

P. 99
N° 1—2 B II

JANVIER—FÉVRIER

1935

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

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

CRACOVIE
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ
1935



rcin.org.pl

Publié, par l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, sous la direction de
M. S. Maziarski, Secrétaire de la Classe des Sciences Mathématiques et Natu-
relles (Cracovie, Institut d'Histologie de l'Université, rue Wielopole 15).

Cette publication est subventionnée par le Fonds Tyszkowski, administré
par l'Académie.

Nakładem Polskiej Akademji Umiejętności.
Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem Józefa Filipowskiego.

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

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES (II)

ANNÉE 1935

CRACOVIE
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ
1935

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

WYSTĄPIENIA WYKŁADNICZE I NATURA
WYKŁADNICZE (III)

1952

WARSZAWA
WYDZIAŁ WYDAWNICTWA
UNIWERSYTETU WARSZAWSKIEGO

Table des matières.

	Page
St. Markowski: Über den Entwicklungszyklus von <i>Bothriocephalus scorpii</i> (Müller 1776) (Planche 1)	1
L. W. Wiśniewski: <i>Cercaria dubia</i> sp. n. und deren weitere Entwicklung in <i>Herpobdella atomaria</i> (Planche 2)	19
J. Zweibaum et M. Szejnman: Recherches sur les cellules binucléaires dans la culture de tissus	37
St. Markowski: Einfluß der Milieuveränderungen auf die Entwicklung der Eier von <i>Bothriocephalus scorpii</i> (Müller 1776)	49
K. Passowicz: Studien über das Verhalten des Wasserflohes <i>Daphnia pulex</i> de Geer in Zuchtlösungen von verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen	59
M. Ramult: Observations on the Embryonic and Larval Development in <i>Sacculina</i> (Rhizocephala) in Changed Osmotic Conditions of Medium	87
F. Rogoziński et Zb. Główeczyński: Sur la valeur nutritive de la graine d'Alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>)	111
F. Rogoziński et Zb. Główeczyński: L'irradiation et la croissance (Planche 3)	123
W. Friedberg: <i>Turritella scalaria</i> de Buch und einige Bemerkungen über evolute Gastropodenschalen (Planche 4)	137
J. Zaćwilichowski: Über die Innervation der Haftapparate der Karpfenlaus <i>Argulus foliaceus</i> L. (Brianchura) (Planche 5)	145
B. Konopacka: Recherches histochimiques sur le développement des Poissons. I. La vitellogénèse chez le Goujon (<i>Gobio fluviatilis</i>) et la Carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) (Planche 6)	163
J. Tur: Les néoplasmoïdes embryonnaires obtenus par voie expérimentale (Planche 7)	183
J. Jarocki: Studies on Ciliates from fresh-water Molluscs. I. General remarks on Protozoan parasites of <i>Pulmonata</i> . Transfer experiments with species of <i>Heterocineteta</i> and <i>Chaetogaster limnaei</i> , their additional host. Some new Hypocomid Ciliates (Planche 8)	201
L. D. Liosner und M. A. Woronzowa: Weitere Untersuchung über den Mechanismus der Perforation der operculären Membran in Metamorphoseprozeß der schwanzlosen Amphibien. (Zur Frage der sogenannten autonomen und abhängigen Entwicklung der Körperteile metamorphosierender Amphibien. II) (Planche 9)	231

St. Markowski: Die parasitischen Würmer von *Gobius minutus* Pall. des polnischen Balticums (Planche 10) 251

R. Towarnicki: Über die Blutgefäße des Gehirns von *Myxine glutinosa* L. (Planche 11) 261

I. Latinik-Vetulani: Recherches sur l'anoxycbiose des embryons de Grenouille *Rana fusca* dans différents stades du développement 273

J. Biborski: Über die Segmentalgefäße und die Gefäße der unpaaren Flossen der Scholle (*Pleuronectes platessa*) (Planche 12) . . . 279

M. A. Zieliński: Phosphorus in the early development of the frog . 293

Z. Grodziński: Die Entwicklung der Venen in der Keimscheibe des Hühnchens 305

H. Łuczynska: Über den Formensinn und das Gedächtnis für optische Eindrücke bei Eidechsen 323

Wl. Cieślík und Zb. Kaweckí: Das spontane Auftreten der Blutlauszehrwespe *Aphelinus mali* Hald. in Polen (Planche 13) 343

Z. Grodziński and J. Marchlewski: Studies on the motility of spermatozoa of the Domestic Cock outside the organism 347

T. Garbowski: Zur Ethologie und Psychologie der Asopiden (*Hemiptera heteroptera*) 363

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

1935

O cyklu rozwojowym Bothriocephalus scorpii (Müller 1776). — *Über den Entwicklungszyklus von Bothriocephalus scorpii* (Müller 1776).

Mémoire

de M. **ST. MARKOWSKI**,

présenté le 7 janvier 1935, par M. J. Tur m. c.

(Planche 1).

Nach einigen Literaturangaben kann *Bothriocephalus scorpii* (Müller 1776)¹⁾ als eine geographisch stark verbreitete Form betrachtet werden. Stossich 1896, 1898 hat ihn im Darm der Fische des Adriatischen Meeres (Triest) gefunden. Linton 1900, 1901 zitiert ihn aus den Gegenden von Woods Hole, Mola 1928 aus dem Tyrrhenischem Meer, endlich Baylis und Jones aus den Gegenden von Plymouth. Die genannten Autoren haben *B. scorpii* im Darm folgender Fischarten festgestellt:

Stossich: *Scorpaena porcus* L., *Rhombus maximus* L. (sehr häufig), *Pleuronectes flesus* L. (sehr selten).

Linton: *Lophopsetta maculata* (Mitchill), *Limanda ferruginea* (Storer), *Paralichthys oblongus* (Mitchill).

Mola: *Rhombus maximus* L., *Rhombus laevis* (Rondel), *Rhomboidichthys podas* Del., *Arnoglossus bosci* Risso, *Arnoglossus lanterna* Walb., *Solea impar* Benn., *Mullus barbatus* L., *Lophius piscatorius* L., *Trigla corax* Bonap., *Labrus turdus* L.

¹⁾ Auf Grund der Arbeit von Baylis und Jones 1933 gebrauche ich in der vorliegenden Arbeit den Namen *Bothriocephalus scorpii* (Müller 1776) anstatt *B. bipunctatus* (Zeder 1800). Anhangsweise sei bemerkt, daß der von Mola 1928 angeführte Name *B. rhombi* (Leeuwenhoeck 1722) einige Richtigkeit an sich hat, da *B. scorpii* hauptsächlich bei *Rhombus maximus* vorkommt.

Baylis und Jones: *Scophthalmus norvegicus* Cth., *Arnoglossus lanterna* Walb., *Cottus bubalis* Euphr.

Aus dieser Zusammenstellung ist ersichtlich, daß *B. scorpii* am häufigsten bei den Repräsentanten der *Heterosomata* und *Scleroparei* auftritt. Das Vorkommen dieses Schmarotzers in Fischen der Ostsee ist von Schultz 1911 (für die Kieler Bucht) und von Markowski 1933 (für die polnischen Küstengewässer) festgestellt worden. Schultz hat in 45 untersuchten *Pleuronectes flesus* zwei Infizierungsfälle notiert, wobei jeder der infizierten Fische je einen *B. scorpii* enthielt. Die Längenmaße der 45 *P. flesus* schwankten zwischen 18 und 33 cm; der Inhalt ihres Darmkanals bestand aus Wirbellosen und einem *Ammodytes*.

Weiter hat Schultz bei 16 *Rhombus maximus* von 19·5 bis 44 cm Länge, 13 Infizierungsfälle, somit 81% festgestellt. Die Zahl der Bandwürmer auf je einen Fisch schwankte zwischen 2 und 107 Individuen. Der Autor hat im Darmkanal dieser Fische *Gobius* und verdaute Fischreste sowie eine *Mysis* vorgefunden. Neben den zwei eben genannten Endwirten von *B. scorpii* hat Schultz außerdem noch 29 *Cottus scorpius* analysiert, von denen 15 mit demselben Parasiten behaftet waren, was 55% ausmacht. Die Zahl der Bandwürmer auf je einen Fisch schwankte zwischen 1 bis 18 Individuen. Als Bestandteile der im Darmkanal vorgefundenen Nahrung zitiert der Autor Fische und Wirbellose.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen über *R. maximus* aus den polnischen Küstengewässern sind auf Tabelle I. dargestellt.

Die 521 untersuchten Fische hatten eine Länge von 3 bis 30 cm. Charakteristische Unterschiede in der Häufigkeit der Infizierung sowie in dem Nahrungsbestand hängen von der Größe des Fisches ab. Nach meinen Ergebnissen beläuft sich die Infizierung bei 3—6·8 cm messenden Exemplaren auf ca 19%, dagegen bei denjenigen, welche eine Länge von 6·8—30 cm besitzen — auf 100%, wobei im letzteren Falle ein massenhafter Anteil von Bandwürmern zu notieren ist. Was die Zusammensetzung der Nahrung betrifft, so liegen hier, im Zusammenhang mit den Größenmaßen der Fische, ebenfalls Unterschiede vor. Im weiteren Verlaufe der Arbeit wird es sich herausstellen, daß dies von wichtigster Bedeutung für die Infizierung von *R. maximus* ist.

Aus Tabelle I. scheint deutlich hervorzugehen, daß die Infizierung von *Rhombus maximus* der polnischen Küstengewässer

diejenige der Kieler Bucht in jeder Hinsicht übertrifft. Bei 521 untersuchten Fischen ließen sich 504, also ca 97%, Infizierungsfälle feststellen.

TABELLE I.
Infizierung von *Rhombus maximus* L.

Länge in cm	Zahl der Fische	Zahl der infizierten Fische	Zahl der Bandwürmer auf je einen Wirt	Nahrung	Datum
3—3.6	5	1	1 (juv.)	Plankton, zweimal Fische	September
3—4.6	7	—		Plankton, <i>Crustacea varia</i>	August
5—5.5	3	1	2 (adult.)	Plankton, <i>Crustacea varia</i>	August, Sept.
6—6.8	6	2	1 (juv.); 5 (juv.), 1 (adult.)	Plankton, <i>Crustacea varia</i>	September
10—30	500	500	massenhaft	Fische, <i>Schizopoda</i> , <i>Isopoda</i>	Februar, März, Juli, August, September
Zusammen 521		504	(97%)		

Dagegen ist die Infektion von *Pleuronectes flesus* aus demselben Terrain, also den polnischen Küstengewässern, eine viel kleinere, worüber die nachfolgende Tabelle II Aufschluß gibt.

TABELLE II.
Infizierung von *Pleuronectes flesus*.

Länge in cm	Zahl der Fische	Zahl der infizierten Fische	Zahl der Bandwürmer auf je einen Wirt	Nahrung	Datum
2.2— 4	100	1	1 juv.	Einmal kleine <i>Gobius minutus</i> , Plankton	Juli
4 — 9	44	1	1 »	Plankton, <i>Crustacea</i> , <i>Mollusca</i>	Juli
9 —24.5	16	4	1 »	Plankton, <i>Crustacea</i> , <i>Mollusca</i>	September

Weder die Untersuchungen von Schultz noch die meinigen über *Pleuronectes limanda* und *P. platessa* haben die Anwesenheit von *B. scorpii* im Darne dieser Fische festgestellt. Dies läßt sich durch die Verschiedenartigkeit der Nahrung erklären, welche bei *R. maximus* fast ausschließlich aus Fischen, dagegen bei den übrigen Plattfischen meistens aus Wirbellosen besteht.

Bei massenhafter Infektion ist der ganze Darm von *R. maximus*, von den zwei gleich hinter dem Magen liegenden Blindsäcken an bis zum After mit *B. scorpii* ausgefüllt. Da mir ein sehr reiches Material zu Verfügung stand, habe ich den Versuch unternommen, der Frage des Entwicklungszyklus von *B. scorpii* näherzutreten, um eine eventuelle Lösung derselben herbeizuführen. Als Resultat dieser Untersuchungen ergab sich die Feststellung zweier Zwischenwirte und zweier Kategorien von Larven, was im folgenden kurz dargelegt wird.

