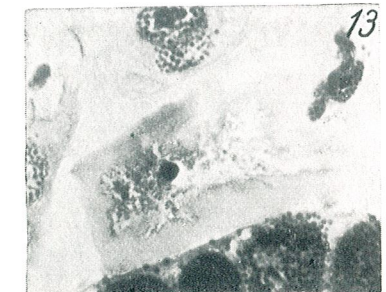
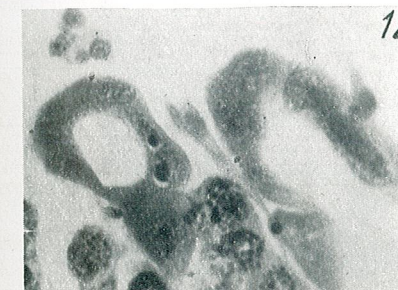
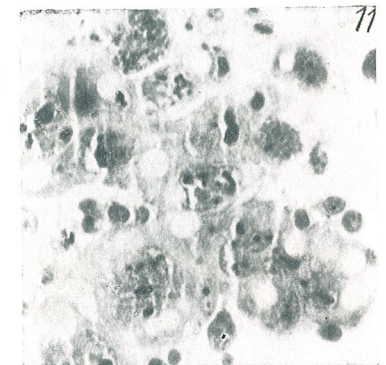
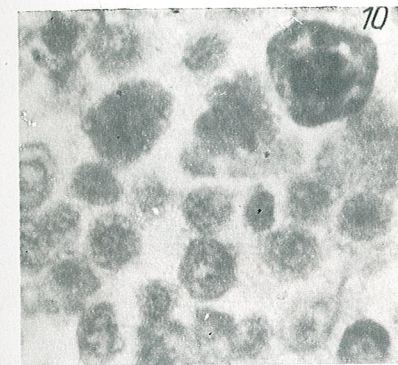
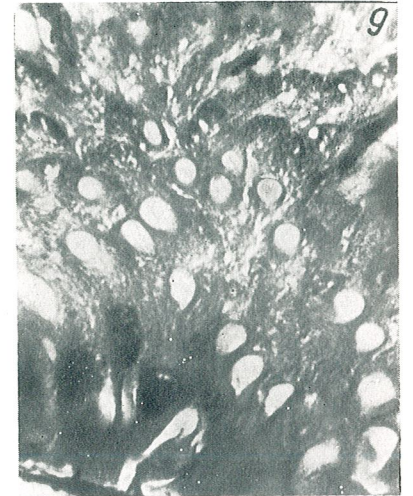
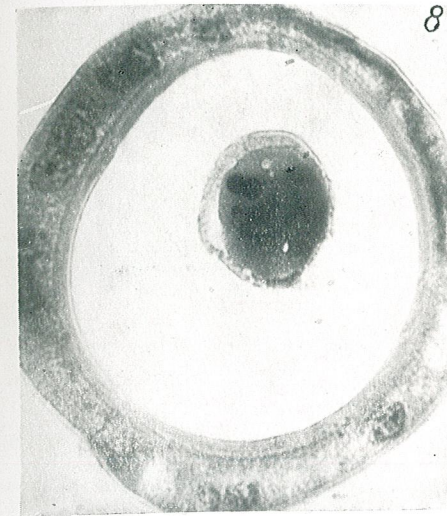
1 — Normal fat tissue; 2 — Aspect of a fat tissue infected by the nuclear polyhedrosis virus; 3 — Normal hypodermic epithelium; 4 — Infected hypodermic cells with hypertrophic nuclei full with polyhedra.

PLATE II

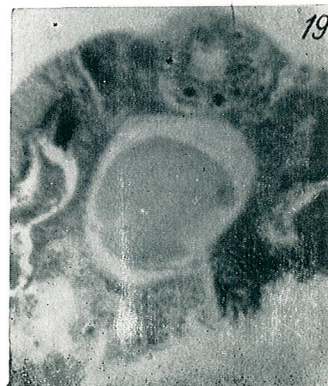
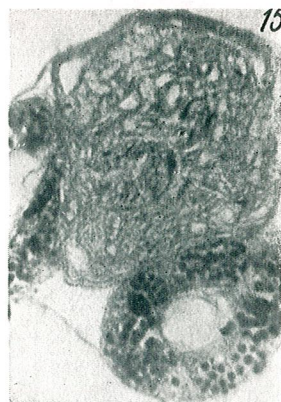


5 - Normal tracheal epithelium; 6 - Aspect of an infected trachea in cross section; 7 - Infected trachea with hypertrophic nuclei full with polyhedra in several ranges.

PLATE III



8 - Normal Malpighi tube cells; 9 - Aspect of uninfected digestive epithelium; 10 - Figurative elements of the healthy larvae hemolymph; 11 - Aspect of hemocytes in larvae infected with nuclear polyhedrosis; 12 - Section across trichogenic cells of infected larvae; note the lake of infection in trichocytes and the strongly affected hypodermis; 13 - Uninfected oenocyte surrounded by other tissues strongly infected.



14 — Normal appearance of the nerve tissue; 15 — Infected trachea attached to the nerve tissue; note the lake of infection in the nerve substance; 16 — Normal appearance of the muscle tissue; 17 — A section across the muscle of polyhedrosis infected larvae. The infection is evident only at the conjunctive sheath level around the muscular fibres; 18 — Cross section through the normal sericigenic gland; 19 — Section across the sericigenic gland of an infected larva. The infection is exclusively located at the tracheal epithelium level which is in connection with the glandular tissue.

REFERENCES

1. BENZ G., *Insect. Pathol.*, 1963, **5**, 3, 215—241.
2. BIRD F.T. and WHALEN M. M., *Can. Entomologist.*, 1953, **85**, 433—437.
3. BREINDL Y., *Věst. Cesk. Zool.*, 1938, **5**, 94—115.
4. CLEMENTS A. N., *J. Exp. Biol.*, 1959, **36**, 665—675.
5. DAY M. F., COMMON I.F.B., FARRANT J. L. and CORALIE POTTER, *Austr. Journ. Biol. Sci.*, 1953, **6**, 4, 574—579.
6. DEREVICI A., PORTOCALĂ R., VASILESCU P., *Anal. Acad.R.P.R. Ser. St. Nat.*, 1950, **2**, 23.
7. DESAI R. M. and KILBY B. A., *Arch. Intern. Physiol. et Biochem.*, 1958, **66**, 24, 248—259.
8. GLASER R. W., *J. Agr. Research.*, 1915, **4**, 101—128.
9. IWASHITA Y. and ARUGA, H., *J. Sericic. Sci. Japan.*, 1957, **26**, 323—328.
10. KRIEG A., LANGENBUCH R., *Z. für Pflanzenkrank. und Pflanzenschutz*, 1956, **63**, 2, 95—99.
11. MORRIS O.N., *J. Insect. Path.*, 1962, **4**, 4, 446—453.
12. OSSOWSKI L. J., *S. Afric. J. Sci.*, 1958, **54**, 3.
13. PAILLOT A., *Ann. des Epiphyt. et Phytogén.*, 1936, **2**, 3.
14. SĂVULESCU A., PETRE Z., PLOAIE P., *St. și cerc. biol. Seria bot.*, 1966, **18**, 6, 521—525.
15. STEINHAUS E. A. *Principles of Insect. Pathology.*, McGraw Hill, New York, 1949, 757 p.
16. STEOPOE I., SĂVULESCU A., PLOAIE P., *Revue Roum. Biol.*, 1961, **6**, 4, 411—426.
17. SMIRNOFF W. A., *J. Insect. Path.*, 1962, **4**, 4, 393—401.
18. SMITH K. M. and XEROS N., *Parasitology*, 1954, **44**, 71—80.
19. VAGO C., *Ann. des Epiphyt.*, 1953, **3**, 319.
20. VAGO C. et CAYROL R., *Ann. des Epiphyt.*, 1955, **4**, 421.
21. XEROS N., *Nature*, 1953, **172**, 304—310.
22. XEROS N., *Nature*, 1955, **175**, 588—590.

Received July 17, 1967

“Tr. Săvulescu” Institute of Biology
Department of Microbiology
and General Phytopathology
and Laboratory of Animal Morphology
Bucharest



INTERACTION ENTRE LES HORMONES CORTICOÏDES ET L'INSULINE DANS LE MÉTABOLISME GLUCIDIQUE CHEZ *RANA ESCULENTA*

PAR
E. A. PORĂ, I. MADAR, NINA ȘILDAN-RUSU et A. ABRAHAM

The effect of DOCA and insulin on the carbohydrate metabolism of *Rana esculenta* was followed. The experiments were made in December and January.

A dose of 1.5 mg DOCA induced a significant hypoglycemia, 24 hours after its administration. 3 mg DOCA, after 24 or 48 hours, determined an evident hyperglycemia, accompanied by a decrease in liver glycogen content and in the activity of respiratory enzymes. The simultaneous administration of insulin and DOCA reduced the hyperglycemia induced by DOCA administration.

On dispose de très peu de renseignements sur le rôle des hormones cortico-surréaliennes dans le métabolisme glucidique des Batraciens. En ce qui concerne l'action de l'acétate de désoxycorticostérone (ADCS), nous n'avons trouvé aucune indication dans la littérature. C'est pour cela que nous avons institué des expériences concernant l'influence de cette hormone sur le métabolisme glucidique. Dans la présente note nous présentons les résultats obtenus sur des grenouilles injectées avec différentes doses d'ADCS seul ou combiné avec de l'insuline.

Nos recherches ont été faites pendant les mois de décembre et janvier sur de grenouilles en repos hivernal, aux mêmes heures de la journée, pour éliminer, autant que possible, les variations très amples de la glycémie des Amphibiens, suivant la saison, l'époque de reproduction, la température du milieu, l'état d'inanition, etc. [5].

Nous avons utilisé des grenouilles de deux sexes, d'un poids de 35 à 80 g, maintenues dans des aquariums à une température de 10° à 13°C. Nous avons institué les suivants lots d'expériences :

Lot	Ayant reçu par 50 g de poids et jour :		Nombre de jours de traitement	Sacrifiés à 24 ou 48 heures après la dernière dose
	ADCS mg	INSULINE UI		
I (Témoins)				
II	1,5	—	2	24
III	1,5	1	2	24
IV	3,0	—	2	48
V	3,0	1	2	48
VI	3,0	—	3	24
VII	3,0	1	3	24

La solution huileuse d'ADCS (fabrication « Fiola ») contenait 10 mg d'hormone par ml. L'insuline (fabrication « Richter ») recristallisée six fois, a été dissoute dans l'eau distillée à pH = 3,5; la solution contenait 10 U.I. par ml.

Les hormones ont été administrées par des injections dans la musculature de la cuisse de l'autre pied de la grenouille. Les échantillons d'organes ont été prélevés immédiatement après la sacrifice des animaux.

La glycémie (sur du sang recolté directement du cœur) a été déterminée par la micro-méthode photolorimétrique d'Asatoor et King [1]; le glycogène hépatique par la méthode de Montgomery [6]; les activités de la transaminase glutamino-oxalacétique (GOT) et de la transaminase glutamino-pyruvique (GPT) du foie ont été mesurées par la méthode de Cabaud et Dubach [2] et les activités de la succindéhydrogénase (SDH) et de la cytochrome-oxydase (CyOx) par la méthode de Schneider et Potter [8].

Il faut remarquer qu'après la seconde injection de 3 mg d'ADCS (lots IV et VII), apparaît un état comateux; les animaux sont inertes, adynamiques et une grande quantité de liquide s'accumule sous la peau, dans la cavité du corps et dans la vessie urinaire. Cet état de rétention d'eau correspond au moment le plus grave des troubles du métabolisme glucidique. Nous considérons cet état comme un *coma diabétique de type stéroïdique* provoqué par l'ADCS.

Deux jours après l'arrêt du traitement, l'eau en excès commence à s'éliminer et les animaux à revenir vers la normale; mais seulement après 12 jours la glycémie arrive aux valeurs initiales et le glycogène hépatique même plus tard.

Nos résultats sont présentés dans les tableaux 1 et 2.

DISCUSSION DES RÉSULTATS

On sait que chez les Mammifères les hormones glyco-corticoïdes produisent une hyperglycémie soit par le blocage de la consommation périphérique du glucose, soit par l'augmentation de la néoglycogénèse hépatique (au dépens des protéines) et la déposition du glycogène dans le foie.

Chez la salamandre, Wurster et Miller [10] ont constaté que les fortes doses d'hydrocortisone provoquent une hyperglycémie notable, avec une dégranulation des cellules B des îlots pancréatiques. Les recherches récentes de Hanke [3] démontrent que l'ACTH, la cortisone, la corticostérone, le cortisol et l'aldostérone provoquent chez la grenouille une hyperglycémie évidente.

L'ADCS, chez les Mammifères est une faible hormone glyco-corticoïde; mais chez la grenouille il a une forte action hyperglycémiant. A 3 heures après une administration de 1,5 mg ADCS pour 50 g de poids, la quantité de glucose du sang de la grenouille arrive de 10 mg% (valeur normale) à 35 mg%, donc une augmentation de plus de 200 pour 100 (valeurs moyennes pour 8 individus). Cependant le glycogène hépatique ne varie pas. Mais après 24 heures de la même dose d'ADCS on constate une hypoglycémie (lot II, fig. 1) évidente. Nous attribuons cette baisse de la glycémie à une libération massive d'insuline provoquée par l'ADCS. Si on augmente la dose d'ADCS à 3 mg, ou si on prolonge le traitement à 2 ou 3 jours, on constate une forte hyperglycémie (lots IV et VI). L'administration de l'insuline (lots III, V et VII) provoque toujours une baisse du taux du glucose sanguin, même dans les hyperglycémies très fortes (lots

IV et VI); l'administration de l'insuline en même temps avec l'ADCS produit une chute glycémique très évidente (fig. 1, glycémie).