Experimenteller Teil.

Die gegenwärtigen Kenntnisse der Entwicklungsgeschichte von meisten *Pseudophyllidea* haben mich veranlaßt den ersten Zwischenwirt vor allem in einem der Copepoden zu suchen, welche das erste Larvalstadium übertragen. Zu diesem Zwecke habe ich eine Reihe von Experimenten durchgeführt, welche auf einer Infizierung der Copepoden beruhten. Die aus dem Darm von *R. maximus* befreiten Bandwürmer wurden mit Meerwasser ausgewaschen und nachher auf 2—3 Stunden in eine Petrischale gelegt. Nach Ablauf dieser Frist war der Boden des Gefäßes mit einer zarten Auflagerung der von den Bandwürmern abgesetzten Eiern bedeckt. Dabei ist zu erwähnen, daß sich sowohl der Absatz wie die noch im Bandwurmkörper steckenden Eier unter dem Einfluß von Licht schwarz färben. In letzterem Falle entstehen auf der Strobila doppelte schwarze Punkte, welche die Lage des Uterus andeuten.

Das Ei (Fig. 1, 2) ist oval, oben mit einem Deckel versehen. Die Eischale ist ziemlich dick, von dunkelbrauner Farbe. Die Länge des Eies schwankt zwischen 65 und 76 μ ; die Breite zwischen 41 und 46 μ . Die Entwicklung des Eies findet außerhalb des Uterus, nach dem Verlassen des Bandwurmkörpers statt.

Die mit Meerwasser gespülten Eier wurden in Gefäßen von 15—100 cm³ Inhalt aufbewahrt. Diese wurden dicht zugedeckt

um das Abdampfen des Meerwassers zu verhindern. Nach Verlauf von 4 Tagen war die mit 3 Hakenpaaren bewaffnete Larve durch die Eischale deutlich sichtbar (Fig. 1). Die zur völligen Entwick-

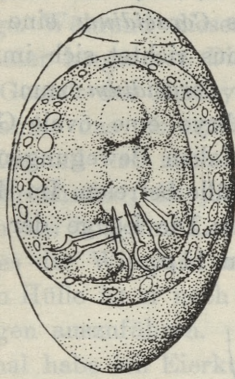


Fig. 1.

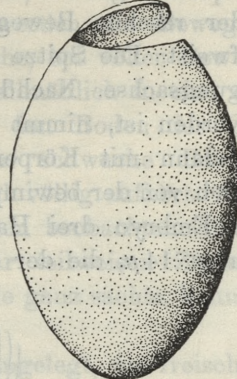


Fig. 2.

Fig. 1., 2. Ei von *Bothriocephalus scorpii*: Vergr. ca $\times 700$. Fig. 1. Ei mit Embryo; Fig. 2. Leere Schale.

klung benötigte Zeit, vom Augenblick, da die Eier ins Gefäß gelegt wurden bis zum Ausschlüpfen des *Coracidium*, betrug 5 Tage bei einer Temperatur von $20-22^{\circ}\text{C}$. Am fünften Tage begannen die *Coracidia* nach dem Aufspringen des Deckels die Eischalen massenhaft zu verlassen. Dieser oft beschriebene Vorgang verläuft ähnlich wie bei *Triaenophorus*-Arten oder *Diphyllobothrium latum*. Es muß nur betont werden, daß das Ausschlüpfen der *Coracidia* im Laboratorium einen »explosiven« Charakter trägt, und am fünften bzw. sechsten Tage ca 100% der Larven die Eier verlassen. In den leeren Eischalen bleiben ähnliche Gebilde übrig, wie sie in denjenigen von *Triaenophorus* und *Diphyllobothrium latum* anzutreffen sind.

Die bewimperte Larve, das *Coracidium* (Fig. 3), besitzt eine kugelförmige Gestalt von $62 \times 65 \mu$ Durchmesser. Die Cilien messen im allgemeinen 14μ in der Länge, nur am vorderen Körperteile sind sie in Gestalt eines Büschels differenziert und besitzen eine Länge von ca 27μ . In der äußeren bewimperten Membrane lassen sich mehrere unreguläre Gebilde wahrnehmen (Fig 3), deren Charakter näher zu feststellen mir nicht gelungen ist. Die Bewegung des *Coracidium* ist eine sehr rasche. Sie erfolgt

längs gewissen Kurven bei gleichzeitiger Rotation um die eigene Längsachse. Beim Vorwärtsschwimmen der Larve spielt der vordere Wimperbüschel die wichtigste Rolle. Im Inneren der bewimperten Kugel befindet sich der Embryo, $30 \times 41 \mu$ messend, welcher während der raschen Bewegung des *Coracidium* eine konische Gestalt aufweist. Die Spitze des Konus richtet sich immer nach der Bewegungsachse. Nachdem das *Coracidium* zum Stillstand gebracht worden ist, nimmt der Embryo eine ovale Gestalt an und führt dann mit Körper und Haken Bewegungen aus, als wollte er sich von der bewimperten Hülle befreien. Im Hinterende besitzt der Embryo drei Hakenpaare; Die Länge der mittleren Haken beträgt 14μ , die der seitlichen 11μ .

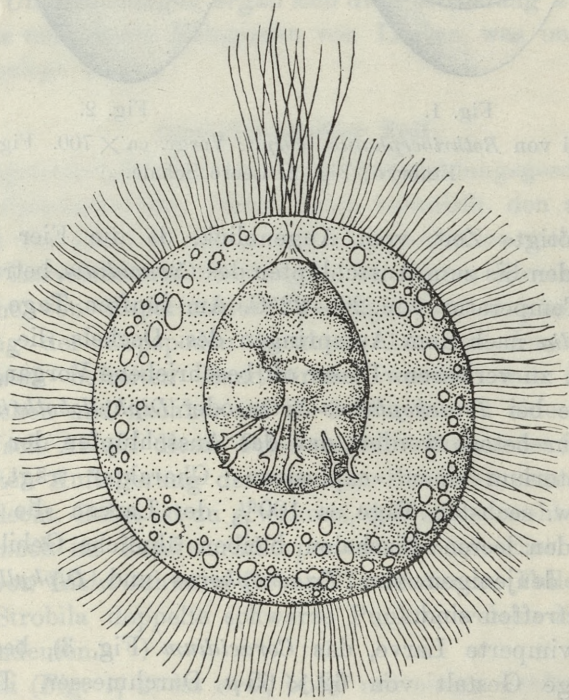


Fig. 3. *Coracidium*. Vergr. ca $\times 700$.

Es ließen sich »*in vivo*« keine den Embryo von der cilien-tragenden Hülle abtrennenden Membranen wahrnehmen. Erst auf dem in 2% Formollösung fixierten Material konnte ich eine abgrenzende Membrane entdecken; sie ist jedoch auf der beige-

fügten Abbildung nicht sichtbar, da diese teilweise nach lebendem, teilweise nach fixiertem Material gezeichnet wurde.

Die Lebensdauer des frei umher schwimmenden *Coracidium* vom Austritt aus dem Ei berechnet, beträgt (Temp. 20—22°C) 2—3 Tage. Während dieser Zeit werden die Bewegungen der Larve immer langsamer. Die konische, bei voller Bewegung auftretende Gestalt des Embryo geht allmählich in eine ovale über. Endlich sinkt das *Coracidium* auf den Boden des Gefäßes. In diesem Zustand ist noch eine sehr schwache Bewegung der Cilien wahrnehmbar, die jedoch bald völlig aufhört. Am Embryo kann man am längsten Lebenszeichen beobachten: trotz völligen Stillstandes der Wimpern und sogar teilweisen Zerfalls der bewimperten Hülle ist er noch imstande ganz sachte, kaum merkbare Bewegungen auszuführen.

Zweimal habe ich Eierkulturen angelegt, um freischwimmende Larven aus Eiern zu gewinnen. Die nachstehenden Angaben erleuchten den Verlauf der Entwicklungsvorgänge.

TABELLE III.

	Anfang der Kultur	Ausschlüpfen der Larven	Dauer der Kultur	Temperatur
Kultur I	12. VII.	17. VII.	5	20—22°C
Kultur II	18. VII.	23. VII.	5	20—22°C

Sowohl in der ersten als auch in der zweiten Kultur betrug die Entwicklungszeit 5 Tage.

Die ausgeschlüpften *Coracidia* wurden samt den embryonierten Eiern in ein Aquarium gebracht. Dieses wurde mittels eines ziemlich starke Luftströmung erzeugenden Motors künstlich durchgelüftet. Im Aquarium befanden sich Copepoden, von denen ein Teil untersucht und als frei von Bandwurmlarven festgestellt wurde.

Am 21. VII. 1934, also nach 4 Tagen, begann ich die Copepoden zu untersuchen. 200 Exemplare wurden seziiert, wobei sich eine auf 50% belaufende Infizierung herausstellte.

Die zweite Kultur habe ich am 23. VII. unter ähnlichen Bedingungen in das Aquarium mit Copepoden transportiert. Nach Verlauf von 7 Tagen (am 30. VII.) konnte ich eine 6-prozentige

Infizierung feststellen. Nebenbei sei erwähnt, daß nach dem zweiten Infektionsexperiment nur noch 100 Copepoden am Leben blieben. Die Ergebnisse des Experimentes wurden also an einem viel geringeren Material geprüft.

Alle Copepoden, in denen die *Coracidia* sich angesiedelt und die Gestalt der Procercoïdarven erlangt haben, gehörten zur Art *Eurytemora hirundo* Giesbrecht¹⁾. Demnach dürfte man also diese Copepodenart ohne jeglichen Zweifel als den ersten Zwischenwirt des *B. scorpii* betrachten.

Procercoïd (Fig. 4; 4^a; 4^b; 5). Die aus *Eurytemora hirundo* entnommenen Procercoïde wurden in der Leibeshöhle gefunden, ähnlich wie dies für die entsprechenden Larvalstadien von *Triacnophorus* und *Diphyllobothrium latum* L. zutrifft. Außer dem eben erwähnten Befund konstatierte ich ebenfalls jüngere, im Darm von *E. hirundo* angesiedelte Stadien (Fig. 5).

Dank einer erheblichen Körpermetabolie kann das Procercoïd verschiedene Gestalten, von der ovalen bis zur lang gestreckten Form, annehmen. Die Länge der aus der Leibeshöhle stammenden Procercoïde beträgt etwa 163—180 μ ; die Breite — etwa 46 μ . Die ovalen Individuen maßen etwa 58 \times 60 μ . Die jüngeren Larven aus dem Darm von *E. hirundo* hatten einen Durchmesser von 27 μ .

In der hinteren Körpergegend ist das Procercoïd mit 3 Hakenpaaren bewaffnet, von denen das mittlere eine Länge von 14 μ und die zwei seitlichen von ca 11 μ besitzen. Die Haken können dank ihrer Beweglichkeit ihre Lage verändern, indem sie sich entweder parallel anordnen oder sich kreuzen, oder eine sonst beliebige Stellung einnehmen (Fig. 4—4^b). Der Körper des Procercoïds ist aus großen, losen Zellen mit deutlich sichtbaren Zellkernen gebaut. Kalkkörperchen ließen sich nicht feststellen.

Ich habe bei den Larven das Vorhandensein eines Cerkomers nicht wahrnehmen können. Möglicherweise steht der Mangel des Cerkomers mit dem Alter der von mir auf experimentellem Wege erhaltenen Larven im Zusammenhang. Im vorderen Körperende fehlten ebenfalls die Börstchen, welche uns von Procercoïden anderer Bandwurmart her bekannt sind.

¹⁾ An dieser Stelle erlaube ich mir Herrn Dr. St. Minkiewicz für die Bestimmung von *Eurytemora hirundo* Giesbrecht meinen besten Dank auszusprechen.