Les hyperglycémies provoquées par une dose plus forte d'ADCS sont accompagnées d'une forte augmentation des activités transaminasiques (GOT et GPT) et d'une baisse du glycogène hépatique (v. fig. 1) aussi bien que d'une diminution des processus oxydatifs du foie et du cerveau (fig. 2). Des résultats semblables ont été obtenus sur des Poissons [7] et sur des Mammifères [4], [9]. Les mêmes phénomènes peuvent être

Tableau 1

Modifications de la glycémie, du glycogène et de l'activité transaminasique du foie de grenouille sous l'influence de l'ADCS seul, ou combiné avec de l'insuline.

Lots	Heures après la dernière dose	Glycémie mg %	Glycogène hépatique g %	Activité transaminasique en unités (1 U. = μ gAP/1,5 mg/20 mn)	
				GOT	GPT
I. Témoins		10,0(\pm 0,4) (21)*	148(\pm 6,2) (12)	68(\pm 5,5) (8)	13(\pm 2,7) (8)
II. 1,5 mg ADCS 2 jours	24	4,0(\pm 0,6) (9) p<0,001	145(\pm 13) (9) p>0,05		
III. 1,5 mg ADCS + 1 U.I. Ins. 2 jours	24	0,5(\pm 0,3) (6) p<0,02	120(\pm 10,6) (6) p \approx 0,05		
IV. 3,0 mg ADCS 2 jours	48	124(\pm 9,2) (10) p<0,001	92(\pm 10) (8) p<0,001	98(\pm 6,6) (8) p<0,01	35(\pm 4,5) (8) p<0,01
V. 3,0 mg ADCS + 1 U.I. Ins. 2 jours	48	6,0(\pm 3,2) (6) p>0,5	101(\pm 11,2) (9) p<0,01		
VI. 3,0 mg ADCS 3 jours	24	259(\pm 30) (13) p<0,001	42(\pm 9,5) (8) p<0,001	93(\pm 3,7) (7) p<0,01	41(\pm 3,6) (9) p<0,001
VII. 3,0 mg ADCS + 1 U.I. Ins. 3 jours	24	29(\pm 11) (9) p>0,05	111(\pm 12) (7) p>0,05	69(\pm 3) (9) p>0,05	15(\pm 3,3) (10) p>0,05

* (nombre des individus)

Tableau 2

Modifications de l'activité de la SDH et de la CyOx du foie (F) et du cerveau (C) de grenouille en μ Aox/g/mn après un traitement de 3 jours avec une dose journalière de 3 mg ADCS/50 g poids

Succindéhydrogénase (SDH)				Cytochrome-oxydase (CyOx)			
Témoin		avec ADCS		Témoin		avec ADCS	
C	F	C	F	C	F	C	F
1,35 (\pm 0,18) (6)	1,53 (\pm 0,12) (8)	0,75 (\pm 0,02) (7) p<0,01	1,01 (\pm 0,07) (9) p<0,05	2,47 (\pm 0,10) (6)	2,05 (\pm 0,13) (9)	0,87 (\pm 0,09) (7) p<0,05	1,06 (\pm 0,08) (5) p<0,001

observés chez les Mammifères sous l'action des hormones glyco-corticoïdes, quand on obtient un diabète de type stéroïdique. La différence entre le diabète stéroïdique des Mammifères et celui que nous avons obtenu chez

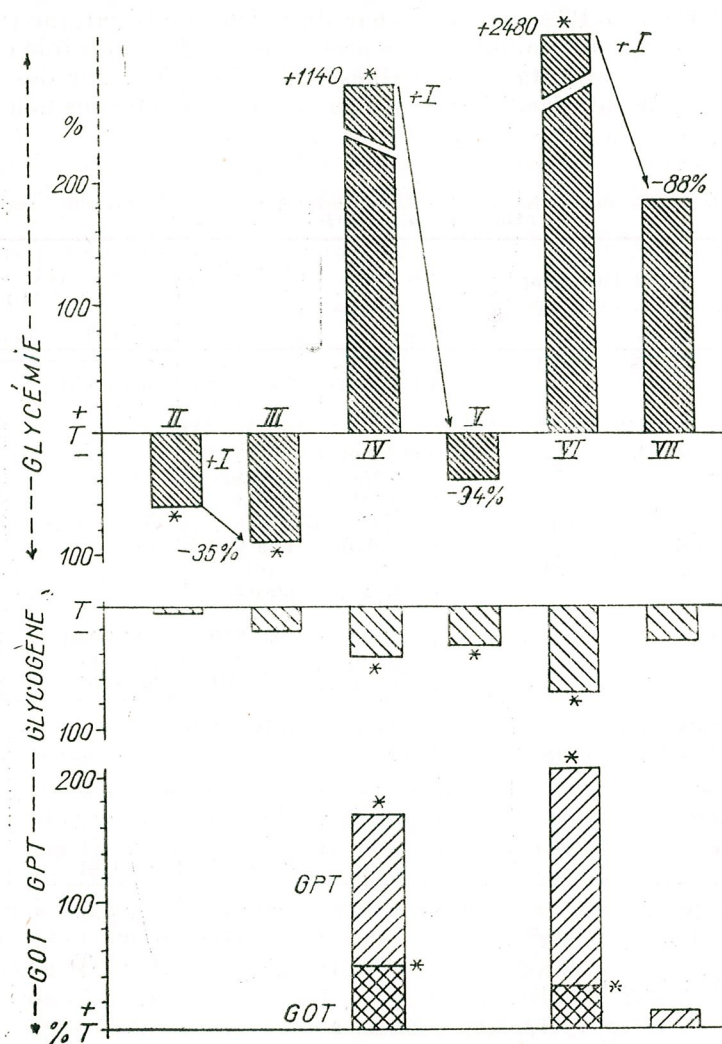


Fig. 1. — Interaction entre la glycémie sanguine, le glycogène hépatique et l'activité de la transaminase glutamino-oxalacétique (GOT) et glutamino-pyruvique (GPT) du foie de grenouille. Les variations sont données en + ou - p. 100 par rapport à la normale (T = témoin). Chiffres romains, numéros des lots; I, Insuline; *, valeurs statistiquement significatives.

la grenouille consiste dans la baisse systématique du glycogène hépatique, ce qui peut dénoter que chez les Batraciens il ne se produit pas une néoglycogénèse sur le compte des protéines, ou que le glucose qui apparaît

dans le catabolisme protéique (hyperactivité des transaminases) ne peut être retenu par les cellules hépatiques.

En tout cas l'ADCS, qui chez les Mammifères est une hormone minéralo-corticoïde, présente chez les Batraciens une action glyco-corticoïde et diabétogène très forte, donc chez ces vertébrés inférieurs une même hormone peut avoir des actions doubles : sur le métabolisme minéral et

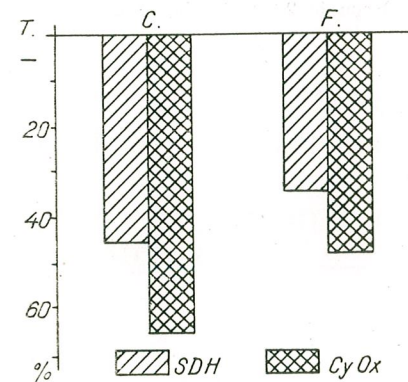


Fig. 2. — Activité de la succinés-hydrogénase (SDH) et de la cytochrome-oxydase (CyOx) du cerveau (C) et du foie (F) de la grenouille en p. 100 par rapport au témoin sous l'influence de l'ADCS.

sur celui glucidique. La spécialisation des actions hormonales se réalise à la suite d'une évolution plus perfectionnée.

En conclusion nous pouvons affirmer que :

- une dose de 1,5 mg d'ADCS provoque en 3 heures une forte hyperglycémie chez la grenouille, sans modifications de la quantité de glycogène hépatique ;
- la même dose, après 24 heures produit une hypoglycémie, toujours sans modifications du glycogène hépatique ;
- une dose de 3 mg d'ADCS provoque, après 24 ou 48 heures, une très forte hyperglycémie et une baisse notable du glycogène hépatique et de l'activité des diastases respiratoires. En même temps on constate une hyperactivité transaminasique, ce qui dénote une protéolyse accentuée. Mais le glucose qui résulte de ce catabolisme protéique, ne peut pas être retenu dans le foie et reste libre dans le sang, provoquant une hausse énorme de la glycémie, avec un état très caractéristique de « coma diabétique » ;
- l'administration de l'insuline associée à l'ADCS, atténue beaucoup l'état comateux et les valeurs de l'hyperglycémie ;
- chez les Batraciens, L'ADCS joue aussi un rôle d'hormone glyco-corticoïde.

BIBLIOGRAPHIE

1. ASATOOR A. A., KING E. J., *Biochem. J.*, 1954, **56**, 44.
2. CARAUD P. H., DUBACH U.C., cité par BALINT P., dans *Klinikai laboratoriumi diagnosztika*. Ed. Medicina, Budapest, 1962, 613.
3. HANKE W., *Excerpta Med. Internat. Congress*, Series 1966, **132**, 1073-1083.
4. JENSEN P. K., NEUHARD J., *Biochem. Biophys. Acta*, 1961, **52**, 97.
5. MATEI C., *Rev. roum. Biol.*, Série de Zoologie, 1964, **9**, 343.

6. MONTGOMERY R., Arch. Biochem. a Biophys., 1957, **67**, 378.
7. PORA E. A., ABRAHAM A. D., SILDAN-RUSU N., Marine Biol., 1967, **1**, 33.
8. SCHNEIDER W. C., POTTER V. R., J. Biol. Chem., 1943, **149**, 217.
9. VILLEE C. A., ENGEL L. L., *Mechanism of Action of Steroid Hormones*. Ed. Pergamon Press, Oxford, 1961.
10. WURSTER D. G., MILLER M. R., Compar. Biochem. Physiol., 1960, *1-2*, 101.

*Centre de Recherche biologique, Cluj
Section de Physiologie animale*

Reçu le 26 septembre 1967

LE RÔLE DES SUBSTANCES CAROTÉNOÏDES DANS LE DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DES SALMONIDES

PAR

MATHILDE JITARIU, HÉLÈNE HEFCO, WALTER MÜLLER,
I. BOIȘTEANU et G. DAVIDEANU

The activity of cytochrome-oxydase, succyndehydrase and ascorbic acid was determined both in non-fertilized and in fertilized eggs (immediately and 10, 24, 32, 42, 48 and 59 days after fertilization). Oxygen consumption and the existent carotenoids were also determined.

It was supposed that after fertilization the respiratory system of the mature ovules could not meet the development necessities of the metabolism. It seems that those processes are satisfied by a second electron-transfer system, the carotenic one.

Tandis que pour le règne végétal on connaît presque toutes les substances caroténoïdes existantes et qu'on a déjà effectué des recherches sur leur rôle, on ne peut en dire autant en ce qui concerne les animaux.

Les investigations faites dans le règne animal sont extrêmement rares et se bornent à mettre en évidence l'existence de l'un ou de l'autre des pigments dans les divers organes du corps animal. Il y a des recherches montrant que ces pigments subissent un certain métabolisme dans le corps animal [8], [9], [14], [15], [28], [29].

Les essais d'élucider le rôle des pigments, surtout dans les œufs des poissons, se limitent à constater qu'ils servent comme réservoir pour les chromatophores de l'embryon [25], [26], ou comme source de vitamine A [10].

D'après Hartmann et ses collaborateurs [12], [16], [30], il paraît que ces pigments aient un certain rôle dans le métabolisme ou dans le processus de fécondation dès qu'ils agissent comme « gamonnes ».

Les observations morpho-écologiques faites par I. G. Soin [24] suggèrent qu'il existerait un certain rapport entre la disparition graduelle de la couleur des œufs de Salmonides fécondés pendant leur développement embryonnaire et les conditions d'oxygénation du milieu ambiant. On suppose cependant que les pigments caroténoïdes auraient un rôle respi-

ratoire, la concentration du pigment étant dans une relation étroite avec la concentration de l'oxygène du milieu où se développent ces œufs.

Ces appréciations sont bien intéressantes et méritent l'attention des physiologues et des biochimistes.

★

Le but de notre travail est de déceler, autant que possible, le rôle des pigments caroténoïdes dans la période de développement embryonnaire des Salmonides.

Nous avons travaillé avec des œufs de *Salmo trutta fario* non fécondés, immédiatement après la fécondation et incubés pendant 10, 24, 32, 42, 48 et 59 jours.

On a déterminé l'activité enzymatique de la cytochrome-c-oxydase [21], de la succindéhydrogénase [11], de l'acide ascorbique [16], autant que la respiration (la consommation d'oxygène avec l'appareil de Warburg). En même temps, on a isolé et enregistré au spectrophotomètre de Beckman les différents caroténoïdes existant dans ces œufs.

Le matériel caroténoïde a été analysé dans une atmosphère d'azote, l'isolement et la purification étant effectués par chromatographie sur colonne. La nature de certains pigments a été précisée par la chromatographie d'une couche mince [11].

Les résultats de nos déterminations faites sur la respiration nous ont montré, immédiatement après la fécondation (2-4 heures), qu'il s'agit d'une augmentation de la consommation d'oxygène de 7,321 mm³ O₂/h/g par rapport aux œufs non fécondés. Ce fait atteste une activation métabolique qui devrait se refléter dans une augmentation de l'activité des systèmes enzymatiques et dans une série de processus métaboliques probablement différents de ceux des œufs témoins.