In seinen Studien über die Entwicklungsgeschichte von *Bothriocephalus cuspidatus* Cooper 1917, Darmparasiten aus *Stizostedion vitreum* beschreibt Essex 1928 die große Widerstandsfähigkeit,

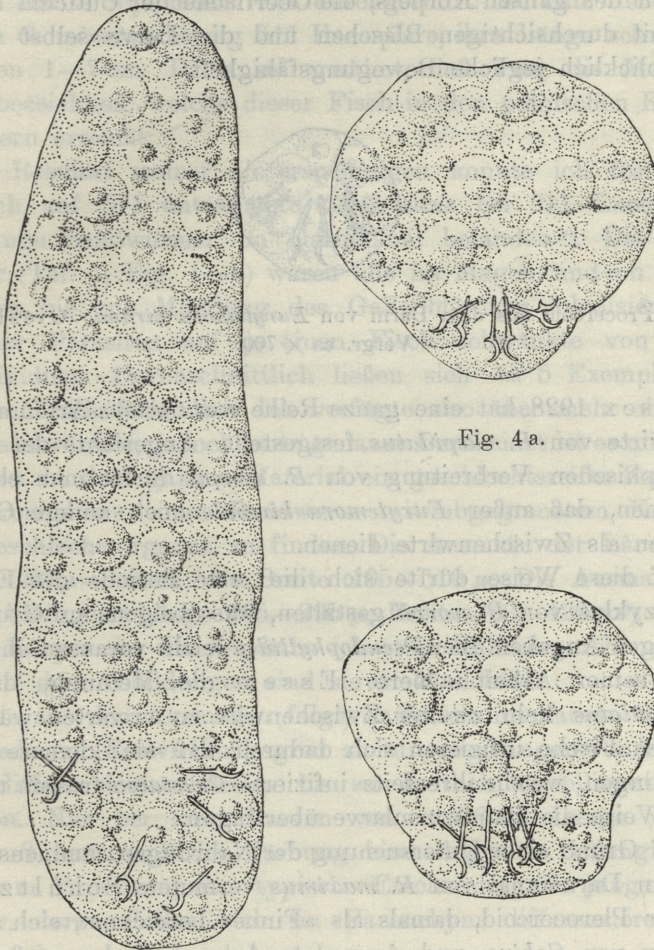


Fig. 4 a.

Fig. 4.

Fig. 4 b.

Fig. 4; 4a; 4b. Procercoiden aus der Leibeshöhle von *Eurytemora hirundo* Giesbrecht. Vergr. ca $\times 700$.

welche dem Procercoid dieses Bandwurmes zukommt. Die Larve wies nämlich noch 10 Minuten nach dem Befreien aus dem Cyclopskörper Bewegungsfähigkeit auf. Ganz anders verhalten sich

die Procercoide von *B. scorpii*. Sie verkümmern sofort nachdem sie aus dem Körper von *E. hirundo* herauspräpariert worden sind und mit Meerwasser in Berührung kommen. Es folgt eine Kontraktion des ganzen Körpers, die Oberfläche der Cuticula bedeckt sich mit durchsichtigen Bläschen und die Larve selbst verliert augenblicklich jegliche Bewegungsfähigkeit.



Fig. 5. Procercoide aus dem Darm von *Eurytemora hirundo* Giesbrecht. Vergr. ca $\times 700$.

Essex 1928 hat eine ganze Reihe von *Cyclops*-Arten als Zwischenwirte von *B. cuspidatus* festgestellt. Angesichts der großen geographischen Verbreitung von *B. scorpii* dürfte man ebenfalls annehmen, daß außer *Eurytemora hirundo* noch andere Copepodenarten als Zwischenwirte dienen.

Auf diese Weise dürfte sich die erste Periode des Entwicklungszyklus von *B. scorpii* gestalten, was übrigens auf Grund der bisherigen Angaben über *Pseudophyllidea* leicht vorauszusehen war.

In seiner Arbeit äußerte Essex die Meinung, daß für *B. cuspidatus* kein zweiter Zwischenwirt zu erwarten wäre. Die größeren Fische infizieren sich dadurch, daß sie kleinere Fische verschlingen, welche ihrerseits infizierte *Crustacea* fressen und auf diese Weise die Bandwurmlarve übertragen.

Auf Grund einer Untersuchung der Nahrungszusammensetzung aus dem Darmkanal von *R. maximus* vermutete Schultz 1911, daß der Plerocercoid, damals als »Finne« bezeichnet, sich in den Muskeln von *Gobius*- und *Ammodytes*-Arten befinden muß.

Da ihm diese Fische nicht zugänglich waren, hat er sich darauf beschränken müssen, halbverdaute Fischmuskeln, die er im Darmkanal von *R. maximus* fand, zu untersuchen. Diese Untersuchungen gaben ein völlig negatives Resultat.

Ganz unabhängig von Schultz'es Vermutung habe ich meine Aufmerksamkeit auf die Nahrungszusammensetzung von *R. maximus* gerichtet. Es war leicht feststellbar, daß *R. maximus* als

Raubfisch große Mengen von *Gobius minutus* verschlingt. Die Untersuchungen über den Darmkanalinhalt und teilweise über die Muskeln¹⁾ dieses Fisches habe ich im Februar, März und Juli — bis zur Hälfte September 1934 durchgeführt. Die Zahl der untersuchten *G. minutus* betrug 511 Exemplare, ihre Länge schwankte zwischen 1—7 cm. Dabei sei erwähnt, daß 7 cm die Maximalgröße bezeichnen, welche dieser Fisch in den polnischen Küstengewässern erreicht.

Als Resultat meiner Untersuchungen konnte ich feststellen, daß sich auf 511 untersuchte *G. minutus* bei 211 Exemplaren sehr junge Bandwürmer im Darmkanal befanden²⁾. Die Bandwürmer (Taf. 1, Fig. 1—8) waren alle im Magen und im Darmabschnitt bis zur Mündung des Gallenbläschen lokalisiert. Die Zahl der Parasiten auf je einen Fisch schwankte von 1 bis 30 Individuen. Durchschnittlich ließen sich ca 5 Exemplare in je einem Fisch feststellen. Ich verfügte also über mehr als Tausend Bandwürmer, jedoch trotz genauer Durchsicht ist es mir nicht gelungen in dem ganzen Material ein geschlechtsreifes Exemplar oder wenigstens einen Bandwurm mit abgegrenztem Komplex von Geschlechtsorganen zu finden. Die Ausmaße der Larven betragen 380 μ —1.8 cm; die Breite 105—510 μ . Die Ausmaße des Scolex betragen: Länge 405—995 μ , Breite 300—420 μ ³⁾.

Im Körper der Larven habe ich stets Kalkkörperchen gefunden. Auf den Abbildungen sind sie nicht sichtbar.

Wie aus den Ausmaßen folgt, hatte ich mit Larven von sehr verschiedenem Entwicklungsgrad zu tun, angefangen von Formen mit undifferenziertem Scolex bis zu deutlich strobilisierten Individuen. Nur bei zwei Larven von ca 1.8 cm Länge (Taf. 1, Fig. 7—8) kam nach der Färbung eine doppelte Zellengruppierung zum Vorschein, eine typische Erscheinung für junge Bandwürmer, deren Zellen sich im Parenchym differenzieren, um

¹⁾ In den Muskeln fand ich nur sehr selten encystierte Metacerkarien von *Cryptocotyle concavum* (Creplin).

²⁾ Der Nahrungsinhalt des Darmes bestand hauptsächlich aus Plankton und zum Teil aus Isopoden, Amphipoden, sehr selten aus jungen Mollusken. Fischreste wurden keine festgestellt.

³⁾ Die Messungen der Larven wurden auf einem in Sublimat fixierten Material durchgeführt. Eier, Coracidia und Procercoide wurden »in vivo« gemessen.

zukünftig das Genitalkomplex zu bilden. Indem ich die aus *R. maximus* befreiten Bandwürmer und die wenigen aus *P. flesus* einer eingehenden Untersuchung unterwarf, fand ich zwischen den reifen Individuen auch sehr junge, den Larven aus dem Darm von *Gobius minutus* entsprechende Formen (Taf. 1, Fig. 9—11). Die Länge der in *R. maximus* gefundenen Larven schwankt zwischen 225 μ und 3.5 mm. Länge des Scolex: 450—750 μ ; Breite 270—300 μ .

Die Ausmaße der Bandwürmer aus *P. flesus* waren folgende: Länge 330—750 μ ; Breite 105—240 μ . Scolex: Länge ca 390 μ ; Breite ca 180 μ . Ich muß hinzufügen, daß nicht alle Bandwürmer einen ausgebildeten Scolex besaßen, da dieser gleichmäßig mit der ganzen Strobila wächst.

Bei einem Vergleich der Larvenausmaße sieht man, daß dieselben großen Schwankungen unterliegen, ganz unabhängig davon, aus welchen der oben genannten Wirtsfische (*R. maximus*, *P. flesus*, oder *G. minutus*) die Larven stammen.

Bei geschlechtsreifen, sowie bei sehr jungen Bandwürmern aus *R. maximus* und *P. flesus*, und bei den Larven aus *G. minutus* ließ sich ein gemeinsames, deutlich hervortretendes Merkmal feststellen. Die Cuticula war nämlich bei allen genannten Formen mit feinen, haarförmigen Zotten besät, welche in den Glieddecken besonders stark zum Vorschein kamen (Taf. 1, Fig. 19).

Der völlige Mangel an einer reifen Bandwurmform in dem so reichen Material aus dem Darm von *G. minutus* brachte mich auf den Gedanken, daß eben diese jugendlichen Bandwürmer das zweite Larvalstadium bilden, mit welchem sich *R. maximus* und *P. flesus* infizieren, indem sie mit Larven behaftete *G. minutus* verschlingen. Diese Vermutung fand ihre Begründung, als ich im Magen eines seziierten, 4 cm langen *P. flesus* kleine *G. minutus* und daneben eine Larve vorfand (Taf. 1, Fig. 16). Im Darm von *P. flesus* steckte eine zweite Larve. Ein gleicher Fall wurde für einen 3.3 cm messenden *R. maximus* notiert. Sein Magen enthielt kleine halbverdaute Fischchen und eine sehr junge Larve.

Um meine Hypothese auf experimentellem Wege zu bestätigen, habe ich Probeinfektionen durchgeführt. Zu diesem Zwecke habe ich 4 *P. flesus* bestimmt, deren Länge 4.8—6.5 cm betrug. Die im Aquarium gehaltenen Fische wurden einer Hungerperiode unterworfen, damit sie vor dem Infektionsversuch ihre Parasiten loswerden, soweit sie irgendwelche besitzen sollten. Wie bekannt,

verlieren die in Aquarien aufbewahrten Fische ziemlich oft manche Eingeweidewürmerarten. Außerdem zwingt eine längere Hungerperiode von *P. flesus* nach der ihm mittels einer Pinzette verabreichten Nahrung zu schnappen. Dadurch ist völlige Sicherheit gewonnen, daß der Fisch die ihm bestimmte Portion wirklich vertilgt. Die Wahl von *P. flesus* war außerdem noch deswegen vorteilhaft, weil, wie aus Tabelle II. ersichtlich ist, *B. scorpii* bei diesen Fischen selten vorkommt und dem Experiment daher eine größere Sicherheit zukommt.

An drei von den vier *P. flesus* wurden die Eingeweide von *G. minutus* verfüttert; einen Fisch behielt ich als Kontrollexemplar. Nebenbei sei betont, daß von den drei ersten Fischen nur einer sehr willig die ihm verabreichte Nahrung vertilgte. Vor der Fütterung wurden die Eingeweide von *G. minutus* daraufhin kontrolliert, ob sie Larven von *B. scorpii* enthalten. Über den Verlauf der Fütterungsprobe gibt Tabelle IV. Aufschluß.

TABELLE IV.

Künstliche Infektion von *P. flesus*.