L'activité de la cytochrome-oxydase augmente après la fécondation pour donner lieu ensuite à une série d'oscillations dont les valeurs maximales n'arrivent jamais à celle des premières heures. Si on met en rapport le comportement de cet enzyme avec la consommation d'oxygène, on ne constate pas toujours un parallélisme entre ces deux processus (fig. 1).

On sait que la fécondation désinhibe l'action de certains enzymes qui se trouvent dans un état d'immobilité fonctionnelle dans l'ovule mûr; c'est pourquoi nous considérons logique le parallélisme entre le processus respiratoire et la croissance de l'activité cytochrome-oxydasique par suite de la fécondation.

Mais comment peut-on expliquer la voie différente que prennent ces processus dans les phases ultérieures du développement du zygote? Il est encore difficile d'y répondre.

Cependant, il y a des recherches faites avec des œufs d'invertébrés en embryogenèse ou sur des tissus nerveux en ontogenèse qui constatent le manque de concordance entre le processus respiratoire et l'activité cytochrome-oxydasique [2], [6], [7], [19], [20].

D'après les travaux de Runnström [22], pendant les phases initiales de l'embryogenèse des œufs d'oursin, les enzymes du système respiratoire qui apparaissent et complètent plus tard tout le système enzymatique feraient défaut.

Rappoport et ses collaborateurs [21], en travaillant également avec des œufs de *Paracentrotus* non fécondés et fécondés, concluent qu'il y a

une activité cytochrome-oxydasique dans les deux phases mais que cette activité ne varie pas d'une façon significative après la fécondation.

Nos valeurs ne montrent elles non plus une variation significative pour les œufs fécondés de *Salmo trutta*. Il reste à démontrer si dans la phase d'embryogenèse cette diastase a ou n'a pas une action propre, normale. Ils nous a été impossible de déceler une activité succindéhydrogénasique chez les œufs non fécondés ou incubés pendant 59 jours.

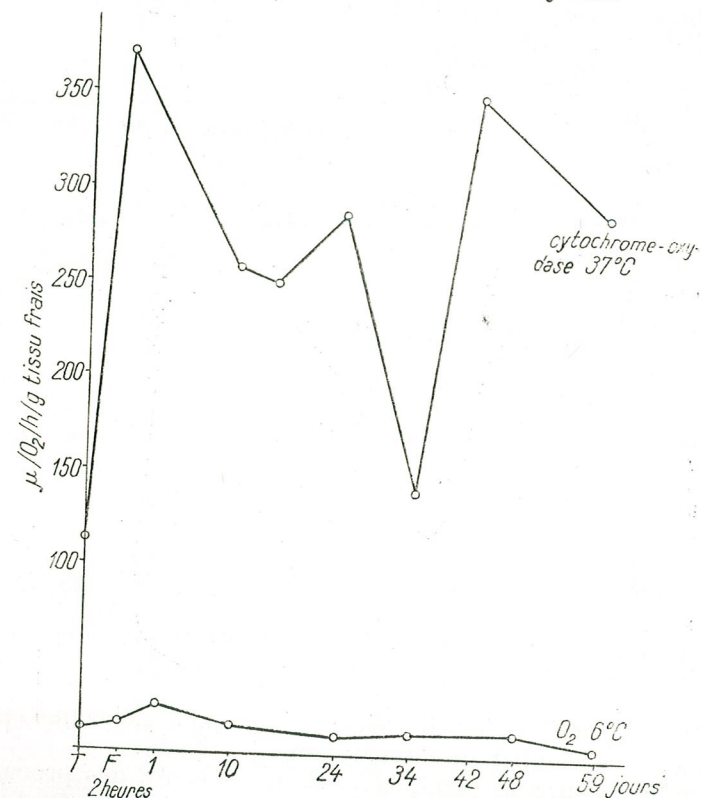


Fig. 1. — L'activité de la cytochrome-oxydase des œufs de *Salmo trutta* ($\mu\text{O}_2/\text{h/g}$ tissu frais).

L'acide ascorbique présentant une valeur de 23,13 mg% chez les œufs témoins subit une diminution de 3,29 mg% immédiatement après la fécondation. Il s'agit d'une consommation de vitamine C qui continue jusqu'au 10^e jour d'incubation.

Il est intéressant de relever que quelques heures après la fécondation, une certaine quantité de vitamine C est bien utilisée, sans qu'on puisse déceler la moindre trace d'acide déhydro-ascorbique. Celui-ci apparaît seulement 24 heures après la fécondation; ensuite, 10 jours, l'acide déhydro-ascorbique se maintient presque à la même valeur, pour disparaître le 24^e jour, quand la vitamine C se trouve dans une concentration plus grande que chez les œufs non fécondés.

Cette fois le manque d'acide déhydro-ascorbique se maintient approximativement pendant 30 jours, bien que l'acide ascorbique soit de nouveau utilisé.

Enfin, le 59^e jour de l'embryogenèse, l'acide déhydro-ascorbique apparaît de nouveau, mais dans une quantité assez faible.

Faute d'une possibilité d'analyser la vitamine C pour des intervalles plus courts et d'une façon plus détaillée, nous admettons sur la base des résultats obtenus que la vitamine C est probablement utilisée par deux

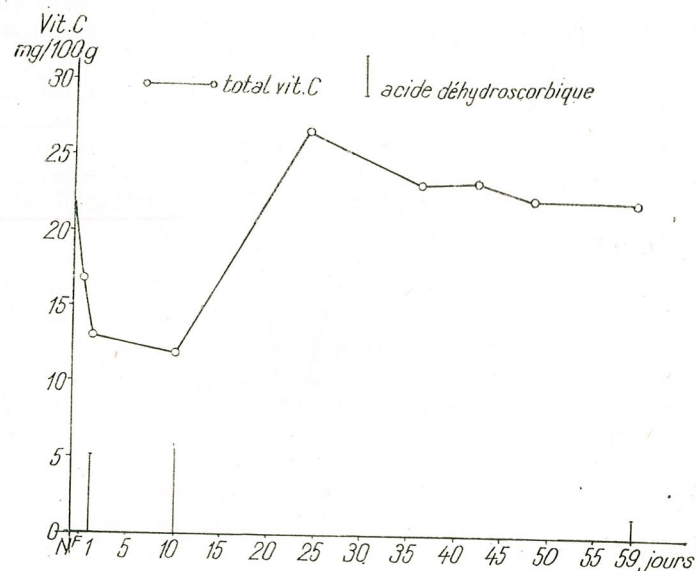


Fig. 2. — La vitamine C dans le développement embryonnaire de *Salmo trutta*.

voies différentes, en fonction des nécessités momentanées que ressent cette cellule en état particulier de développement (fig. 2).

En même temps se produisent chez le zygote des processus métaboliques intenses. Nous avons relevé un de ces processus en dosant quantitativement la protéine soluble et celle contractile (méthode réfractométrique) après leur extraction des solvants spécifiques, et en déterminant le pourcentage des fractions de ces protéines après leur séparation électrophorétique.

La protéine soluble (extraite du tampon phosphate $\mu = 0,05$) a une valeur totale de 5,03 g% chez les œufs non fécondés, présentant trois fractions distinctes après l'électrophorèse; ces fractions sont dans un rapport de 16,20% pour la fraction qui présente la mobilité la plus grande, de 51,0% pour la fraction moyenne et de 32,30% pour la fraction qui présente la mobilité la plus réduite.

Dans les premières heures après la fécondation, cette protéine subit une transformation si intense que sa valeur totale atteint 1,91 g%. La fraction la plus utilisée est celle qui présente la mobilité la plus réduite qui diminue en moyenne de 15% (Pl. I, 3 a, b). En même temps, la protéine

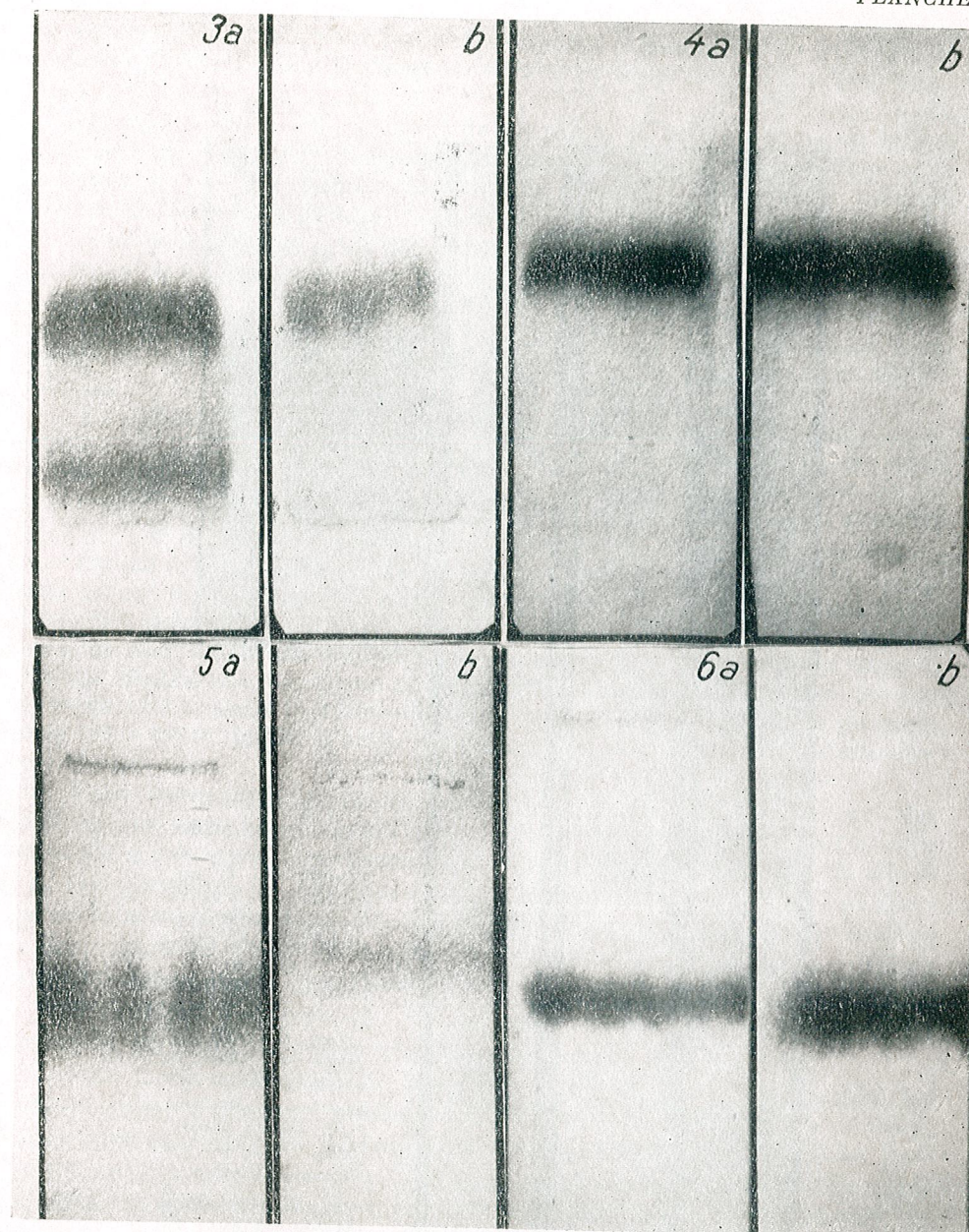


Fig. 3. — Protéine soluble (16.XI.1966). a, Témoin; b, immédiatement après la fécondation (entre 2-4 heures).

Fig. 4. — Protéine contractile (16.XI.1966). a, Témoin; b, immédiatement après la fécondation.

Fig. 5. — Phospholipides (12.XI.1966). a, Témoin; b, immédiatement après la fécondation (16.XI.1966).

Fig. 6. — Phospholipides (16.XI.1966). a, Témoin; b, immédiatement après la fécondation.

PLANCHE II

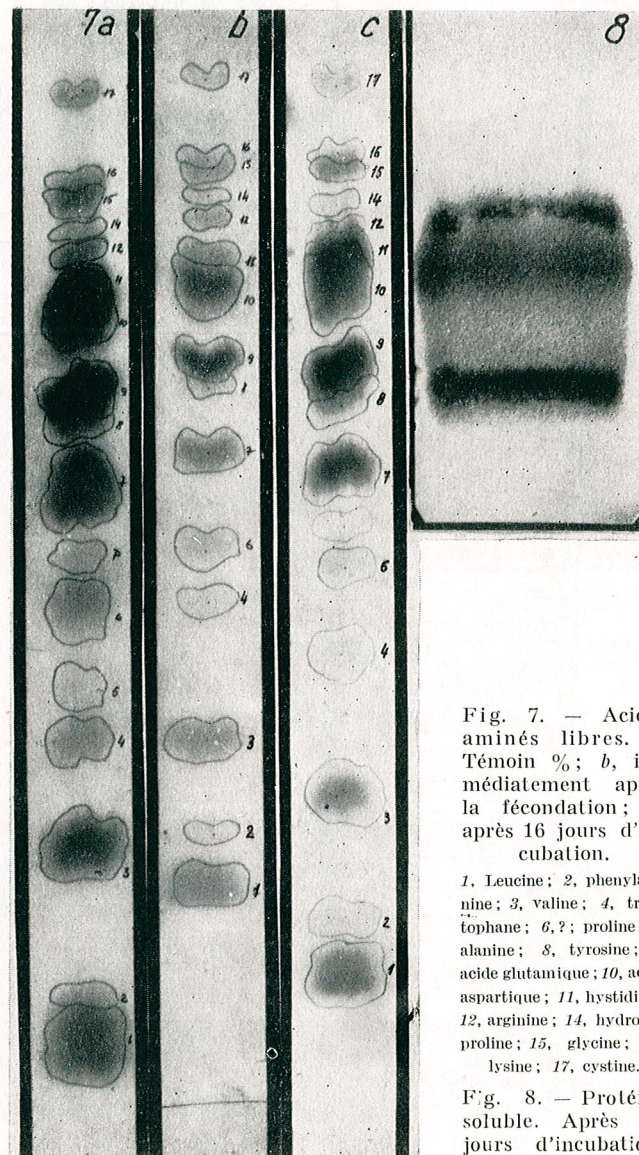


Fig. 7. — Acides aminés libres. *a*, Témoin %; *b*, immédiatement après la fécondation; *c*, après 16 jours d'incubation.