Länge der Fische in cm	Zahl der Fische	Datum der Infizierung	Datum der Sek- tion	Zahl der gefundenen Bandwürmer	Bemerkungen
I. <i>P. flesus</i> 6·5	1	13. 16. 20. VIII. 34	22. VIII.	1	Die Flunder ass sehr unwillig
II. <i>P. flesus</i> 4·8	1	13. 16. 20. VIII. 34	25. VIII.	32	Die Flunder ass sehr willig
III. <i>P. flesus</i> 6·5	1	20, 22. VIII. 34	27. VIII.	4	Die Flunder ass sehr unwillig
IV. <i>P. flesus</i> 6·5	1	Kontroll- exemplar	22. VIII.	0	—

Aus dem auf Tabelle IV. illustrierten Fütterungsexperimente ist ersichtlich, daß ich eine 100% Infektion erhalten habe. Die Ungleichmäßigkeit in der Zahl der künstlich erzeugten Bandwürmer ist dadurch erklärbar, daß *P. flesus* I und III sehr ungern die ihnen verabreichten Eingeweide von *G. minutus* vertilgten.

Als Wichtigstes wäre hier hervorzuheben, daß beim Endwirte eine Änderung in der Lokalisierung des Parasiten im Darmkanal vorkommt. Bei *P. flesus* steckten alle Würmer im Darm. Dagegen behafteten die Larven, wie schon vorher gesagt wurde, in *G. minutus* hauptsächlich den Magen und einen geringen Teil des Darmes (bis zur Mündung der Gallenblase). Die Ausmaße der erhaltenen Bandwürmer betragen: Länge 510—1050 μ ; Breite bis 285 μ ; Länge des Scolex: 240—750 μ ; Breite des Scolex: 105—375 μ .

Aus obigen Ausmaßen ist ersichtlich, daß die auf experimentellem Wege erhaltenen Bandwürmer einen verschiedenen Entwicklungsgrad aufwiesen. Dies ist leicht erklärbar, da die an *P. flesus* verfütterten Larven ebenfalls von sehr verschiedenem Alter waren. Es konnte auch vorkommen, daß die durch schwache Vergrößerungen kontrollierten Eingeweide auch sehr frühe Stadien enthielten, welche unbemerkt blieben. Das Verwenden stärkerer Vergrößerungen war unmöglich, da dabei die Larven leicht beschädigt werden könnten.

Die Bandwürmer waren noch alle unreif und besaßen keine Geschlechtsorgane (Taf. 1, Fig. 9—11). Da die Larven bis 12 Tage lang im Darm von *P. flesus* verweilten, dürfte man annehmen, daß sie zur Erlangung der Geschlechtsreife eines längeren Zeitraumes bedürfen.

Aus den Ergebnissen meines Experimentes scheint deutlich hervorzugehen, daß sich, in Übereinstimmung mit meiner Annahme *Gobius minutus* als zweiter Zwischenwirt von *B. scorpii* erweist. Andernfalls würden die von einem ungeeigneten Wirte vertilgten Larven einer Verdauung unterliegen, was übrigens eine allgemein bekannte Tatsache ist.

Die Annahme von Essex (1928), daß die Infektion der Fische unmittelbar durch das Verschlingen des infizierten Planktons bewirkt wird, scheint im Fall des *B. scorpii* wenig wahrscheinlich zu sein. Aus Tabelle I. ist ersichtlich, daß die jungen, Plankton und andere niedere Krebse fressenden *R. maximus* gar nicht, oder in ganz geringem Grade mit *B. scorpii* infiziert sind. Nur bei größeren Individuen, die bereits imstande sind sich mit Fischen zu ernähren, tritt eine 100% Infektion auf. Dieselben Verhältnisse lassen sich für *P. flesus* feststellen, welche infolge abweichender Nahrung (fast ausschließlich Wirbellose) einen minimalen Infizierungsgrad aufweisen.

Die Feststellung des zweiten Larvalstadiums im Darmkanal von *G. minutus* scheint mir ein völlig neuer Befund zu sein. Die bis nun bekannten Larven von *Pseudophyllidea* wurden hauptsächlich in der Leibeshöhle und in den Muskeln des Zwischenwirtes festgestellt. Man könnte eine kurzgefasste Charakteristik dieser Larven durchführen, hinsichtlich ihrer Lokalisierung im Körper des Zwischenwirtes und des Entwicklungsgrades ihrer Geschlechtsorgane. Wir hätten also zunächst mit dem Plerocercoid von *Diphyllobothrium latum* zu tun, welches hauptsächlich in Muskeln und Leibeshöhle auftritt, und bei welchem weder Geschlechtsorgane, noch ihre Anlagen feststellbar sind. Als zweite abseits stehende Larve wäre *Sparganum* zu notieren, welches dieselben Eigenschaften, wie die vorige Form, daneben aber auch Fortpflanzungsfähigkeit durch Proliferation aufweist. Als nächste kämen die aus der Leibeshöhle von Fischen stammenden Larven *Schistocephalus* und *Ligula* mit verhältnismäßig gut ausgebildeten Geschlechtsorganen. Schließlich seien *Caryophyllaeus* und *Cyathocephalus* genannt, dem neotenischen Plerocercoid entsprechende Stadien, welche die endgültige Reife im Darm der Fische erreichen.

Wir hätten also einen Übergang von dem völlig geschlechtslosen Plerocercoid von *D. latum* bis zu den neotenischen Plerocercoiden von *Caryophyllaeus* und *Cyathocephalus*.

In dieser Reihe dürfte die von mir gefundene Larve zwischen *Schistocephalus* und *Ligula* einerseits und *Caryophyllaeus* resp. *Cyathocephalus* andererseits stehen, da sie im Darm des Zwischenwirtes auftritt und in Grenzfällen die Anlage von Geschlechtskanälen erlangt.

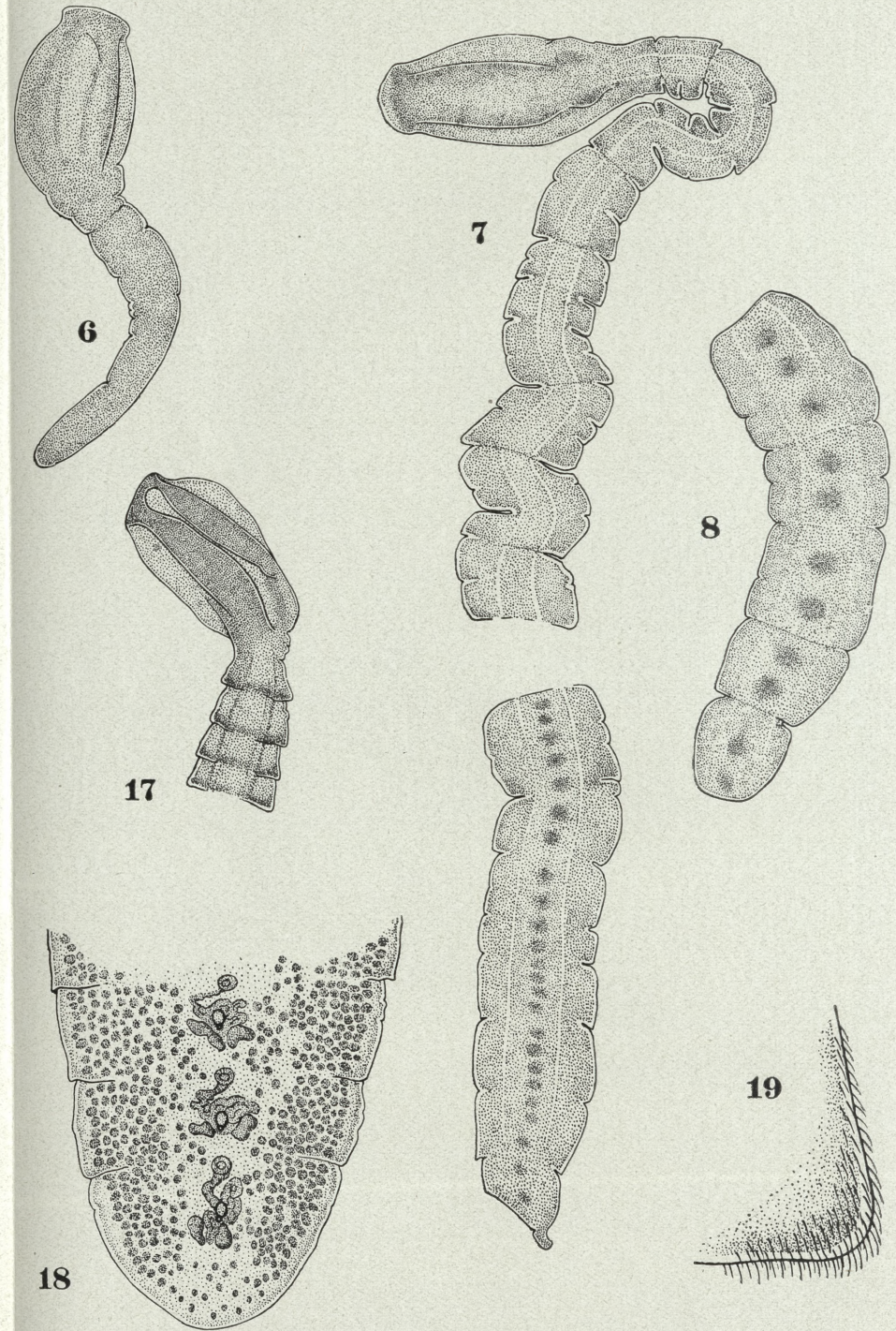
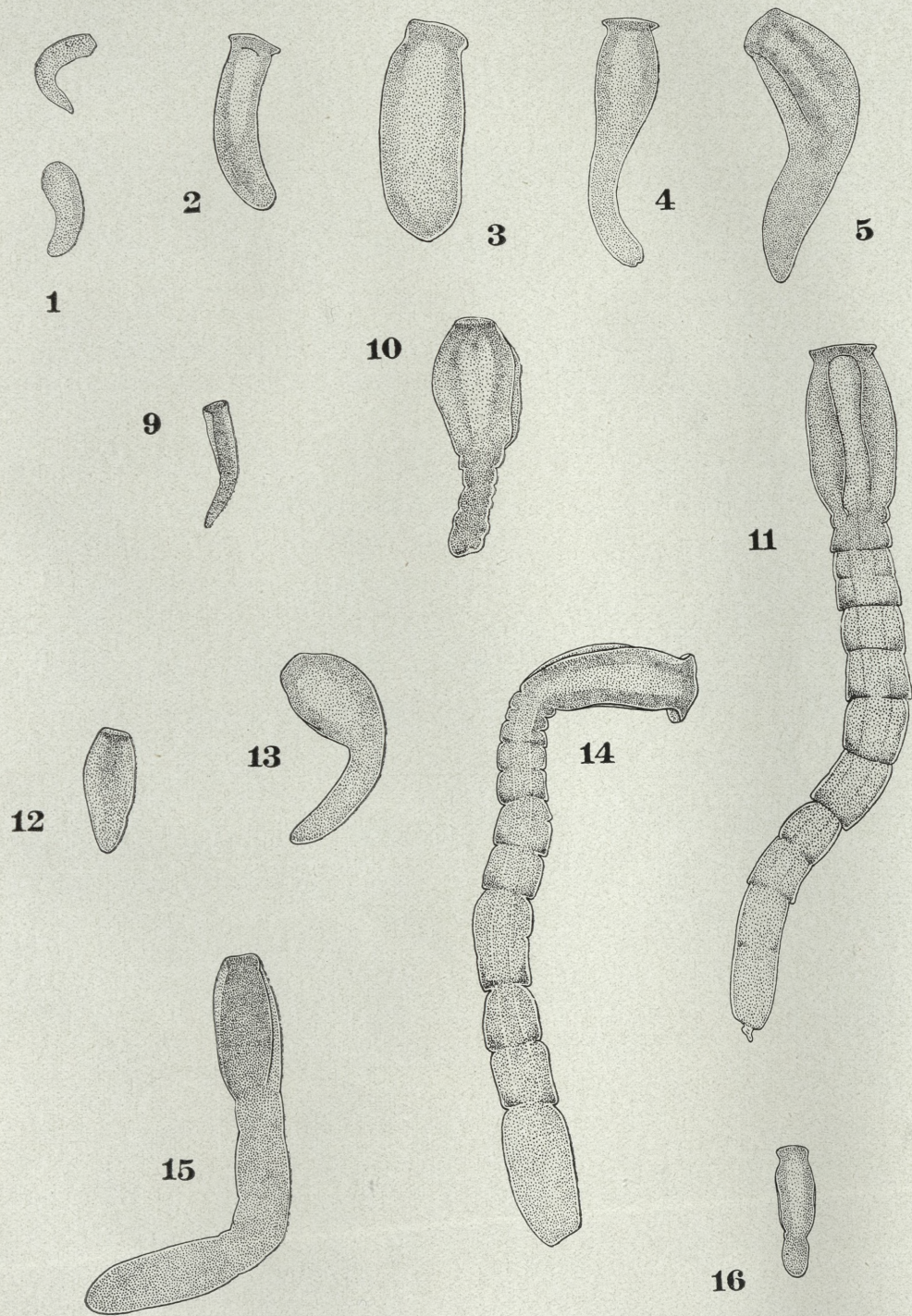
Die obige Arbeit wurde durch ein Subsidium seitens des Fundusz Kultury Narodowej (Nationalkulturfonds) ermöglicht.