1, Leucine; 2, phenylalanine; 3, valine; 4, tryptophane; 5, ?; 6, ?; 7, alanine; 8, tyrosine; 9, acide glutamique; 10, acide aspartique; 11, histidine; 12, arginine; 14, hydroxyproline; 15, glycine; 16, lysine; 17, cystine.

Fig. 8. — Protéine soluble. Après 16 jours d'incubation.

du type acto-myosinique (extraite d'une solution de Weber-Edsall) a une valeur de 5,44 g% pour les œufs témoins, valeur qui croît après la fécondation jusqu'à 8,12 g%; la seconde fraction électrophorétique augmente de 6,7% (Pl. I, 4 *a*, *b*).

Il paraît que ce changement de protéines se produit dans un milieu contenant une quantité identique de substance, car la valeur totale de la protéinémie (protéine soluble et protéine contractile) des œufs témoins et des œufs fécondés a presque la même valeur (10,1 g%).

Les changements subis par la protéine soluble et la protéine contractile entraînent également des modifications dans les complexes glyco- et lipoprotéiques. Ainsi, après la fécondation, le glucide combiné avec la protéine soluble diminue de 17,75%, alors que le glucide combiné avec la seconde fraction de la protéine du type acto-myosinique augmente de 15,20%.

Les phospholipides sont fixés en grande quantité sur la seconde et la troisième fraction de la protéine soluble, représentant 44,10% du total du phospholipide des œufs témoins. Immédiatement après la fécondation, ce phospholipide diminue de 19,20% tandis que celui fixé sur la protéine du type acto-myosinique augmente de 6,60% (Pl. I, 5 *a*, *b* et 6 *a*, *b*).

Onishi et Kawamura [18], travaillant avec des œufs d'oursin, montrent qu'entre l'actomyosine et les phospholipides s'établissent des complexes qui participent aux changements, par la membrane, des cations. Ainsi, la réaction d'une quantité plus grande de phospholipides avec la protéine contractile à la place de la protéine soluble dans les œufs de *Salmo trutta* nous paraît logique, nous amenant à supposer qu'elle pourrait jouer dans cette phase d'embryogenèse aussi le rôle que lui attribuent les auteurs cités.

Tout comme ces protéines, les acides aminés libres présentent des modifications métaboliques. On a isolé des œufs témoins 17 acides aminés (méthode d'Awapara, évaluation pour cent d'après la méthode de Block [1]). Les premières 2—4 heures après la fécondation, la proline, l'oxyproline et la méthionine disparaissent complètement et l'arginine est utilisée en proportion de 80%, alors que les autres acides aminés sont utilisés dans des proportions variables.

Brachet et Needham [5] ont constaté le second jour après la fécondation de l'œuf de poule une activité intense de l'arginase.

Plus tard, au bout de 16 jours d'incubation, les acides aminés des œufs de *Salmo trutta* sont presque au même niveau que ceux du témoin. Il faut aussi souligner que la réapparition de la méthionine et de la proline est nettement visible (Pl. II, 7 *a*, *b*, *c*). Cependant, la protéine soluble présente déjà une fraction nouvelle dont le taux monte à 39,10% et qui réagit avec les phospholipides, dont la proportion à 81,10% est également augmentée (Pl. II, 8). La protéine du type acto-myosinique forme également des complexes avec les phospholipides, mais la quantité fixée est plus petite par rapport à la quantité fixée sur la protéine soluble.

Les complexes glycoprotéiques augmentent, le glucide étant couplé avec toutes les fractions des protéines solubles et contractiles.

Les substances caroténoïdes* manifestent également un métabolisme assez intense. Les œufs non fécondés présentent des caroténoïdes sous forme de cétones de 0,027 mg% (astaxanthine, cantaxanthine et une cétone avec un Rf intermédiaire dont la nature n'a pas pu être déterminée en raison de sa quantité très réduite) et de xantophiles en quantité de 0,068 mg% (zéaxanthine, croustaxanthine). Immédiatement après la fécondation, les cétones présentaient seulement 0,016 mg% et les xantophiles 0,046 mg%. Donc, dans tous les changements moléculaires et structuraux qui découlent de la fécondation, les substances caroténoïdes sont aussi impliquées.

Après avoir recherché le sort de ces caroténoïdes le 10^e, le 34^e, le 42^e, le 48^e et le 59^e jour d'incubation, nous avons constaté, le 10^e jour, l'apparition d'un nouveau pigment de 0,081 mg% à comportement épiphase et à un maximum d'absorption de 444 μ m en hexane. Sa structure chimique n'a pas été déterminée, car sa concentration extrêmement faible rendait sa purification impossible.

L'apparition de ce nouveau pigment de 0,081 mg% le 10^e jour d'incubation nous a fait supposer que sa synthèse commence probablement beaucoup plus tôt. Nous n'avons pas eu la possibilité de connaître la date précise de son apparition, faute d'un matériel à période d'incubation plus courte.

Ce nouveau pigment commence à diminuer graduellement et le 42^e jour après la fécondation il présente une valeur de 0,028 mg% qui demeure presque la même au 59^e jour.

Toute la période que nous avons étudiée se caractérise non seulement par l'existence du nouveau pigment, mais encore par la présence de l'astaxanthine, de la zéaxanthine et de la cryptoxanthine et probablement aussi, le 59^e jour, de l'aphanicyne.

Il est à remarquer pourtant que le pigment non encore déterminé par nous apparaît dans une grande concentration à un moment de faible respiration, tandis que sa concentration la plus faible correspond à une nécessité un peu plus grande d'oxygène.

Certains travaux mentionnent des substances caroténoïdes qui, ingérées par les animaux avec la nourriture, subissent des transformations métaboliques et apparaissent dans les tissus sous d'autres formes que celles sous lesquelles elles se trouvaient dans la nourriture [14], [15], [28], [29].

Ainsi donc, dans le cas des œufs de *Salmo trutta*, nous constatons le même fait, c'est-à-dire leur capacité de changer une forme de caroténoïde dans une autre.

Selon les travaux de C. Bodea et ses collaborateurs [3], [4], il résulte que les caroténoïdes en contact avec l'oxygène moléculaire s'autoxydent et deviennent donateurs d'oxygène atomique. Les caroténoïdes en contact avec les hydroperoxydes ou peracides peuvent capter les atomes d'oxygène peroxydique et les transformer en époxydes de carotène; l'oxygène atomique libéré par les groupes hydroperoxydiques de la sub-

* A cette occasion aussi nous remercions M. le professeur C. Bodea et M^{me} Hélène Nicoră pour l'aide prêtée dans la détermination de la nature de quelques caroténoïdes des œufs de *Salmo trutta fario*.

stance caroténoïde oxydée peut agir sur d'autres substances oxydables.

A la lumière de ces faits, la consommation d'une quantité de substance caroténoïde après la fécondation nous paraît véridique. Les molécules caroténoïdes oxydées qui existent dans l'ovule mûr sont probablement utilisées dans le processus de fécondation et à mesure que le zygote absorbe l'oxygène, celui-ci se fixe sur une certaine forme de caroténoïde donnant le nouveau pigment que nous avons trouvé dans une grande quantité le 10^e jour d'incubation.

Certainement, il faudra poursuivre quotidiennement l'évolution de ce pigment en même temps que sa nature chimique.

Nous estimons donc que ces molécules caroténoïdes auraient le rôle de capter l'oxygène moléculaire et de le transférer sous forme atomique active à d'autres molécules oxydables qui surgissent au cours du processus métabolique de la fécondation.

On sait que les pigments caroténoïdes ne participent pas aux processus dirigés par les systèmes oxydo-réducteurs cytochromiques. Cette observation a été confirmée par Smith et Ramirez [23] qui ont mesuré la vitesse des variations du spectre d'absorption des cytochromes et des caroténoïdes après l'éclairage des suspensions anaérobies des bactéries photosynthétiques. Les mêmes auteurs ont remarqué que la vitesse de réaction des caroténoïdes est plus grande que celle des cytochromes.

Par conséquent, si les ovules mûrs de *Salmo trutta* non fécondés ont un système cytochromique qui suffit à leur besoin respiratoire, par contre, après leur fécondation, lorsque le métabolisme du zygote devient plus intense et plus rapide, le système oxydo-réducteur n'y suffit plus. Il n'est pas exclu qu'à ce moment un second système oxydo-réducteur, le système caroténoïde, fasse son apparition d'une façon parallèle.

Il va sans dire que notre hypothèse doit être corroborée par de nouvelles données scientifiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. BLOCK R., DURRUM E., ZWEIG G., *A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis*, Academic Press, Inc., New York, 1958.
2. BLOCK R., *Biol. Bull.*, 1962, 123, 58.
3. BODEA C., FLORESCU M., DRUYAN V., *St. cerc. biochim.*, 1958, 1, 2, 109.
4. BODEA C., GROSS I., *St. cerc. biochim.*, 1957, 1-2, 143.
5. BRACHET J., NEEDHAM J., cité d'après Das Ei, dans N. TOMITA, *Physiologische Chemie II. Der Stoffwechsel*. Springer Verlag, 1959.
6. BRAND L., MAHLER H., *J. Biol. Chem.*, 1959, 243, 1615.
7. ДЕЙЧ Х., ГУСТАФСОН Т., *Архив. Кемии*, 1952, 4, 221.
8. GOODWIN T., *Biochem. J.*, 1949, 45, 472.
9. GOODWIN T., SRISUKH S., *Biochem. J.*, 1949, 45, 263.
10. — *Brit. J. Nutrit.*, 1950, 4.
11. GOODWIN T., *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, Academic Press, London, 1965.
12. HARTMANN M., MEDEM F., KÜHN R., RIELIG H., *Z. Naturforsch.*, 1947, 2, 330.
13. КЛИМОВ, АСАПИАНИ С. В., *Биохим. фотометрия*, Издат. Акад. наук, СССР, Moscou, 1957.
14. LENEL R., *C. R. Acad. Sci. Fr.*, 1965, 261, 4, 1119.
15. — *C. R. Acad. Sci. Fr.*, 1965, 260, 12, 3483.
16. MARTON R., ROSEN G., *Biochem. J.*, 1948, 23.
17. MESROBEANU L., PAPAŞIAN E., MITRĂCĂ N., *Arch. roum. path. expér. microbiol.*, 1957, 16, 387.

18. ONISHI T., KAWAMURA H., J. physic. Soc. jap., 1963, **18**, 1559.
19. OYA H., COSTELLO L., SMITH W., J. cell. comp. physiol., 1963, **62**.
20. ПИГАРЕВА З., ЧЕТВЕРИКОВ Д., Доклады Акад. наук, 1951, **78**.
21. RAPORPORT S., HOFFMANN E., GHIRETTI-MAGALDI A., Experientia, 1958, **14**, 5, 169.
22. RUNNSTRÖM J., Publ. Staz. Zool., Napoli, 1956, **28**, 315.
23. SMITH L., RAMIREZ J., J. Biol. Chem., 1964, **235**, 219.
24. SOIN I. G., Zoolog. J., 1956, **35**, 9, 1362.
25. STEVEN D., J. Exp. Biol., 1949, **26**, 245.
26. — J. Exp. Biol., 1948, **25**, 369.
27. STOTZ E., J. Biol. Chem., 1938, **124**, 745.
28. THOMMEN H., Chimia, 1961, **15**, 433.
29. WISS O., THOMMEN H., *Carotine und Carolinoide*. Wissenschaftl. Veröffentl. Deutsch. Gesell. Ernähr., 1963, B, 9.
30. YAMAMOTO T., Intern. Rev. Cytol., USA, 1961, **12**, 361.

Université « Al. I. Cuza », Jassy
Chaire de Physiologie animale

Reçu le 27 octobre 1957

STUDIES ON THE THYMOLYTIC ACTIVITY OF PREGN-5-ENE-20-ONES

BY

A. D. ABRAHAM, E. A. PORA, NINA ŞILDAN-RUSU
and F. HODOŞAN

Studying the effect of different pregn-5-ene-20-ones on the thymus, spleen and adrenals, the authors obtained significant modifications in the nucleoprotein metabolism, as well as in the relative weight of these glands.

Some substituents having β -orientation such as OH or Cl, determined a strong thymolytic activity. The absence of these groups or the presence of a double bond decreases the activity of the steroids. The influence of side chains is essential.

Recent investigations have been aimed at elucidating the correlations between the chemical structure of the steroid hormones and their metabolic action on the lymphatic organs.

Some interrelations could be found between the chemical properties and the thymolytic action of these steroids; thus it is known that all 4-ene-3-ketosteroids have a significant thymolytic activity and the strongest effect is shown by 11β -hydroxy-corticosteroids [1], [3], [6], [9]. It must be mentioned that other substances, such as 4-ene-3-ketosteroids, showed marked thymolytic effect, e.g. pregn-5-ene- 3β -ol-20-one [6].

In the experiments here reported we have studied *in vivo* the thymolytic action of some pregn-5-ene-20-one derivatives of white female rats.

METHODS

White female rats weighing 100 ± 10 g were treated with 1mM steroids for 1 kg body weight, during 3 days. The administered steroids were the following:

- I. Pregn-5-ene- 3β -ol-20-one (C.I.R.A*)
- II. Pregna-3, 5-diene-20-one (C.I.R.A.)
- III. Pregna-5,16-diene- 3β -ol-20-one (FLUKA)

IV. 3 β Chloro-pregn-5-ene-20-one (C.I.R.A.)

V. 3 β -Chloro-pregn-5-ene-17 α -ol-20-one (C.I.R.A.)

VI. 24 α -Methyl-3 β -hydroxy-chol-5-ene (C.I.R.A.)

VII. Cholesterol (MERCK)

The concentration of the nucleic acids was estimated by Spirin's procedure [8] and that of proteins by the modified method of Robinson and Hogben [7], using a Zeiss V.S.U.-1 type spectrophotometer.

(*C.I.R.A = Chemical Institute of the Romanian Academy Cluj).

RESULTS

Pregna-5-ene-3 β -ol-20-one caused evident thymus involution, as shown by the diminution of the relative weight of this organ and of the nucleic acid concentration (Table 1). This steroid is a corticosteroid precursor, and it may be involved in the adrenal steroid biosynthesis after *in vivo* administration. This supposes an indirect action on the thymus gland. Studying the modification of the adrenal weight, significant differences against controls could be observed. The adrenal relative weight decreased by 32%. No significant modifications were found in the relative weight of the spleen and in the protein or nucleic acid concentration of these organs.

Pregna-3,5-diene-20-one acts quite contrary to the pregn-5-ene-3 β -ol-20-one. The relative weight of the thymus gland has considerably increased, but at the same time the thymus hypertrophy was associated with a decrease of the nucleic acid and protein concentration. Similar changes were found in the spleen. Concomitantly a diminution of the adrenal relative weight was observed. The hypertrophy of the lymphatic organs is due probably to the adrenal atrophy caused by administration of this steroid.

Pregna-5, 16-diene-3 β -ol-20-one had a stronger effect than pregn-5-ene-3 β -ol-20-one. There could be observed a diminution of the relative organ weight and concentration of the nucleic acids and proteins after the administration of this steroid. The same modifications were found in the spleen, but for the slight increase of the nucleic acid concentration. In this case, the weight of adrenals decreased by 10%. These data showed that the introduction of a new double bond in the C₁₆₋₁₇ position increased the thymolytic activity.

Chloro-derivatives of the pregn-5-ene-20-one, such as 3 β -chloro-pregn-5-ene-20-one and 3 β -chloro-pregn-5-ene-17 α -ol-20-one, had a thymolytic activity as strong as 11 β -hydroxy-corticosteroids. Thus, both steroids caused significant decreases in all the used tests. The spleen response was different from that of the thymus after treatment with these substances. 3 β -Chloro-pregn-5-ene-20-one produced an increase in the relative organ weight, but the nucleic acid concentration was decreased. 3 β -Chloro-pregn-5-ene-17 α -ol-20-one caused similar changes. The relative weight of adrenals did not modify after the administration of this steroid.

Kincl and Bowers [2] showed that these 3 β -chlorosteroids are stronger progestogens than progesterone. We found a direct proportional

Table 1

Steroid	Thymus						Spleen								
	RW mg/g		AN mg/g		P mg/g		RW mg/g		AN mg/g		P mg/g				
	M	SE	M	SE	M	SE	M	SE	M	SE	M	SE			
O. Control (solvent oil)	1.63	±0.09	—	22.496	±0.885	135.1	±10.2	—	4.68	±0.57	—	13.995	±1.119	169.9	±13.6
I. Pregnenolone	1.09	±0.09	×	18.227	±0.634	133.4	±6.7	—	4.72	±0.13	—	13.050	±0.556	157.1	±14.7
II. Pregnadienone	2.10	±0.18	×	18.786	±0.850	104.5	±3.5	×	7.22	±0.83	×	13.073	±1.010	196.9	±19.8
III. Pregnadienolone	0.96	±0.07	×	18.112	±1.332	120.8	±10.3	—	4.23	±0.14	—	15.825	±1.378	139.3	±10.1
IV. Chloropregnenone	0.84	±0.17	×	13.672	±0.842	84.3	±3.7	×	6.16	±0.60	—	10.941	±0.991	137.0	±12.1
V. Chloropregnenolone	0.68	±0.05	×	14.486	±1.430	107.9	±11.8	—	4.68	±0.34	—	9.986	±0.889	136.4	±9.6
VI. Methylhydroxycholene	0.97	±0.10	×	16.321	±1.125	149.0	±14.3	—	5.87	±0.87	—	11.209	±0.980	132.1	±11.2
VII. Cholesterol	1.88	±0.17	—	22.745	±1.271	115.5	±5.2	×	7.03	±1.20	—	14.363	±2.832	120.2	±9.4
O'. Control (solvent oil)	1.58	±0.10	—	21.892	±0.975	132.2	±4.6	—	4.88	±0.87	—	15.865	±1.418	150.9	±15.0

RW = relative weight; AN = nucleic acids; P = proteins; M = media; SE = standard error; p = student p... × = p < 0.05; × × = p < 0.01; × × × = p < 0.001.

thymolytic action in the case of the progesterone in accordance with the administered doses [5].

Studying the influence of the side chain in C₁₇ position we have found that cholesterol has no thymolytic effect, but the 24 α -methyl-3 β -hydroxy-chol-5-ene caused significant decreases of the relative thymus weight and nucleic acid concentration. From these data it can be assumed that some unessential modification in the side chain at C₁₇ can induce significant changes in the biological activity. Their effect upon the adrenal glands is not associated with weight modifications.

DISCUSSION

Our results show that the thymus, spleen and adrenals react in a special way to steroid administration. The metabolism of the nucleic acids and proteins suffers some modifications. In the thymus a displacement of these processes towards the catabolic phenomena could be observed.

The mechanism of action of the progesterone is even less known, its thymolytic effect being manifest only when it is administered in high doses [1], [4]. Dorfman and Dorfman [1] suppose that testosterone and progesterone act through the inhibition of the oxidative metabolism in the thymus gland. From our earlier data, as well as from literature, one can see that thymolytic action of the steroid hormones containing 4-ene-3-ketone system increases with the number of the hydroxyl and ketone groups present in the molecule [9].

Studying the thymolytic effect of some steroids, derivatives of pregn-5-ene-20-ones, we have obtained significant modifications in the metabolism of thymus and spleen. This effect depends on the structure of these steroids. Some substituents in C₃ position having β orientation, such as OH or Cl determine a strong thymolytic action. The absence of these groups or the existence of a double bond decreases the activity of the steroids. The thymolytic action of such steroids may be explained by their activation in the adrenal glands, as they can be converted into more active substances e.g. in corticoid hormone derivatives. The possibility of the transformation of 3 β -chlorosteroids studied in these experiments in adrenal glands is very slight, consequently their direct action upon the lymphatic tissue can be assumed.

The influence of the side chain is essential and our results have shown that the modified cholesterol molecule (24 α -methyl-3 β -hydroxy-chol-5-ene), caused significant changes in the nucleoprotein metabolism of the thymus and spleen, while cholesterol had no influence on it.

REFERENCES

1. DORFMAN R. I., DORFMAN A.S., *Endocrinology*, 1961, **69**, 283.
2. KINCL F. A., BOWERS A., II. Intern. Symp. Chem. Nat. Prod. Prague. Publ. House of the Czech. Acad. Sci., 1962.
3. PORA E. A., TOMA V., OROS I., ABRAHAM A., *Rev. Biol.*, **7**, 1962, 129.

4. PORA E. A., ABRAHAM A., TOMA V., *J. Physiol.*, 1963, **2**, 320.
5. PORA E. A., ABRAHAM A., TOMA V., ŞILDAN N., *Comun. Acad. R.P.R.*, 1963, **11**, 977.
6. PORA E. A., ABRAHAM A., ŞILDAN N., *Rev. Roum. Biochim.*, 1964, **2**, 123.
7. ROBINSON H.W., HOGGEN C. G., *J. Biol. Chem.*, 1940, **135**, 707, 727; cited by Korpáczy I., *Kisérl. orvostud.*, 1943, **1**, 28.
8. СПИРИН А. С., *Биохимия*, 1958, **32**, 656.
9. STEPHENSON N. R., *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 1956, **34**, 253.
10. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1960, **12**, 411.

*Biological Research Centre
Cluj Department of Animal Physiology*

Received November 27, 1967

ALTERATIONS OF THE CARBOHYDRATE
METABOLISM IN TROUT, INDUCED
BY EFFORT AND HYPOXIA

BY

C. WITTENBERGER

(with the technical assistance of Șt. Ilyés)

On a déterminé le contenu en glycogène, acide pyruvique et acide lactique des muscles latéraux (blanc et rouge) et du foie de la truite et les effets de l'effort et de l'hypoxie. Les tissus de la truite sont pauvres en glycogène et riches en pyruvate, en comparaison avec d'autres espèces. L'hypoxie augmente le glycogène du foie et du muscle rouge et provoque — tout comme l'effort modéré — un état d'anaérobiose prononcée dans le muscle blanc. Le métabolisme d'effort et de restitution ne peut être compris, si on ne prend pas en considération les particularités du muscle rouge. On constate des phénomènes de « retardement » et d'« inertie » métabolique. Les phénomènes observés peuvent expliquer le caractère sténoxique de la truite.

In previous papers, some aspects of the effort metabolism of the liver and muscle tissues were investigated in several fish species: carp, horse mackerel, goby [10], [13]—[15]. The two components of the lateral musculature — the white muscle and the red one — were considered separately. The results led to assume and further develop Braekkan's hypothesis [4] on the peculiar metabolic function of the red muscle [16]. On the other hand, marked differences have been revealed in the metabolic behaviour by effort, between the species investigated; it seems that the differences are related especially to the mode of life of each species.

I undertook a similar study on trout, as a fresh-water fish having an ecology quite different from that of the carp. The effort metabolism of salmonids was much studied, especially by the Canadian school (see literature by [3] and [5]).

MATERIAL AND METHODS

The experiments were performed on the mountain-trout *Salmo trutta labrax* morpho *fario*. The fishes were caught with the line and put immediately into experiments in the following variants:

- normal fishes, killed immediately after taking them out of the river;
- fishes submitted to an *effort in water*, by an uninterrupted chasing in 5 l water, during 5 min;
- fishes submitted to an *effort in air*: allowed to struggle on the ground, during 3 min;
- fishes allowed to *rest 30 min after the effort in water* (during the rest period, the fishes were kept in 10 l water);
- idem, *60 min rest*;
- idem, *30 min rest after the effort in air*;
- fishes held *in air* during 3 min, without struggling (wrapped in a cloth);
- fishes held *60 min in hypoxia* (in 10 l water), without any previous effort.

Immediately after decapitation, pieces of the lateral musculature and of the liver were rapidly introduced in a Dewar flask at -70°C ; they were held there until the analyses were performed. The content of glycogen [8], pyruvic acid [11] and lactic acid [1] of white and red lateral muscles and of liver was determined. The experiments were carried out during the summers of 1965 and 1966 at Gura Zlata (Retezat Mountains), the samples being transported to Cluj, where the analyses were performed. 75 fishes were used.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the values obtained for the tissues of the normal trout; they are different from those obtained in other investigated species [13], [15]. The glycogen content of the liver in the trout is about 50 times as low as in the carp, 4.5 times as low as in the goby and 3 times

Table 1

Glycogen, pyruvate and lactate content, and lactate/pyruvate ratio in the tissues of normal trout
W = white muscle, R = red muscle, L = liver. Values are means, \pm standard errors; in brackets, number of individuals (after the elimination of statistically aberrant results).

	Glycogen mg/g	Pyruvate $\mu\text{g/g}$	Lactate $\mu\text{g/g}$	Lactate Pyruvate
W	0.78 ± 0.14 (11)	88 ± 11 (12)	1225 ± 220 (10)	13.9
R	1.89 ± 0.23 (9)	205 ± 25 (11)	588 ± 88 (10)	2.9
L	3.09 ± 0.42 (8)	148 ± 15 (10)	422 ± 99 (9)	2.8

as low as in the horse mackerel; that of the red muscle is about 10 times as low as in the carp and 2.7 times as low as in the horse mackerel. The lactate content of the tissues is rather similar to that found in carps and horse mackerels. Much different is the pyruvate content: in the liver and in the red muscle, its values are 10–25 times as high as those found in the carp and horse mackerel. Hence, the lactate/pyruvate ratio (which in carp and horse mackerel tissues ranges between 25 and 190) has very

low values in trout tissues: 14 for the white muscle, 2.8 for the red one and the liver. This is an indication of much more active oxidative processes in the tissues of the trout, as compared with the other two species cited.

On the other hand, differences are also evident against other salmonid species, investigated by Black and co-workers [2], [3], [5]: a lower value of the liver glycogen and a much higher value of the muscle pyruvate in *Salmo trutta*. But we must bear in mind also the fact that even in the same species very great variations can be found [2], [3].

Table 2 records modifications induced by effort, hypoxia and rest. The values for glycogen, pyruvate and lactate are expressed as percentage differences against the corresponding control values. The "excess lactate" [7] is also given (in absolute units $\mu\text{g/g}$). The fishes let to rest for 30 min (after effort in water) were not included in the Table, because the changes were of the same direction and approximately of the same value as in the fishes let to rest for 60 min.

Figure 1 shows the statistically significant modifications, expressed as in the Table. As far as the rest after effort is concerned, the differences against the hypoxic variant were taken into consideration.