Den experimentellen Teil habe ich in der Meeresversuchsstation in Hel (Stacja Morska Hel) durchgeführt. Dem Leiter der Station, Herrn Doc. Dr. M. Bogucki, sowie den Herren K. Demel und B. Dixon spreche ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus für die freundliche Unterstützung, welche ich von ihnen während meines Aufenthaltes in Hel erfahren habe.

Zoologisches Institut der Universität Warszawa und Meeresversuchsstation Hel.

Literaturverzeichnis.

1. Baylis H. A. a. Jones I. E. 1933. Some records of parasitic worms from marine fishes at Plymouth. Journ. Mar. Biol. Assoc. Vol. XVIII. Nr. 2. — 2. Essex E. H. 1927. Early development of *Diphyllbothrium latum* in Northern Minnesota. Journ. Paras. Vol. XIV. — 3. Essex E. H. 1928. On the life-history of *Bothriocephalus cuspidatus* Cooper, 1917, a tape-worm of the wall eyed pike. Trans. Amer. Microsc. Soc. Vol. XLVII. — 4. Ijima I. 1905. On new Cestode larva parasitic in man. Journ. of the Coll. Sc. Imp. Univ. Vol. XX. art. 7. — 5. Iwata S. 1933. Some experimental and morphological Studies on the postembryonal development of Manson's tapeworm *Diphyllbothrium erinacei* (Rudolphi). Jap. Journ. Zool. Trans. and Abstr. Vol. V. Nr. 2. — 6. Janicki C. u. Rosen F. 1917. Der Entwicklungszyklus von *Dibothriocephalus latus* L. Corr.-Blatt für Schweiz. Aerzte. Nr. 45. — 7. Joyeux Ch., Baer J.-G. 1927. Sur quelques larves de Bothriocephales. Bull. Soc. Path. Exot. Vol. XX. Nr. 9. — 8. Joyeux Ch., Baer J.-G. 1931. Évolution des Plérocercoides de *Diphyllbothrium* (Cestodes, Pseudophyllidea). C. R. Soc. Biol. Vol. CVIII. — 9. Joyeux Ch. et Baer J.-G. 1934. Les hôtes d'attente dans le cycle évolutif des Helminthes. Biol. Medic. Vol. XXIV, Nr. 9. — 10. Kobayashi H. 1931. Studies on the development of *Diphyllbothrium Mansoni* Cobbold 1882 (Joyeux 1927). (Reports III, IV, V.) Journ. Med. Assoc. Formosa. Vol. XXX, Nr. 1, 2, 3 (310, 311, 312). — 11. Kotlán A. 1923. Ueber *Sparganum Railleti* Rátz und den zugehörigen geschlechtsreifen Bandwurm *Dibothriocephalus Railleti* Rátz. Centralbl. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 90, H. 4. — 12. Li C. H. 1929. The life-histories of *Diphyllbothrium decipiens* and *D. erinacei*. Amer. Journ. Hyg. Vol. X. Nr. 3. — 13. Linton E. 1900. Fish parasites collected at Woods Hole in 1898. U. S. Fish. Comm. Bull. for 1899. — 14. Linton E. 1901. Parasites of fishes of the Woods Hole region. Op. cit. — 15. Markowski St. 1933. Die Eingeweidewürmer der Fische des polnischen Balticums. Arch. Hydrob. i Ryb. Vol. VII. — 16. Meggitt F. J. 1924. On the occurrence of *Ligula ranarum* in a frog. Ann. Mag. Nat. Hist. ser. IX, Vol. XIII. — 17. Mola P. 1928. Vermi parassiti dell'ittiofauna italiana. Bol. Pesc. Piscic. Idrob. Anno 4 fasc. 4. — 18. Nybelin O. 1918. Zur Frage der Entwicklungsgeschichte einiger Bothriocephalen. Medd. Göteborg. Mus. Zoolog. Adel. XI. — 19. Nybelin O. 1919. Zur Entwicklungsgeschichte von *Schistocephalus solidus* (O. F. Müll.). Centralbl. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83, H. 3. — 20. Okumura T. 1919. An experimental study on the life-history of *Sparganum Mansoni* Cobbold. Kitasato Arch. Exper. Medic. Vol. III Nr. 2. — 21. Redlich E. 1925. *Diaptomus graciloides* (Lilljeborg), ein neuer erster Zwischenwirt von *Dibothriocephalus latus*, nebst Bemerkungen zur experimentellen Entwicklung des Procercoids dieses Cestoden. Arch. Wiss. Prakt. Tierheilk. Bd. 53. H. 4. — 22. Rosen F. 1918. Recherches sur le développement des Cestodes, I. Le cycle évolutif des Bothriocéphales. Bull. Soc. Neuch. Sc. Nat. Vol. XLIII. — 23. Rosen F. 1919. II. Le cycle évolutif de la Ligule. Op. cit. Vol. XLV. — 24. Schnakenbeck W. 1929. *Heterosomata*. Tierwelt d. N. u. Ostsee. — 25. Schultz G. 1911. Untersu-



St. Markowski del.



chungen über Nahrung und Parasiten von Ostseefischen. Inaug. Diss. — 26. Schwartz B. 1924. A new proliferating larval tapeworm from a porcupine. Proc. U. S. Nat. Mus. Vol. LXVI, art. 24. — 27. Sekutowicz St. 1934. Untersuchungen zur Entwicklung und Biologie von *Caryophyllaeus laticeps* (Pall.) Mém. Acad. Polon. d. Sc. et d. Lettres, Sér. B. Sc. Nat. — 28. Stossich M. 1896. Ricerche Elmintologiche. Boll. Soc. Adr. Sc. Nat. i. Trieste. Vol. XVII. — 29. Stossich M. 1898. Saggio di una fauna elmintologica di Trieste e provincie Contermini. Progr. d. Civ. Scuola Real. Super. — 30. Tustanowska A. 1933. Występowanie larw brzódogłowca szerokiego (*Dibothriocephalus latus*) w szczupakach z rynku Warszawskiego i z jeziora Wigry. Medycyna Doświadczalna i Społeczna. Vol. XVI, Z. 1—2. — 31. Vergeer T. 1923. The broad tapeworm in America. Journ. Infect. Dis. Vol. XLIV, Nr. 1. — 32. Vogel. H. 1929. Studien zur Entwicklung von *Diphyllobothrium*. I. Teil. Zeitschr. Paras. Bd. II, H. 2. — 33. Wiśniewski L. W. 1932. *Cyathocephalus truncatus* Pallas. I. Die Postembryonalentwicklung und Biologie. Bull. Acad. Polon. d. Sc. et d. Lettres. Sér. B.: Sc. nat. (II).

Erklärung der Tafel 1.

Fig. 1—8. Plerocercoiden aus dem Darmkanal von *Gobius minutus* in verschiedenen Entwicklungsstadien.

Fig. 1. Jüngstes Stadium. Fig. 7—8. Älteste Stadien.

Fig. 9—11. Experimentell erzeugte Bandwürmer durch das Infizieren von *Pleuronectes flesus* mit Larven aus *Gobius minutus*.

Fig. 12—15. Junger *Bothriocephalus scorpii* aus dem Darm von *Rhombus maximus*.

Fig. 16. Junger *Bothriocephalus scorpii* aus dem Darm von *Pleuronectes flesus*.

Fig. 17—18. *Bothriocephalus scorpii* aus dem Darm von *Rhombus maximus*: Scolex und Endglied der Strobila mit Genitalanlage.

Fig. 19. Gliedausschnitt von *Bothriocephalus scorpii* mit haarförmigen Zotten.

Fig. 1—18. Vergr. ca $\times 40$; Fig. 19. Vergr. ca $\times 700$.

— *Entwicklung der Bakterienfauna des Darmes*. Diss. —
 28. Schwartz M. 1924. A new bacterium from a human
 origin. *Proc. U. S. Nat. Mus.* Vol. LXXVI, ser. 2, p. 24. —
 1931. Untersuchungen zur Entwicklung und Biologie von *Colonylla*
Lawsoni (Fall.) Mém. Acad. Sci. d. Indon. Sér. B. 50. Nat. —
 29. Stancovich M. 1928. Klinische Bakteriologie. Koll. Soc. Adv. Ser. Nat.
 i. Trieste. Vol. XVII. — 30. Stancovich M. 1928. Saggio di una fauna di
 microbiologia di Trieste e provincia. *Compt. Rend. Acc. Sci. Univ. Trieste*.
 Suppl. — 31. Tulasne A. 1833. *Wasserpflanzen* bzw. *hydrologische*
zoologie (*Hydrozoologie*). In: *Wissenschaftliche Reise nach* *Wasserpflanzen*
zoologie (Wissenschaftliche Reise) v. Kaspary, p. 24. *Botan. Zeit.* 1833, N. 1-2. —
 32. Voracek T. 1922. The bread fungus in Austria. *Ann. Inst. Bot.*
Prag. Vol. XLII, Nr. 1. — 33. Vogel H. 1823. Studien zur Entwicklung von
Diphtheria. *Archiv. Naturh. Hist.* 11. B. 2. — 34. Warkentin
 M. J. W. 1922. *Quintessenz* *truncatus* *Palmeri*. *Die* *Hydrozoologie*
entwicklung und Biologie. *Bull. Acad. Polon. Sci.* 50. de 4. *Partie*, 28. p.
 50. nat. (II)

Bildung der Fauna I.

Fig. 1-2. *Rhodospirillum rubrum* aus dem Darmkanal von *Gobius* *minimus* in
 verschiedenen Entwicklungsstadien.
 Fig. 3. Jüngeres Stadium. Fig. 4-5. Älteres Stadium.
 Fig. 6-11. Experimentell erzeugte Bandwürmer durch das Infizieren von
Gobius min. mit Larven aus *Gobius min.*
 Fig. 12-15. Jüngerer *Bacteroides* *sp.* aus dem Darm von *Momus*
minimus.
 Fig. 16. Jüngerer *Bacteroides* *sp.* aus dem Darm von *Momus*
minimus.
 Fig. 17-18. *Bacteroides* *sp.* aus dem Darm von *Momus*
minimus; *Gobius* und *Bacteroides* *sp.* mit *Gobius*
 Fig. 19. Gleichzeitige von *Bacteroides* *sp.* mit *Bacteroides*
sp.
 Fig. 1-18. Vergr. ca. X 10; Fig. 19. Vergr. ca. X 100.

***Cercaria dubia* sp. n. i jej dalszy rozwój w *Herpobdella atomaria*. — *Cercaria dubia* sp. n. und deren weitere Entwicklung in *Herpobdella atomaria*.**

Mémoire

de M. L. W. WIŚNIEWSKI,

présenté le 7 janvier 1935, par M. J. Tur m. c.

(Planche 2).