The 5 minutes of forced swimming of the trout represent a moderate effort: no fish died after the effort, as it happens in salmonids sub-

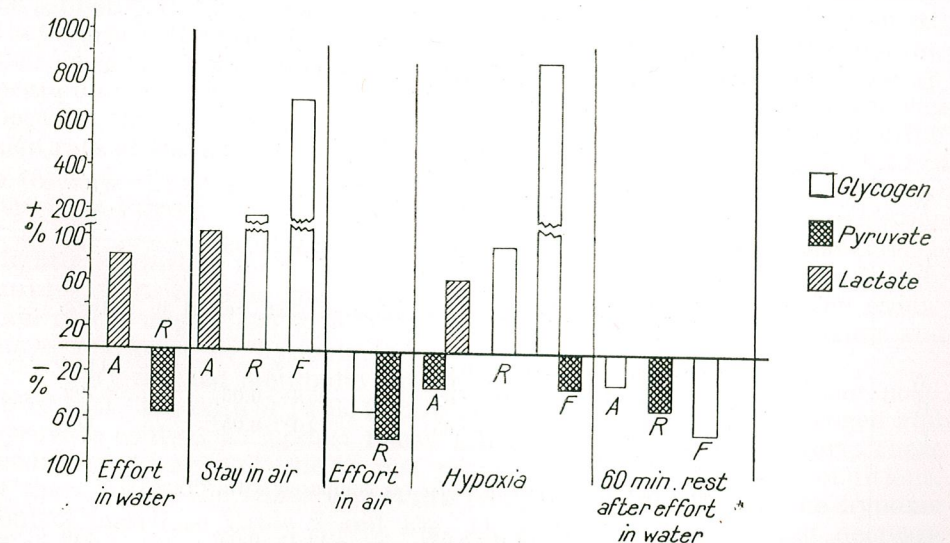


Fig. 1. — Statistically significant modifications induced by effort, stay in air, hypoxia and post-effort rest, in glycogen (white columns), pyruvate (dotted columns) and lactate (hatched columns) content of the white muscle (W), of the red muscle (R) and of the liver (L). Percentage values, as compared with the corresponding control ones.

jected to severe fatigue [9]. However, some metabolic modifications are observed: the lactate content of the white muscle rises and the pyruvate content of the red muscle decreases. Hence, a great lactate excess appears in both muscles.

Table 2

Modifications induced by effort, stay in air, hypoxia and post-effort rest
 W = white muscle, R = red muscle, L = liver, N = normal fishes. Percentage values, except the excess lactate.

	Glycogen	Pyruvate	Lactate	Excess lactate
<i>Effort in water (as compared with N)</i>				
W	+19/P>0.05/	+11/P>0.05/	+82/P<0.05/	862
R	+37/P>0.05/	-57/P<0.01/	+64/P>0.05/	712
L	-2/P>0.05/	-8/P>0.05/	+12/P>0.05/	85
<i>Stay in air (as compared with N)</i>				
W	+23/P>0.05/	-8/P>0.05/	+114/P<0.01/	1471
R	+168/P<0.01/	+35/P>0.05/	+42/P>0.05/	39
L	+700/P<0.01/	-26/P>0.05/	-58/P>0.05/	-132
<i>Effort in air (as compared with "stay in air")</i>				
W	-32/P>0.05/	-10/P>0.05/	-16/P>0.05/	-166
R	-53/P=0.01/	-77/P<0.01/	+7/P>0.05/	713
L	-17/P>0.05/	-12/P>0.05/	+117/P>0.05/	230
<i>Hypoxia (as compared with N)</i>				
W	+10/P>0.05/	-34/P≅0.05/	+63/P<0.02/	1195
R	+94/P<0.01/	+33/P>0.05/	-	-191
L	+870/P<0.01/	-33/P<0.05/	-17/P>0.05/	70
<i>60 min rest after effort in water (as compared with "effort in water")</i>				
W	-33/P>0.05/	-50/P<0.01/	-	1118
R	+10/P>0.05/	+57/P<0.02/	-25/P>0.05/	-792
L	+199/P<0.01/	-13/P>0.05/	+12/P>0.05/	114
<i>60 min rest after effort in water (as compared with "hypoxia")</i>				
W	-28/P<0.05/	-16/P>0.05/	+11/P>0.05/	540
R	-22/P>0.05/	-49/P≅0.05/	+23/P>0.05/	425
L	-69/P<0.01/	+20/P>0.05/	+50/P>0.05/	105
<i>30 min rest after effort in air (as compared with "effort in air")</i>				
W	+63/P>0.05/	-49/P<0.01/	+10/P>0.05/	1301
R	-19/P>0.05/	+28/P>0.05/	-38/P≅0.05/	-588
L	-66/P<0.02/	-43/P>0.05/	+37/P>0.05/	308

The hypoxia (1 hour in 10 l water) induces very marked metabolic shifts. The glycogen content of the red muscle almost doubles, that of the liver becomes about 9 times higher. Though the variability of individual results is very pronounced — as reported for the salmonids' liver also by [5] — the observed increases are statistically significant. The existence of a gluconeogenesis must be supposed by us as it was by Connor [5] in the case of a prolonged moderate effort. There are literature data on the intensification of the gluconeogenesis in hypoxia because of amino acids [12], and on the decrease of the ability of phosphorolysis of liver glycogen in lower vertebrates [6]. But gluconeogenesis due to the great amount of lactic acid in the white muscle is also possible.

In these hypoxic conditions, in the red muscle and in the liver there occurs no excess lactate (in the red muscle there is even a negative value). This seems to indicate an intensification of the oxidations. I have described a similar situation in *Trachurus* [15], in which the hypoxia induces a more marked anaerobiosis in the white muscle than in the red one, and the effort leads to a clear-cut intensification of the oxidations, especially in the red muscle. We have to do here probably with overcompensation phenomena (perhaps through the activation of some reserve metabolic pathways), leading to a better oxidative balance, in spite of the poor oxygenation.

A clear-cut difference arises here, as compared with the carp [13]. In the carp, both the hypoxia and the moderate effort induce an excess lactate only in the red muscle and in the liver, while in the white muscle they do not. If we admit the mentioned hypothesis [16] on the metabolic role of the red muscle, we must assume that the surplus of lactate appears only in the white muscle. It results that the mentioned difference between the trout and the carp might be explained by a different diffusion rate of the lactate. A greater diffusion rate in the carp might lead to a rapid disappearance of the catabolite from the white muscle, where it has been formed, so that it is found in those tissues where its oxidation will take place. On the contrary, in the trout and horse mackerel, a slighter diffusion rate might explain the prolonged stay of the lactate surplus on its forming place. This slight diffusion rate towards the oxidation places might also explain the very poor resistivity of the trout and horse mackerel to hypoxia.

Very marked metabolic modifications take place during the post-effort rest. The data of Table 2 show great differences in the glycogen and pyruvate content as against fishes killed immediately after effort. These modifications are not due to rest proper, but to the hypoxic conditions. If the values of the fishes at rest are compared with those of the hypoxic control ones (see Table 2 and Fig. 1), a slight but significant decrease of the glycogen content of the white muscle is recorded. This shows a retarded glycolysis (during the effort, the glycogen content did not decrease) and a very slow recovering of the muscle glycogen stock, a fact that has been already described [5]. This retardation and prolongation of a metabolic state that was initiated by the effort*, may be considered as a phenomenon of "metabolic inertia", manifestation of the imperfect

* Perhaps even its accentuation: by the variant with a 30 min rest, the decrease of the glycogen content is not significant.

metabolic adjustment in these lower Vertebrates. A similar case has been stated also for the isolated frog muscle [17].

During the rest, the amount of the liver glycogen increases, as a result of the hypoxic state, but this increase is much smaller than in hypoxic control fishes (in comparison with the latter, the glycogen content of the liver decreases, see Fig. 1). In other words, hypoxia induces a slighter increase of the liver glycogen in fishes that have been previously submitted to an effort. This decrease of glycogen content of liver in the post-effort period was pointed out also by Black and co-workers [2]. This may be interpreted also as a prolongation of the recovery processes.

The level of the pyruvate in the red muscle after 1 hour rest is significantly lower than in hypoxic control fishes pointing out that the oxygen debt has not yet been paid. The presence of an excess lactate in both muscle tissues shows the same thing.

A 3 min stay of the fishes in air, without struggling, led to a great increase of the glycogen amount in the red muscle and in the liver. At the same time, the lactate of the white muscle increased very much, resulting in the greatest amount of excess lactate found in my experiments. These modifications resemble those induced by hypoxia in water.

In the effort performed by struggling in air, only the red muscle seems to be affected. Its glycogen and pyruvate content falls down, and a rather great amount of excess lactate appears. In the white muscle there is no increase of the lactate amount. Thus, it seems that, in these extremely stressing conditions, the substance transport from a tissue to the other is also different from what takes place in the case of a moderate effort in water.

In the case of a 30 min rest after an effort performed in air, the lactate amount of the red muscle is significantly lowered, reaching the value found in normal fishes. This shows that the nature and the degree of effort have importance in determining the course of the recovery phenomena (as stated also by Black and co-workers [3]).

CONCLUSIONS

1. In the trout, both hypoxia and the moderate effort induce marked anaerobic conditions in the white muscle. This phenomenon seems to be specific for fishes adapted to media very rich in oxygen; it may be one of the reasons of their stenoxic character.

2. Hypoxia leads to a great increase of the glycogen content of the red muscle and of the liver.

3. The effort and recovery metabolism of trout muscles show retardation and "inertia" phenomena, indicating a primitive character of the regulating mechanisms.

4. The exposure in air induces in the trout metabolic disturbances similar to those induced by hypoxia in a limited amount of water.

5. To understand the effort metabolism of fishes, the biochemical investigation of the lateral musculature as a whole is insufficient. One must take into account the functional peculiarities of the red muscle, which are very different from those of the white one.

REFERENCES

1. BARKER S. B., SUMMERSON W. H., *J. Biol. Chem.*, 1941, **138**, 2, 535-554.
2. BLACK E. C., ROBERTSON A. C., HANSLIP A. R., CHIU WING-GAY, *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 1960, **17**, 4, 487-500.
3. BLACK E. C., CONNOR A. R., LAM KWOK-CHEUNG, CHIU WING-GAY, *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 1962, **19**, 3, 409-436.
4. BRAEKKAN O. R., *Nature (Lond.)*, 1956, **178**, 747-748.
5. CONNOR A. R., ELLING G. H., BLACK E. C., COLLINS G. B., GAULEY J. R., TREVOR-SMITH E., *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 1964, **21**, 2, 255-290.
6. CORDIER D., DUVEAU A., BRANDON A. M., *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1957, **151**, 8-9, 1524-1528.
7. HUCKABEE W. E., *J. Clin. Invest.*, 1958, **37**, 2, 255-263.
8. MONTGOMERY R., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1957, **67**, 2, 378-386.
9. PARKER R. R., BLACK E. C., LARKIN P. A., *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 1959, **16**, 4, 429-448.
10. PORĂ E. A., WITTENBERGER C., DIACIUC I. V., TOMA V., *St. cerc. biol. (Cluj)*, 1962, **13**, 2, 355-363.
11. RINDI G., FERRARI G., *Experientia*, 1956, **12**, 10, 398.
12. SCHÄFER G., WEINER K. H., *Internat. Z. angew. Physiol.*, 1964, **20**, 3, 195-201.
13. WITTENBERGER C., DIACIUC I. V., *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 1965, **22**, 6, 1397-1406.
14. WITTENBERGER C., VITCĂ E., *Studia Univ. Babeş-Bolyai (Cluj)*, ser. Biol., 1966, **2**, 117-123.
15. WITTENBERGER C., *Marine Biology*, 1967, **1**, 2 (in press).
16. WITTENBERGER C., *Rev. Roum. Biol. - Zool.*, 1967, **12**, 2, 139-144.
17. WITTENBERGER C., POPEA J., *National Conf. Physiol.*, Bucharest, 1967.

Received July 13, 1967

Research Centre for Biology, Cluj

THE HOMEOSTASIS AND RHYTHMS OF THE
ENERGETIC METABOLISM, BODY TEMPERATURE
AND MOTOR ACTIVITY IN HAMSTER
(*CRICETUS CRICETUS* L.)

BY
NICULINA VIȘINESCU

The author shows that the evolution of the nycthemeral, metabolic rhythm, motor activity and body temperature in the hamster is similar to that of homeotherms in general.

In setting off the hibernation process, which, in the climatic conditions of our country, has a facultative character, temperature and nutrition have an important role. In consequence, the hamster does not possess a perfect homeostasis of the studied functions.

Numerous research works showed that physiological activities do not occur uniformly but with different periodicities, among which the nycthemeral ones are more evident [1], [3], [4], [6], [7], [13], [16]. From this point of view, most micromammals are characterized by clear-cut differences between diurnal and nocturnal activities.

The hamster behaves like an animal of the nocturnal type and besides, it is heterothermal in natural conditions, usually passing into a state of hibernation.

It may be assumed that in the hamster there is no real homeostasis of the fundamental functions, such as: general metabolic activity, thermogenesis, and spontaneous motor activity. We have studied these functions in constant temperature and nutrition conditions and we record our findings in the present work.

MATERIAL AND METHOD

The experiments were effected on 12 adult specimens captured in the Bucharest region and kept in laboratory conditions in the period 1 July 1965—30 February 1967. The basal energetic metabolism was estimated by monthly measurement (June, July, September, October,

December, January) of the modifications of respiratory gases, with a thermostat installation, and the motor activity was assayed by means of an actograph. For rectal temperature recording we used an electric thermocouple.

All the experiments were carried out at the temperature of $+23^{\circ}\text{C}$, at which the animals were generally kept.