Die genannte Furkocerkarie wurde von mir in der Schnecke *Physa fontinalis* im Fluße Lwa auf dem Gebiete des Fideikomisses Dawidgródek (Polesie) gefunden¹⁾. Die Infizierung der Schnecken erwies sich als gering, wobei die reifen Cercarien im Herbst öfters als im Sommer vorkommen. Auf 413 gesammelte, gezüchtete und hiernach überprüfte Exemplare waren nur 9 Schnecken infiziert, was kaum etwas mehr als 2% ausmacht.

Die reifen Cercarien schlüpfen aus dem Wirtskörper bei Tag und Nacht aus, am häufigsten jedoch am Vormittag. Ihre Zahl ist allerdings trotzdem nicht groß — einige Dutzend bis hunderteinige pro Tag — was sich durch die nicht allzu große Zahl der Sporozysten in der Schneckenleber erklären läßt. Im Wasser bewegt sich die Cercarie lebhaft, doch nicht fortdauernd, da ihre Regsamkeit in kurzen Pausen von Bewegungslosigkeit unterbrochen wird. Im Wasser hängt die Cercarie mit dem Schwänzchen nach oben, die Furkääste leicht auseinandergefaltet; dieselbe Lage nimmt sie ebenfalls beim Schwimmen ein.

Im lebenden Zustande schwankt die Länge des Körpers der Cercarie maximal zwischen 0.13—0.28 mm, die Breite derselben

¹⁾ Die Untersuchungen konnte ich dank einer Subvention aus den Geldmitteln des Nationalkulturfonds (Fundusz Kultury Narodowej) durchführen.

zwischen 0·056—0·028 mm. Im Ruhezustande, in dem die Ausmaße der Cerkarie den Durchschnitt repräsentieren, schwankt die Länge derselben zwischen 0·18—0·21 mm, die Breite zwischen 0·048—0·04 mm. Der Stiel des Schwänzchens ist 0·12—0·16 mm, die Furka 0·14—0·18 mm lang, die Breite des Stieles ist überall gleichmäßig und beträgt 0·03 mm; die Furkaäste sind um die Hälfte schmaler. Infolge der geringeren Gestalts- und Größeveränderungen des Schwänzchens ist dasselbe im Streckungszustande deutlich kleiner als der übrige Körper; im Kontraktionszustande ist das Verhältnis selbstverständlich umgekehrt. Im Ruhezustande ist der Körper der Cerkarie — wie aus den angegebenen Zahlen folgt — ein wenig länger als der Stiel des Schwänzchens. Die Gestalt des Körpers ist normalerweise spindelförmig, der Hintertheil an der Stielbasis ist jedoch etwas breiter als die Mundsaugnapfgegend (Taf. 2, Fig. 2). Im Streckungszustande wird die Cerkarie stäbchenförmig, im Kontraktionszustande kann sie eine birnförmige Gestalt annehmen.

Der Mundsaugnapf ist länglich und eiförmig. Seine Ausmaße im Lebendzustande betragen $0\cdot033 \times 0\cdot024$ — $0\cdot035 \times 0\cdot022$ mm. Er zeichnet sich durch einen einheitlichen Bau aus; im Bau der Wände läßt sich nämlich zwischen dem Vorderteil und dem Hintertheil kein Unterschied feststellen. Kopfdrüsen und Muskelfibrillen sind im Saugnapf nicht vorhanden.

Der Bauchnapf liegt unterhalb der Körpermitte. Er ist größer als der Mundnapf ($0\cdot035 \times 0\cdot030$ — $0\cdot033 \times 0\cdot035$ mm), wobei sein ovaler manchmal fast runder Umriß diesen Unterschied noch stärker hervorhebt. In seinen Wänden treten sehr deutliche Muskelfibrillen auf. An lebendem Material lassen sich oft zwei Abschnitte unterscheiden, ein basaler (peripherer, von oben betrachtet) und ein rings um die Napföffnung gelegener (Taf. 2, Fig. 2). Der letzte Abschnitt ist stark kontraktile, was in der wesentlichen Dehnung bzw. Zusammenziehung der Napföffnung zum Ausdruck kommt. Auf Präparaten treten diese beiden Abschnitte nicht so charakteristisch zutage. Rings um die Öffnung liegen in drei konzentrischen Reihen kleine Stacheln.

Von der subapikal gelegenen Mundöffnung zieht sich bis über das Saugnapfgebiet hinüber ein langer, röhrenförmiger Praeopharynx. Der schwach angedeutete Pharynx ist rundlich, der Oesophagus ist lang und teilt sich auf der Höhe der Penetrations-

drüsen in zwei Darmäste; die Darmgabelung liegt somit näher dem Bauchnapf als dem Pharynx. Die Darmäste sind kaum sichtbar, ihr Lumen vormochte ich nicht zu sehen; der Darm tritt als eine epithelial gelagerte Zellenreihe auf. In der Bauchnapfgegend machen beide Darmäste jederseits einen deutlichen Bogen, umfassen den Bauchnapf und enden etwa in der Mitte zwischen dem Bauchnapf und dem Körperende.

Die zwei Paare der Penetrationsdrüsen liegen oberhalb des Bauchsaugnapfes (Taf. 2, Fig. 2). Dank der Grobkörnigkeit ihres Plasmas, ihrer schwachgrünen bis leichtbraunen Schattierung und dank der Größe der Kerne fallen sie im Lebendzustande gleich auf und treten gegenüber allen übrigen Larvenorganen auf den ersten Plan. Ventral kommen drei Drüsen zum Vorschein; zwei liegen lateral am oberen Rande des Bauchsaugnapfes, die dritte oberhalb derselben. Die vierte Drüsenzelle liegt dorsal, auf der Medianlinie und ist im Verhältnis zu allen anderen am meisten nach unten verschoben. Die ventralen Drüsen bilden ein Dreieck, dessen Seiten den Darmgabeln und dem oberen Bauchsaugnapfrande entsprechen. Die Ausführungsgänge der Drüsenzellen verlaufen paarweise auf jeder Seite, durchbrechen die Wand des Mundsaugnapfes und münden auf der Dorsalseite der Mundöffnung. Bis zur Praepharynxhöhe gelingt die Auffindung der einzelnen Ausführungsgänge nicht immer; deutlich treten sie als gesonderte Gänge erst unterhalb des Mundnapfes auf.

Das Exkretionssystem kann man nur in seinem Endteil leicht beobachten. Die Wimperflämmchen sowie die hier beginnenden Kapillaren sind vom Gewebe bedeckt und werden erst nach stärkerer Abplattung des Körpers, oft erst nach Färbung mit Neutralrot, sichtbar. Das kleine Exkretionsbläschen besitzt oben zwei Diverticula, die beiderseits in dünne Sammelkanälchen übergehen (Taf. 2, Fig. 1). Unterhalb des Bauchnapfes bildet das Sammelkanälchen eine Schlinge, um sich dann gleich darauf in zwei Kanälchen zu spalten, von welchen das eine nach dem Oberteil, das zweite nach dem Unterteil führt. Eine Kommissur zwischen den Sammelkanälchen der linken und der rechten Seite konnte ich weder oberhalb noch unterhalb des Bauchnapfes feststellen. Im ganzen sind 7 Paar Wimperflämmchen vorhanden: 5 liegen im Körper, zwei im Schwänzchen. Das erste Paar liegt jederseits zwischen dem Mundnapf und dem Schlund, das zweite zwischen

dem Schlund und den Penetrationsdrüsen, das dritte auf der Höhe des Bauchnapfes, die letzten zwei unter dem Bauchnapf. Im Körper liegen die Flimmer einzelwise, im Schwänzchen dagegen befindet sich auf jeder Seite, in der Nähe der Schwänzchenbasis je ein Paar. Da alle untersuchten Cercarien freiwillig aus dem Wirtskörper ausschlüpfen, ist die Eventualität, daß diese Zahl der Terminalzellen sich auf die noch unreife Form bezieht, in diesem Falle ganz ausgeschlossen. Die Formel der Terminalzellen würde hier also folgendermaßen lauten: $2[(3) + (2 + (2))] = 14$.

Entlang des ganzen Schwänzchenstieles verläuft ein Exkretionskanälchen, das sich an Furkabasis gabelt, in die Furkaäste übertritt und an der Innenseite von deren Ende nach außen mündet.

Am Kopfe und Vorderkörper ist die Kutikula mit Stacheln besetzt (Taf. 2, Fig. 3). Der Kopf ist weit stärker als die übrigen Körperteile bewaffnet. Mit der Entfernung von der Kopfspitze nehmen die Stacheln an Größe und Dichtigkeit ab, so daß sich ihre Anwesenheit unterhalb des Bauchnapfes nicht mehr feststellen läßt. Auf der Dorsalseite des Kopfes treten in der Nähe der Penetrationsdrüsenmündung zwei Reihen von größeren Stacheln auf, je acht in jeder Reihe. Sie liegen auf der durch Cort als *area aspinosa* bezeichneten Stelle, hinter der erst die Reihen der Kopfstacheln beginnen. Auf der Kutikula des Schwänzchens treten verhältnismäßig dicht angeordnet lange Borsten auf, von vielen Autoren als Sinnesborsten bezeichnet. Auf der Furka vermochte ich dagegen keine Stacheln festzustellen.

Oberhalb des Bauchnapfes, auf der Höhe der Penetrationsdrüsen treten jederseits stark lichtbrechende stäbchenförmige Gebilde von unbestimmten Bau auf. Sie gleichen vollkommen den sog. pigmentlosen Augen und ich fasse sie eben als solche auf (Taf. 2, Fig. 2).

Der Stiel des Schwänzchens besitzt keine Schwanzkörperchen (caudal bodies). Durch die Mitte des Schwänzchens zieht sich ein Exkretionskanälchen, welches von einer Plasmaschicht umgeben ist. Von dieser Schicht laufen zur Kutikula dünne Fasern aus. Unmittelbar unter der Kutikula liegt eine Schicht von muskelartigen Zellen; überdies sind im ganzen Schwänzchen sowohl im Stiel wie in den Furkaästen zerstreut Zellen vorhanden.

Die Entwicklung der Cercarien findet in langen, dünnen Sporozysten statt. Die jungen Sporozysten zeichnen sich durch einen

einheitlichen Bau aus; ihre Wände sind mit winzigen Körnchen besät. Ältere Sporozysten, die schon entwickelte Cercarien enthalten, werden ähnlich wie die übrigen Furkocercarien, an einigen Stellen abgeschnürt und in einige größere oder kleinere Taschen geteilt. An den Abschnürungsstellen reißen die Sporozysten auf, worauf die reifen Cercarien durch die künstlich entstandenen Öffnungen nach außen schlüpfen. Eine spezielle Geburtsöffnung ist in den Sporozysten nicht vorhanden. Infolge stärkerer Pigmentanhäufung sind ältere Sporozysten schwachbraun gefärbt.

Aus der mir bekannten Cercariengruppe mit vor dem Bauchsaugnapf gelegenen Penetrationsdrüsen kommen für einen Vergleich mit der eben beschriebenen Cercarie nur folgende in Betracht: *Cercaria* A. Szidat, *C. sanioanensis* Miller, *C. douglasi* Cort, *C. marcianae* Cort, *C. helvetica* XIV Dubois, *C. helvetica* XXIX Dubois, *C. helvetica* XXXIV Dubois. Infolge abweichenden Baues des Schwänzchens bzw. des Darmkanals schließe ich die zu demselben Cercarientypus ebenfalls gehörenden: *C. letifera* Fuhrm., *C. tenuis* Miller, *C. helvetica* XIII Dubois und *C. anhwaiensis* Faust aus. *C. gyrynipeta* Lutz kann infolge der geringen Deutlichkeit ihrer Penetrationsdrüsen, die in unserem Falle ein sehr charakteristisches Merkmal bilden, sowie in Anbetracht ihrer Fortentwicklung in den Kaulquappen, mit der untersuchten Cercarie nicht identisch sein. *C. molluscipeta* Lutz und *C. bdello cystis* Lutz kommen infolge ihrer mangelhaften Beschreibung für eine vergleichende Analyse kaum in Betracht.

Cercaria A. Szidat, von Szidat (12), Mathias (8, 9), Dubois (2) und Wesenberg-Lund (18) beschrieben, wurde mehrfach nur in *Limnea palustris* und *L. stagnalis* gefunden. In der Aufzählung der anatomischen Merkmale derselben stimmen alle erwähnten Forscher vollkommen überein. Auf Grund dieser übereinstimmenden Darstellung unterscheidet sich *Cercaria* A. von der untersuchten Cercarie durch 1) den Mangel an pigmentlosen Augen, 2) die Vereinigung der Exkretionssammelkanälchen oberhalb des Bauchsaugnapfes, 3) den Mangel an Sinnesborsten an dem Schwänzchenstiel, 4) einen anderen Zwischenwirt und 5) möglicherweise auch durch die abweichende Formel der Terminalzellen; nach Dubois dürften 20 Wimperflämmchen vorhanden sein, Wesenberg-Lund konnte aber nur 14 zählen. Die aufgezählten Unterschiede machen eine Identifizierung beider Cer-

karien, wenigstens auf Grund der bis nun bekannten Tatsachen unmöglich, obwohl andere Merkmale, wie die charakteristische Anordnung der Penetrationsdrüsen, die ähnlichen Ausmaße und vor allem die große Ähnlichkeit der aus der untersuchten Cercarie stammenden Tetrakotyle mit der aus *Cercaria A.* stammenden *Tetracotyle cornuta*, auf eine nahe Verwandtschaft hinweisen würden.

Pigmentlose Augen fehlen ebenfalls bei *C. sanjuanensis*, *C. helvetica XIV*, *C. helvetica XXIX* und *C. helvetica XXXIV*. Überdies weist auch der Unterschied in der Zahl der Wimperflämmchen bzw. in der Größe der Körperausmaße darauf hin, daß von diesen Cercarien keine mit der eben beschriebenen identisch ist.

Pigmentlose Augen besitzen unter den Cercarien mit vor dem Bauchsaugnapf gelegenen Penetrationsdrüsen nur *C. douglasi* und *C. marci*. Von allen Cercarien ist *C. douglasi* unserer Cercarie am meisten ähnlich. *C. douglasi* wurde von Cort (1) in verschiedenen Arten von *Physa* und *Limnea* gefunden. Der Unterschied im Bau beider Cercarien betrifft 1) die Saugnapfe: der Bauchnapf von *C. douglasi* ist evident kleiner als der Mundnapf, 2) die Lage sowie die Größe der Penetrationsdrüsen: bei *C. douglasi* liegen dieselben paarweise seitlich und sind verhältnismäßig klein, 3) die Zahl der Terminalzellen: bei unreifen Exemplaren von *C. douglasi* fand Cort dieselbe Anzahl von Wimperflämmchen, die ich bei meiner Cercarie zählte, bei den reifen Cercarien betrug jedoch die Zahl der Wimperflämmchen 20, 4) die Anwesenheit der Sammelkanälchenkommissur bei *C. douglasi*.

Wie aus dem obigen folgt, kann die untersuchte Cercarie mit keiner bis nun bekannten verwandten Cercarie ohne weiteres identifiziert werden. Andererseits sind die Abweichungen im Bau derselben nicht derart scharf und klar, daß sich ihre gänzliche Absonderung entschieden verfechten ließe. Es kommt noch dazu die Ähnlichkeit der aus derselben Cercarie stammenden Tetrakotyle mit der *Tetracotyle cornuta* und *T. flabelliformis* van Haitsma. In Anbetracht dessen schlage ich für dieselbe mit Vorbehalt die Bezeichnung *Cercaria dubia* sp. n. vor.

Die Feststellung der weiteren Entwicklung der untersuchten Cercarie erfolgte mittels einiger Versuche und Nachforschungen. Das Experiment sollte die Frage beantworten, welche Form als

zweiter Zwischenwirt in Betracht käme; die Sektionsnachforschungen bezweckten die Überprüfung und Feststellung des eigentlichen in der Natur auftretenden Wirtes.

Als Material für die Versuche diente *Herpobdella atomaria* und *Physa fontinalis*.

I. Die für das Experiment bestimmten Egel wurden innerhalb drei Wochen isoliert gehalten und vor jeder Berührung mit irgendeiner Cercarie geschützt. Nachher legte ich dieselben in ein Gefäß mit einer entsprechenden Anzahl Wasserpflanzen, in dem außer der infizierten *Physa fontinalis* keine anderen Schnecken vorhanden waren. Nach einigen Tagen nahm ich die Egel aus dem Gefäß heraus und hielt sie noch, um ältere Formen zu erhalten, eine Zeit lang in einem anderen Gefäß. Resultat dieses Versuches enthält die folgende Tabelle I.

TABELLE I.

Dauer des Experimentes	Zahl der Egel	Zahl der Egel nach dem Exper.	% der infiz. Egel nach d. Experim.	Zahl der Tetrakotylen in den Egel
9. IX—18. IX	11	7	100	80—400
19. IX—26. IX	10	8	100	20 - 40

Der Versuch wurde zweimal durchgeführt. In beiden Fällen war das Ergebnis in 100% positiv (die während des Versuches zugrundegegangenen Egel nicht mitgerechnet). Verschieden war nur die Intensität der Infektion. Während im ersten Versuche die Zahl der jungen, nichtenzystierten Tetrakotylen, in den einzelnen Egel 80—400 betrug, sank sie im zweiten Versuche auf 20—40. Dieser Unterschied ist eine Folge der geringeren Anzahl der aus der Schnecke herausgeschlüpften Cercarien während des zweiten Versuches. Ziehen wir nun 1) die 100% Infektion, 2) den Massencharakter der Infektion, insbesondere im ersten Versuche, 3) das Vorhandensein der jungen Entwicklungsstadien, sowie 4) den Umstand, daß alle Stadien ungefähr auf derselben Entwicklungsstufe standen, in Betracht, so unterliegt es gar keinem Zweifel, daß die Larven in die Egel nur auf dem Wege der künstlichen Infektion gelangten. Die Kontrolliegel waren entweder ganz infek-

tionsfrei oder enthielten nur einzelne ältere Tetrakotylen. Außer diesen beiden Versuchen wurden zwecks Feststellung des Entwicklungstempos (s. u.) noch einige andere, ohne Kontrollversuch, angestellt; das Ergebnis war stets positiv.

II. In diesem Experimente hielt ich infektionsfreie Exemplare von *Physa fontinalis* mit cercarienenthaltenden Exemplaren in einem Gefäße zusammen. Wie aus den dreimal angestellten Versuchen folgt (Tabelle II), kann *Ph. fontinalis* ebenfalls als Zwischenwirt für die untersuchte Cercarie dienen. Im Vergleich mit den vorherigen Versuchen fällt jedoch, trotz der längeren Dauer des Experimentes und trotz ähnlicher Cercarienanzahl, der kleinere Prozentsatz der Infizierung auf.

TABELLE II.

Dauer des Experimentes	Zahl der Schnecken	Zahl der Schnecken nach dem Experim.	% der infiziert. Schneck. nach dem Experim.	Zahl der Tetrakotylen in den Schnecken
10. VIII— 18. VIII	14	11	45	1—30
1. IX—25. IX	28	19	84	1—60
19. IX—10. X	55	35	51	2—30

Nach den Resultaten der Experimente zu schließen, kann sowohl *Herpobdella* als auch *Physa* der Infizierung unterliegen. Erst die Durchsicht der in der Natur infizierten Egel und Schnecken entpuppt aber den eigentlichen Zwischenwirt. Von 114 untersuchten Egeln waren 57 d. h. 50% infiziert. Die Intensität der Infektion war nicht allzu groß: 73% aller infizierten Egel enthielt 1—5 Tetrakotylen, über 30 Stück enthielten nur 8% der infizierten Egel, in dem Rest (19%) traten Mittelwerte auf. Als typisch für die natürlichen Verhältnisse kann somit gelten, daß einzelne Egel nur wenige Tetrakotylen enthalten, daß dagegen der Prozentsatz der Infizierung sehr groß ist, da jeder zweite Egel infiziert war.

Außer *Physa fontinalis* habe ich noch einige andere, im Lwafluß gesammelte, Schneckenarten untersucht (Tabelle III). Von denselben war prozentmäßig *Coretus corneus* am meisten infiziert;

man muß aber hervorheben, daß er sich experimentell nicht infizieren läßt. Ziehen wir nun angesichts dieses Umstandes sowie des Umstandes, daß der Prozentsatz der Infizierung anderer Schnecken außerordentlich klein ist, nur *Ph. fontinalis* in Betracht, so muß festgestellt werden, daß im Vergleich mit *Herpobdella atomaria*, *Physa fontinalis* nur gelegentlich den zweiten Zwischenwirt stellt, m. a. W. sozusagen ein Nebenzwischenwirt ist. Sowohl aus den Resultaten der Experimente wie auch aus den angeführten Ziffern ergibt sich klar, daß als typischer zweiter Zwischenwirt in der Natur *Herpobdella atomaria* auftritt.

TABELLE III.

Wirtsorganismus	Zahl der untersuchten Wirtsorganismen	Zahl der infiz. Wirtsorg.	Prozentsatz der Infiz.
<i>Herpobdella atomaria</i>	414	57	50
<i>Physa fontinalis</i>	413	7	1·7
<i>Coretus corneus</i>	400	16	4
<i>Limnea stagnalis</i>	187	0	0
<i>Stagnicola palustris</i>	80	0	0
<i>Spiralina vortex</i>	300	1	0·33
<i>Planorbis planorbis</i>	400	1	0·2

Um das Entwicklungstempo sowie die Veränderungen während der Umwandlung der Cercarie in die Tetrakotyle zu verfolgen, habe ich die experimentell infizierten Egel in gewissen bestimmten Zeitabständen untersucht. Auf diese Weise konnte ich mich überzeugen, daß 24—36 Stunden nach dem Eindringen der Cercarie, an derselben außer dem Verlust des Schwänzchens noch gar keine sichtbaren Veränderungen zu bemerken waren (Taf. 2, Fig. 4). Sowohl hinsichtlich des Ausmaßes wie auch des anatomischen Baues waren sie genau so unverändert, wie nach dem Ausschlüpfen aus der Schnecke. Im Wasser gehen sie, im Gegensatz zu den älteren, aus den Egelstammenden Formen, nicht so rasch zugrunde. Die ersten Veränderungen werden erst nach zwei Tagen Aufenthaltes im Egelkörper sichtbar; sie betreffen vor allem die Größe sowie die Gestalt des Körpers (Tabelle IV). Der

Körper wächst und wird breiter u. z. verbreitert er sich am meisten in der Mitte, ungefähr auf der Höhe des Bauchsaugnapfes, so daß er hier 2—3 Mal so breit als anderswo ist; infolgedessen verändert sich ebenfalls die allgemeine Gestalt der Cercarie (vergl. Taf. 2, Fig. 5). Was die Organe anbelangt, so werden nur die pigmentlosen Augen rückgebildet. Die Penetrationsdrüsen dagegen befinden sich jetzt anscheinend auf der Höhe ihrer Tätigkeit, was schon daraus zu folgen scheint, daß ihr Plasma noch körniger und dadurch noch deutlicher wird. Bloß die Kerne der Drüsenzellen werden unsichtbar. Die betreffende Beobachtung steht gewissermaßen im Widerspruch mit derjenigen von Szidat (12), der bei *Tetracotyle cornuta*, aus *Limnea palustris* stammend, als erste Veränderung im Cercarienkörper die Rückbildung der Penetrationsdrüsen feststellte. Auch Mathias (9) behauptet von derselben Tetrakotyle, daß er 48 Stunden nach dem Eindringen der Cercarie keine Penetrationsdrüsen mehr in derselben fand. Bei den von mir untersuchten Cercarien verschwanden die Penetrationsdrüsen erst ungefähr nach einer Woche, manchmal sogar später. Die Rückbildung erfolgt stufenweise, der Umfang der Penetrationsdrüsen vermindert sich allmählich, zuletzt bleibt ein leerer Raum zurück. In derselben Zeit verschwinden auch die Stacheln an der Kutikula und an den Saugnapfen und die Beweglichkeit der Larve erlahmt allmählich. Die in der ersten Phase festgesetzte Gestalt bleibt unverändert, trotzdem der Körper weiterhin intensiv wächst und nach einer Woche die eingedrungene Cercarie fast zweimal an Länge und dreimal an Breite übertrifft (Taf. 2, Fig. 5; Tabelle IV). Das Gewebe unterliegt sichtbaren Veränderungen. Die Zellen werden deutlicher, hie und da bilden sich Zellengruppen, die als helle Bläschen über den ganzen Körper zerstreut sind. Gleichzeitig beginnt die Ablagerung feiner, stark lichtbrechender Körnchen; anfangs sammeln sich dieselben in zwei Reihen in der Mitte des Körpers an, im Laufe der weiteren Entwicklung beginnen sie auch die übrigen Stellen auszufüllen. Im Zusammenhang damit wird der Körper dunkler, trüb und undurchsichtig. Die Saugnapfe sind größer als bei der Cercarie, obwohl ihr Umriß weniger deutlich ist (Tabelle IV); diese Erscheinung steht mit der beginnenden Rückbildung der Saugnapfe im Zusammenhang, die vor allem in der Muskelrückbildung im Bauchnapf angezeigt wird. In lebenden Exemplaren ist der Darmkanal ganz

gut sichtbar, auf Präparaten ist die Unterscheidung desselben viel schwieriger. In reines Wasser übertragen, stirbt die Form sehr rasch ab, in physiologischer Lösung läßt sie sich bis 24 Stunden am Leben erhalten. Wie aus dieser Darstellung folgt, hat sich das neue Milieu nach einer Woche in der inneren Organisation der Cercarie deutlich ausgewirkt.