RESULTS OBTAINED

Nycthemeral variations

The evolution of the nycthemeral energetic metabolism is presented in the graph of figure 1.

Analysing these results it is ascertained that though the hamster is sleeping most of the time (laboratory conditions), the energetic metabolism presents, in the studied months, nycthemeral variations. Reckoned by day and night periods, the metabolic level is obviously high in the evening (4–8 p.m.) and much lower by day (6 a.m.—2 p.m.).

The curve expressing the nycthemeral evolution of values likewise shows a relative decrease in metabolism (below the average nycthemeral value) also during the night, between 12 p.m. and 4 a.m., as well as an increase (above the average value) in this process by day-time, between 5.30 and 8 a.m.

In the mentioned intervals, the level of metabolism is nevertheless below the minimum and maximum characterizing the curve.

The average amplitude of metabolism fluctuation corresponds to an increase of 19.9% as against the minimum value.

It is likewise interesting to mention that in two individuals from the experimental lot, very small metabolic variations between day and night were observed during the entire period under study.

SEASONAL VARIATIONS

The analysis of average monthly values of metabolism shows a marked increase in the metabolic level in summer (6.7 cal/kg/hr) a gradual decrease in autumn, and a minimum in the winter months (December-January — 5.23 cal/kg/hr). Greater metabolic differences between day and night were recorded in autumn and summer, and the smallest in winter (Fig. 1). These results point to the existence of certain metabolic variations depending on season.

Rectal temperature (Fig. 1). The differences ascertained in the nycthemeral period are of $2.5-3^{\circ}\text{C}$. Higher values were recorded between 8 p.m. and 4.30 a.m. which means that the maximum temperature occurs during night hours. In winter months a lowering in rectal temperature is ascertained, while nycthemeral variations are small.

In hamster *the motor activity* presents an alternation of rest and activity phases (Fig. 2). In the day-time rest periods are much longer than

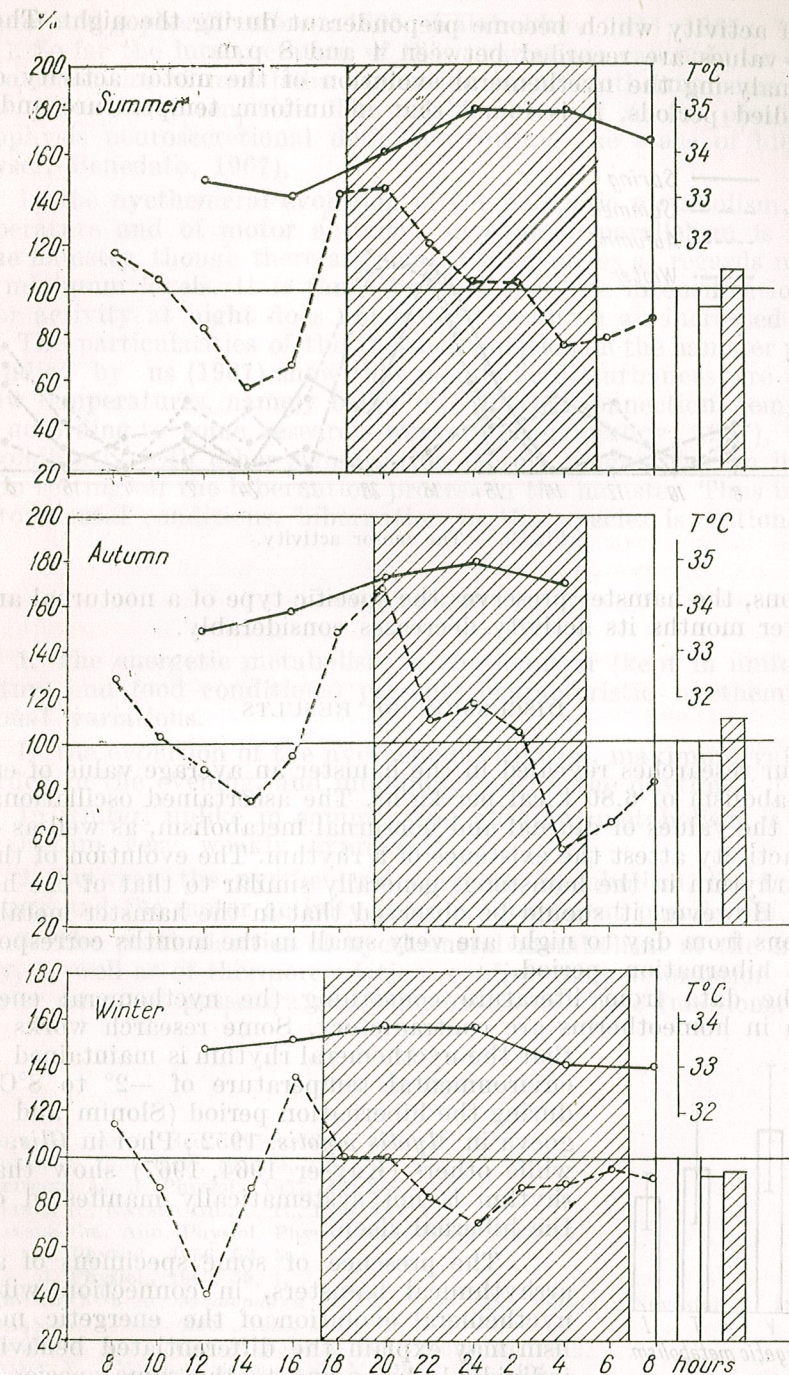


Fig. 1. — Nycthemeral evolution of the energetic metabolism and rectal temperature in hamster.

those of activity which become preponderant during the night. The maximum values are recorded between 4 and 8 p.m.

Analysing the nycthemeral evolution of the motor activity on all the studied periods, it is found that in uniform temperature and food

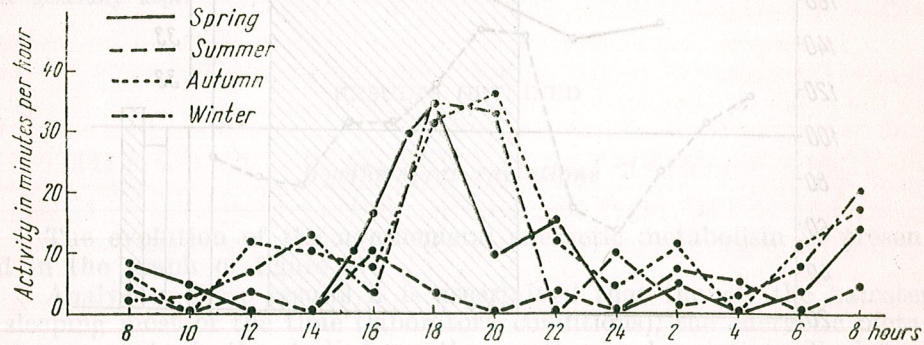


Fig. 2. — The motor activity.

conditions, the hamster preserves the specific type of a nocturnal animal. In winter months its activity decreases considerably.

DISCUSSION OF RESULTS

Our researches revealed in the hamster an average value of energetic metabolism of 6.80 kcal per kg/hr. The ascertained oscillations concerning the values of diurnal and nocturnal metabolism, as well as of the motor activity attest the existence of a rhythm. The evolution of the metabolic rhythm in the hamster is generally similar to that of the homeotherms. However it should be observed that in the hamster metabolism variations from day to night are very small in the months corresponding to the hibernation period.

The data from literature concerning the nycthemeral energetic rhythm in homeotherms are contradictory. Some research works assert that the nycthemeral rhythm is maintained at the environmental temperature of -2° to 8°C even during the hibernation period (Slonim and Ponugoeva in *Myotis myotis*, 1952; Phol in *Glis*, 1964), while others (Kayser 1964, 1967) show that the rhythm is not systematically manifested during the hibernal sleep.

The presence of some specimens of almost arrhythmical hamsters, in connection with the nycthemeral evolution of the energetic metabolism may explain the differentiated behaviour of individuals belonging to the same species.

Certain seasonal variations of the nycthemeral energetic rhythm were likewise recorded in

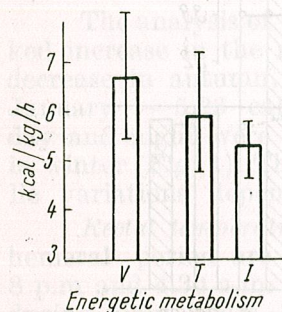


Fig. 3. — Seasonal variations of the energetic metabolism in hamster.

hamster and gopher (Pembrey, 1903; Kalabukhov, 1951, 1957; Vişinescu, 1966). So far the interpretation of these variations can only be doubtful. The mechanisms of metabolic regulation in heterotherms seem however to be particularly sensitive. The results obtained so far plead for the hypophysis neurosecretional deficiency during the state of hibernation (Kayser, Benedato, 1967).

In the nycthemeral evolution of the energetic metabolism, of body temperature and of motor activity, an evident parallelism is observed in the hamster, though there are some discrepancies as regards maximum and minimum levels. It is thus observed that the intensification of the motor activity at night does not always result in an increased metabolism. The particularities of the thermoregulation in the hamster previously studied by us (1967) show that metabolic disturbances are produced at low temperatures, namely below 0°C . In this connection, temperature, and, according to some research workers (Kalabukhov, 1967), nutrition concomitantly with other signalization factors, might play an important role in setting off the hibernation process in the hamster. Thus in natural environmental conditions, hibernation in this species is optional.

CONCLUSIONS

1. The energetic metabolism in the hamster (kept in uniform temperature and food conditions) presents characteristic nycthemeral and seasonal variations.

In the evolution of the nycthemeral rhythm, maximum values were recorded in the evening, and minimum ones in the daytime.

In winter, unlike in summer and autumn, metabolism is low and the rhythm very weakly expressed.

2. Between the nycthemeral energetic metabolism, the body temperature and the motor activity there is an evident parallelism.

3. The particularities of nycthemeral metabolism of the motor activity, as well as of thermoregulation, confirm the assumption that the hamster does not possess a real homeostasis of these functions.

REFERENCES

1. FOLK E., *Anat. Rec.*, 1954, **120**, 787.
2. GORER P., *Biol. Rev.*, 1930, **5**, 210.
3. HEUSNER A., *J. Physiol.*, 1957, **49**, 205-210.
4. HEIBEL G., KAYSER CH., *C. R.*, 1949, **143**, 1377.
5. KAYSER CH., *Ann. Physiol. Physico-chem Biol.*, 1939, **15**.
6. — *J. Physiol.*, 1966, **58**, 5.
7. — *J. Physiol.*, 1967, **59**, 1.
8. КАЛАБУХОВ А., *Материалы к III в. с. по экол. физиол.* Novosibirsk, 1967.
9. LIMAN S., *J. Exp. Zool.*, 1950, **114**, 491.
10. ЛЕИБСОН А. Г., *Сахар крови А. Н. Ленинград*, 1962.
11. ПОХЛ X., *Сб. биол. части изд. М.*, 1964, 182-194.
12. РОПОВИЧ V., *Glas SAN.*, 1956, **210**, 7.
13. СЛЮНИМ А., *Основы общ. экол. фит. млек.*, АН Москва, 1961, 339.
14. STRUMWASSER, F., *Amer. J. Physiol.*, 1959, **196**, 15.

15. VIȘINESCU N., Rev. Roum. Biol., Zool., 1965, **10**, 4.
 16. — *Суточная и сезонная ритмика химической терморегуляции некоторых видов грызунов Румынии*, Автореферат, Moscow, 1966.
 17. — St. Cerc. Biol., Zool., 1966, **3**, 18.
 18. — Rev. Roum. Biol., Zool., 1967, **12**, 2.
 19. — *Материалы к III в. Конф. по экол. физиол.* Novosibirsk, 1967.

The Institute of Biology "Traian Săvulescu"

Department of Animal Physiology

Received November 1, 1967

RÉVISION ET MISE EN SYNONYMIE DE QUELQUES DENDROCELIDES OBSCURICOLES NOUVELLEMENT DÉCRITS DE ROUMANIE

PAR

RADU CODREANU et DOÏNA BALCESCO

A la faveur d'un voyage en Roumanie, par la voie des échanges scientifiques, Mademoiselle Nicole Gourbault, attachée au Laboratoire souterrain de Moulis du Centre National de la Recherche Scientifique (France), a entrepris avec l'appui de l'Institut de Spéologie de notre Académie, la récolte de Triclades obscuricoles d'une série de grottes et autres stations du Banat, de l'Olténie, de la Transylvanie et de la Dobroudja, en l'automne 1966. Tout en étant instamment avertie de nos préoccupations déjà anciennes dans ce domaine et actuellement inscrites dans le plan de recherches de l'Institut de Biologie de l'Académie, elle s'est empressée de publier ses résultats, sans tenir compte du délai de priorité qu'elle nous devait en vertu de l'éthique en vigueur entre spécialistes étudiant le même groupe taxonomique ([8], p. 92), d'autant plus qu'il s'agissait de matériaux de la faune de notre pays.

Il s'en suivirent des travaux parallèles décrivant les mêmes espèces sous des noms différents, et nous avons été amenés ainsi à éclaircir cette confusion manifestement nuisible. Dans ce but, nous allons établir ci-après le statut systématique réel des unités en litige, tel qu'il se dégage de l'ordre chronologique de parution de nos travaux et de ceux de Gourbault.

Concernant les *Dendrocoelum* du Banat et de l'Olténie, nos descriptions, publiées en août et octobre 1967 ([2], [3]), sont incontestablement antérieures à celles de l'auteur français qui ont paru au mois de décembre de la même année ([5], [6]). Quant au *Dendrocoelum* de Dobroudja, tant notre travail [4] que le sien [6] datent de décembre 1967, mais il est à remarquer que le nom spécifique *orghidani* par lequel Gourbault ([6], p. 803) le désigne, est occupé, étant appliqué par nous à une espèce de Transylvanie ([4], p. 843), qui n'est décrite que sous ce nom. Nous prévalant du droit d'action du premier réviseur ([8], p. 24), nous rectifions cette homonymie des deux espèces distinctes du même genre, en déclarant l'invalidité du nom *orghidani* Gourbault, 1967, au profit de *polymorphum* Codreanu et Balcesco, 1967 ([4], p. 847), par lequel nous avons nommé le *Dendrocoelum* de la même station en Dobroudja.

A partir des données de priorité que nous venons d'exposer, nous allons examiner dans ce qui suit les diagnoses des *Dendrocoelum* de Roumanie publiées par Gourbault.

1. *Dendrocoelum (Dendrocoelides) clujanum* Codreanu, 1943 est signalé à tort dans une source du Banat. La station de Șereniak est en réalité la localité type d'un endémite nouveau, *Dendrocoelum (D) atriostrictum* Codreanu et Balcesco, 1967 ([2], p. 290, [3], p. 339, fig. 2), qui s'écarte de *D. (D.) clujanum* non point par une seule différence, comme l'affirme Gourbault ([5], p. 745), mais par tout un ensemble de caractères, dont voici les principaux : papille pénienne infiniment plus puissante, terminée par un gland dû à la constriction d'une forte musculature circulaire latérale ; atrium mâle en entonnoir, se prolongeant distalement par un conduit musculeux rétréci, qui s'ouvre à travers une fente étroite dans l'atrium commun ; oviducte gauche placé en dedans de la courbure du canal de la bourse copulatrice, à la manière d'un *Paradendrocoelum* ; organe musculoglandulaire en un turban fortement allongé, situé à droite.

Pour comparasion, rappelons que chez *D. (D.) clujanum* [1], les testicules se détachent avec une netteté exceptionnelle vis-à-vis du parenchyme ; le pénis conique tubuleux amincit progressivement ses parois en direction distale ; l'atrium mâle, limité à une gaine du pénis, communique par une ouverture béante avec l'atrium commun ; les oviductes sont extérieurs au conduit de la bourse copulatrice ; l'organe musculo-glandulaire piriforme, de taille modérée, est constamment à gauche.

Par conséquent, jusqu'à plus ample informé, la présence du *D. (D.) clujanum* Codreanu, 1943 est à rayer du Banat.

2. L'identité de *Dendrocoelum (Dendrocoelides) codreanui* Gourbault, décembre 1967 avec *D. (D.) banaticum* Codreanu et Balcesco, août 1967, ne laisse aucun doute, les deux provenant de la même station, la source de Stirmine, et les diagnoses et schémas respectifs sont assez concordants, sauf les rectifications suivantes à apporter au travail de l'auteur français.

Tout d'abord, Gourbault ne relève pas suffisamment la visibilité particulière des testicules présents jusqu'à l'arrière du corps, ni la structure musculaire et glandulaire compliquée de l'organe adhésif. Des traits essentiels du pénis lui ont complètement échappé : ce dernier ne saurait être « contenu presque entièrement » ([5], p. 748) dans l'atrium mâle, vu que celui-ci se continue distalement par un important manchon musculeux, bien évident dans sa fig. A (p. 747) et en accord avec son texte ultérieur ([5], p. 750). L'existence d'une vésicule séminale supérieure au débouchement des canaux déférents est niée et cependant sa lumière devient considérable lors de l'invagination de la papille pénienne, ainsi que nous l'avons montré ([3], p. 343, fig. 4). L'aspect trapu et les replis distaux du pénis libre n'ont pas été saisis.

D'autre part, la même fig. A est déroutante du fait qu'elle montre l'organe musculo-glandulaire placé à gauche, alors que sa position est ordinairement à droite, en vue dorsale. Enfin, le canal de la bourse copulatrice est le moins dilaté comparativement aux autres *Dendrocoelum* du Banat ([3], p. 338, 339, fig. 1, 2), et il semble curieux qu'il puisse « former le pore génital », même lorsque l'adénodactyle est protracté.

Cette espèce montre le plus d'affinités avec celles du Banat et le *Dendrocoelum abditum* Kenk, 1940 de Yougoslavie [7], et nullement avec

D. chappuisi de Beauchamp, 1932, *D. (D.) clujanum* Codreanu, 1943 ou *D. (Polycladodes) voinovi* Codreanu, 1929, indiqués à ce propos par Gourbault. Vu les données trop sommaires de Kenk, seul l'examen des préparations originales pourrait mettre en évidence les véritables caractères différentiels entre son *D. (Paradendrocoelum) abditum* et notre *D. (D.) banaticum*. Contrairement à ce dernier, chez l'espèce yougoslave, les canaux déférents débouchent bien au-dessus des culs-de-sac de l'atrium mâle et l'adénodactyle est constamment plus court que le pénis.

Le nom valide reste *D. (D.) banaticum* Codreanu et Balcesco, août 1967, et nous regrettons d'avoir à rejeter en synonymie le nom *codreanui* Gourbault, décembre 1967, mais c'est la conséquence inévitable de ce qu'il a été fait abstraction de nos recherches en cours.

3. *Dendrocoelum (Dendrocoelides) dumitrescuae* Gourbault, décembre 1967 se superpose à *D. (D.) stenophallus* Codreanu et Balcesco, octobre 1967, bien qu'ils proviennent de deux grottes différentes d'Olténie, respectivement de « Peștera-aven n° 2 de Sohodoalele Mici » et « Peștera de sub vârful Tihomirului », distantes de dix kilomètres.

L'espèce est nettement caractérisée par son pénis ayant le bulbe réduit, suivi d'une très longue papille, dépourvue de vésicule séminale avant l'aboutissement du long trajet des canaux déférents et cette papille occupe complètement l'atrium mâle, qui l'épouse tel un sac étroit, à faible musculature, s'ouvrant par une petite éminence dans l'atrium commun.

Nous avons noté l'évasement terminal du canal éjaculateur, mais non pas l'inflexion de la pointe du pénis. D'autre part Gourbault n'indique pas le renforcement de la musculature circulaire pariétale vers la mi-hauteur du conduit éjaculateur, ni la variabilité possible du parcours des oviductes, que nous avons signalée comme un fait remarquable ([3], p. 348, fig. 7). En outre, dans nos exemplaires, la bourse copulatrice a une lumière moins spacieuse, et en revanche l'organe musculo-glandulaire apparaît plus développé que dans les schémas de Gourbault. Nous ne souscrivons pas aux affinités qu'elle assigne à cette espèce avec *D. (D.) codreanui* Gourbault, c'est-à-dire *D. (D.) banaticum* Codreanu et Balcesco.

La comparaison des coupes histologiques d'échantillons plus nombreux des deux grottes nous permettra de décider si l'isolement cavernicole a effectivement abouti dans ce cas à une diversification intra-spécifique, telle que certaines différences mentionnées ci-dessus pourraient nous faire présumer.

La priorité revient néanmoins à *Dendrocoelum (Dendrocoelides) stenophallus* Codreanu et Balcesco, octobre 1967, dont *D. (D.) dumitrescuae* Gourbault, décembre 1967 devient un synonyme.

4. *Dendrocoelum (Dendrocoelides) orghidani* Gourbault, décembre 1967 se trouve également décrit par nous sous le nom de *D. (D.) polymorphum* Codreanu et Balcesco, décembre 1967, en même temps qu'un *D. (D.) orghidani* Codreanu et Balcesco, décembre 1967 désignant une espèce tout à fait différente d'une grotte des confins du Banat et de la Transylvanie.

En Dobroudja, nous avons pu établir la présence de ce nouveau *Dendrocoelum*, en dehors de « Gura Dobrogei », localité type de Gourbault, dans différents puits à Agigea, et montrer, sur l'ensemble de nos exemplaires, leur faculté d'atteindre la maturité génitale sous deux formes

distinctes, dont nous avons interprété la plus jeune comme étant *néoténique* ([4], p. 848, fig. 4).

Ce phénomène reste inaperçu par Gourbault et sa diagnose, tout en permettant de reconnaître les caractéristiques de l'espèce, appelée nonobstant les remarques suivantes. Le trajet des canaux déférents dans la papille tronconique du pénis descend nettement plus bas que les culs-de-sac de l'atrium mâle, contrairement à ses schémas ([6], p. 805, 806, fig. 1, 2). En outre, celui-ci a sa moitié distale rétrécie pourvue d'un puissant manchon musculaire, qui est également omis. En fait, il se termine par une papille qui proémine à l'orifice génital externe, étant ainsi totalement isolé de l'atrium commun.

Le caractère le plus saillant de la papille pénienne est sa forte musculature circulaire, située sous son revêtement épithélial, et qui s'épaissit en un important bourrelet à la base du gland. Or, dans ses deux figures, on voit avec étonnement la bordure épithéliale renforcée au détriment de la couche musculaire sous-jacente, qui se devine à peine, et par surcroît son texte nous signale « l'épithélium externe remarquablement développé en gaine musculaire » ([6], p. 807)!

Les glandes roses, très abondantes dans le parenchyme de la papille, n'y sont point indiquées, et il est dit que « l'organe musculo-glandulaire ne montre pas de lumière claire » en opposition à ce que l'on constate sur les schémas. La communication génito-intestinale rapportée a bien l'air d'un artefact, les anastomoses valables étant généralement celles de la bourse copulatrice avec les cæcums digestifs limitrophes. Dans sa discussion des affinités de cette espèce, les *Dendrocoelum* du Banat de par leur atrium mâle en entonnoir, n'auraient pas dû manquer.

Vu l'existence simultanée de deux *Dendrocoelum* appelés *orghidani*, c'est le *D. (D.) orghidani* Gourbault, décembre 1967, qui devient caduc en raison du nom coexistant *D. (D.) polymorphum* Codreanu et Balcesco, décembre 1967, désignant la même espèce de la même localité type.

Dans cette mise au point, nous nous sommes guidés d'après les indications du Code international de Nomenclature zoologique en cas de date incomplète ([8], p. 18), mais les renseignements directs qui nous sont parvenus pendant l'impression de ce texte, nous apprennent que d'après la date réelle de sa parution (15 février 1968), la description de Gourbault relative à *D. (D.) orghidani* [6], est en fait ultérieure à notre diagnose concernant la même espèce.

★

En résumé, on aboutit au statut systématique suivant des *Dendrocoelum* obscuricoles de Roumanie, que nous venons de réviser :

I. Sources du Banat :

1. *Dendrocoelum (Dendrocoelides) atriostrictum* Codreanu et Balcesco, 1967 ([2], p. 290, [3], p. 339).

Détermination erronée comme *D. (D.) clujanum* Codreanu, 1943 [1], par Gourbault 1967 ([5], p. 745).

2. *Dendrocoelum (Dendrocoelides) banaticum* Codreanu et Balcesco, 1967 ([2], p. 291, [3], p. 341).

Synonyme : *D. (D.) codreanui* Gourbault 1967 ([5], p. 745).

II. Grottes d'Olténie :

3. *Dendrocoelum (Dendrocoelides) stenophallus* Codreanu et Balcesco, 1967 ([3], p. 345).

Synonyme : *D. (D.) dumitrescuae* Gourbault, 1967 ([6], p. 808).

III. Puits en Dobroudja :

4. *Dendrocoelum (Dendrocoelides) polymorphum* Codreanu et Balcesco, 1967 ([4], p. 847).

Synonyme : *D. (D.) orghidani* Gourbault, 1967 ([6], p. 803).

Nec : *D. (D.) orghidani* Codreanu et Balcesco, 1967, de Transylvanie ([4], p. 843).

Reçu le 24 février 1968

Institut de Biologie « Traian Săvulescu »
Laboratoire de morphologie animale

BIBLIOGRAPHIE

- CODREANU R., *Dendrocoelum (sous-genre Dendrocoelides) clujanum n. sp., nouveau Triclade souterrain de Transylvanie*. Anal. Acad. Rom., Bucarest, 1943, Mem. Sect. Șt. ser. III, 18, 7, 135-158, 3 fig., 4 pl.
- CODREANU R., BALCESCO D., *Sur trois Dendrocoelides aveugles nouveaux des sources du Banat (Roumanie)*. Rev. Roum. Biol.—Zoologie, 1967, 12, 4, 287-294.
- *Sur les rapports entre les sous-genres Paradendrocoelum Kenk 1930 et Dendrocoelides de Beauchamp 1919 d'après les espèces obscuricoles du Banat et de l'Olténie*. Rev. Roum. Biol.—Zoologie, 1967, 12, 5, 337-349, 7 fig.
- *Sur deux nouveaux Dendrocoeles hypogés de Roumanie et certains effets de néoténie*. Arch. roum. Path. exp. Microbiol., 1967, 46, 4, 843-852, 5 fig.
- GOURBAULT N., *Triclares obscuricoles de Roumanie. 1. Dendrocoelides du Banat*. Bull. Mus. Nat. Hist. Nat. Paris, 1967, Sér. 2, 39, 4, 745-752, 2 fig., 1 pl.
- *Triclares obscuricoles de Roumanie. 2. Dendrocoelides de Dobroudja et d'Olténie*. Ann. Spéléologie, Paris, 1967, 22, 4, 803-813, 4 fig., 2 pls.
- KENK R., *A new Dendrocoelum from Yougostavia (Turbellaria, Tricladida)*. Prirodoslovne Razprave, Ljubljana, 1940, 4, 91-95, 2 figs.
- * * * Code International de Nomenclature Zoologique, London, 1961.

AVIS AUX AUTEURS

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

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

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

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

Les auteurs ont droit à 50 tirés à part gratuits.

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

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