Nach Ablauf von zwei Wochen wird der Körper noch dunkeler und undurchsichtiger. Der Darmkanal wird unsichtbar, nur sehr selten kann man den stark veränderten Pharynx und Oesophagus unterscheiden. Die beiden Saugnapfe sind trotz starker Rückbildung noch immer sichtbar. In dieser Phase wird die Larve gegen Änderungen des osmotischen Druckes noch empfindlicher. Alle diese Veränderungsprozesse verlaufen ungefähr so, wie sie Mathias (9) und Szidat (12) dargestellt haben, nur in weit mäßigerem Tempo. Szidat (14) und Lutz (7) bringen diese Erscheinungen mit der holometabolen Metamorphose in Zusammenhang, die nach ihrer Ansicht während der Umwandlung der Cercarie in die Tetrakotyle stattfindet.

TABELLE IV.

Wachstumsstadium	Körperlänge × Körperbreite in mm	Die Ausmaße des Mundnapfes in mm	Die Ausmaße des Bauchnapfes in mm	Anmerkungen
2-4 Tage	0.19-0.28 × 0.10-0.15	0.037-0.044 × 0.026-0.032	0.033-0.035 × 0.033	
1 Woche	0.30-0.35 × 0.11-0.16	0.044-0.046 × 0.030-0.033	0.033-0.037 × 0.033-0.035	Rückbildung der Drüsen
2 Woche	0.32-0.35 × 0.12-0.23	0.044-0.05 × 0.033-0.04	0.035-0.04 × 0.035-0.04	Rückbildung des Darmes
3 Woche	0.44-0.60 × 0.21-0.32	0.044-0.055 × 0.04-0.05	0.04-0.052 × 0.04-0.052	
4 Woche	detto	detto	detto	Anlage des Haftapparates
6-7 Woche	0.35-0.37 × 0.21-0.28	0.044-0.055 × 0.04-0.05	0.55 × 0.55	Tetrakotyle ohne Zyste
	0.35-0.56 × 0.28-0.46	0.055-0.063 × 0.055-0.063	0.066-0.077 × 0.066-0.077	Tetrakotyle mit Zyste

Nach drei Wochen treten die vorher erwähnten Veränderungen noch deutlicher in Erscheinung (Taf. 2, Fig. 6). Die Gewebe werden lose, was sich auf den Präparaten in großen Zwischenzellenräumen ausdrückt. Die Larven erreichen ihren maximalen Wuchs (Tabelle IV). Im Laufe von 4—5 Wochen nach dem Eindringen der Cercarie tritt in der Organisation des Larvenkörpers ein Wendepunkt ein. Der Körper verlängert und verbreitert sich nicht mehr, dagegen läßt sich eine deutliche Zunahme der Zellen, insbesondere in der Peripherie, zu beiden Seiten des Mundnapfes sowie unterhalb des Bauchsaugnapfes feststellen. Gleichzeitig beginnt die Formation der Saugnapfe: es bilden sich Muskeln und deutliche Öffnungen. Bald bilden sich auch die Anlagen des Haftapparates, der seitlichen Saugnapfe und gar des Darmsystems. Die Bildung der erwähnten Anlagen bedeutet den ersten Schritt zur zweiten Gestaltsveränderung. Am Vorderteil nimmt die Breite des Körpers ein wenig zu, während sich gleichzeitig das Hinterende zu einem kleinen Fortsatz verengert (Taf. 2, Fig. 7). Diese Veränderungen ziehen eine Verkürzung der Larve nach sich, ihre Dicke dagegen nimmt zu. Diese von Mathias (9), Szidat (12, 14) und Wesenberg-Lund (18) bereits früher bekanntgemachte Beobachtung konnte vollständig bestätigt werden. Die durch die Bildung des Haftapparates und der lateralen Saugnapfe angekündigte Entwicklungstendenz führt weiterhin zur Bildung einer typischen Tetrakotyle. Immerhin gehen diese Umwandlungen nicht allzu rasch vor sich, sie dauern ungefähr zwei Wochen, so daß die Cercarie erst 6—7 Wochen nach dem Eindringen in den Egel die Gestalt und die innere Organisation einer Tetrakotyle erhält; jetzt erst beginnt sich die Zyste zu bilden. Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß die Umwandlung der Cercarie in eine Tetrakotyle in den Egelⁿ mindestens 7 Wochen dauert, also mit der Zeit übereinstimmt, die van Haitsma für *Tetracotyle flabelliformis* angegeben hat. Die Transformation von *Tetracotyle cornuta* in *Limnea stagnalis* dagegen geht wesentlich rascher vor sich. Mathias berechnete ihre Dauer auf einen Monat bzw. noch kürzer, da er Fälle feststellen konnte, in denen dieselbe nach 22 Tagen bereits abgeschlossen war.

Während der Umwandlung der *Cercaria dubia* in *Tetracotyle dubia* verdienen folgende Umstände unterstrichen zu werden: die verhältnismäßig langdauernde Funktionsbehaftung der Penetra-

tionsdrüsen; das Schwinden des Darmkanals, der übrigens in der Cercarie nicht genügend entwickelt war; die Veränderungen in dem Charakter der Gewebe; die sehr weitgehende doch nicht vollständige Rückbildung der Saugnäpfe; der weitere Bestand und die langsame Entwicklung des Exkretionssystems; der Fortbestand des Nervensystems und der Geschlechtsapparatanlagen der Cercarie, sowie die zweimalige Veränderung der Gestalt.

Die entwickelte, enzystierte *Tetracotyle dubia* sp. n. weist eine große Ähnlichkeit mit der *T. cornuta* und *T. flabelliformis* auf. Sie hat eine birnförmige Gestalt, ist vorne breiter und etwas mehr abgerundet, hinten etwas schmaler (Taf. 2, Fig. 8). In *Herpobdella atomaria* fand ich Exemplare, die mitsamt der Zyste 0·35—0·56 mm lang und 0·28—0·46 mm breit waren. Die gelatinöse Zyste hat einen einheitlichen Bau; sie ist gleichmäßig breit (0·015—0·04 mm) eventuell ein wenig breiter am Hinterende, wo sich die dem Exkretionsporus entsprechende einzige Öffnung der Zyste befindet. Die Zyste ist mit der Kutikula unmittelbar verwachsen, ihre Elastizität reicht aber immerhin für geringe Veränderungen der Gestalt aus. Beide Saugnäpfe sind reich mit Muskeln versehen. Der Bauchnapf liegt direkt über dem Haftapparat, oberhalb der Körpermitte. Die seitlichen Saugnäpfe, die größer als der Mundnapf sind, liegen unter demselben, seitlich. Der Haftapparat besteht aus zwei Lippen, einer inneren und einer äußeren, von denen jede aus zwei Lappen gebildet wird. Die Bauchfalte ändert fortwährend ihre Reichweite und Lage, infolgedessen wird der sog. Kopfbecher, auf dessen Grunde sich der Bauchnapf und der Haftapparat befinden, manchmal mehr manchmal weniger entblößt bzw. verdeckt. Auf der Ventralseite sind 4 Öffnungen vorhanden; dieselben liegen über der Mundöffnung, über den Öffnungen der lateralen Saugnäpfe und über der Öffnung des Haftorgans, stellen jedoch keinesfalls Öffnungen der erwähnten Organe dar. Es ist schwer zu entscheiden, ob sie in der Falte liegen, oder durch eine entsprechende Verengung der Falte entstehen, oder irgendwie mit der Zyste zusammenhängen. Bei *T. dubia*, bei der die Zystenwand verhältnismäßig dünn ist, war ich lange überzeugt, daß sie in der Zystenwand über den erwähnten Öffnungen liegen; in dieser Überzeugung wurde ich noch durch den Umstand bekräftigt, daß ich in nicht enzystierten Exemplaren die erwähnten Öffnungen nicht beobachten konnte. Nachdem ich aber

T. cornuta aus *Coretus corneus* aus der Gegend von Warszawa untersuchte, stellte ich fest, daß sie hier ebenfalls auftreten; die dicke Zystenwand bei *T. cornuta* aber, die die Lösung der Frage erleichterte, die Möglichkeit ausschließt, daß die Öffnungen in der Zystenwand liegen. Indem ich diese Beobachtung auf *T. dubia* übertrage, nehme ich an, daß die erwähnten Öffnungen in der Falte liegen, bzw. durch deren Verengung entstehen. Bei *T. flabelliformis*, deren Zystenwand ebenfalls dünn ist, hat Hughes diese Öffnungen als Zystenöffnungen interpretiert. Diese Interpretation scheint mir in diesem Falle auf einem Irrtum zu beruhen.

Der muskulöse Pharynx liegt unmittelbar am Mundnapf. Der Oesophagus ist kurz. Die Darmäste umfassen seitwärts den Bauchsaugnapf sowie den Haftapparat und enden unterhalb der Anlagen der Fortpflanzungsorgane.

Die massenhaft das sekundäre Exkretionsnetz ausfüllenden Körnchen verleihen dem Körper eine dunkle Farbe. Wie aus den Untersuchungen von Claparède hervorgeht, sind es Kalkkörnchen. Die Mehrzahl der Körnchen ist klein und strukturlos, unter ihnen kommen aber ohne Zweifel auch größere, bereits formierte Kalkkörperchen vor, die sich durch eine bestimmte Gestalt und konzentrische Streifen auszeichnen. Meiner Meinung nach ist die Mehrzahl dieser Kalkkörperchen in der Larve netzartig angeordnet. Das betreffende Netz steht in Verbindung mit dem sekundären Exkretionsnetz, ist jedoch mit demselben nicht identisch. Die abgelagerten Körperchen ändern vor allem ihre Lage nicht und kreisen auch nicht in den Kanälen mitsamt den kleinen Körnchen und den noch nicht abgelagerten, jedoch bereits formierten Kalkkörperchen, frei herum. Sie lassen sich auch nach starker Abplattung aus den Kanälen nicht zur Gänze herausdrücken, wie es mit den frei in den Kanälen kreisenden Körnchen geschieht; falls es aber doch gelingt, so treten dieselben ganz am Ende heraus. Ich nehme daher an, daß die im Exkretionskanälchen formierten Kalkkörperchen im Parenchym in der unmittelbaren Nachbarschaft der Kanäle und Lakunen, durch Bildung entsprechender Aussackungen, aus den Kanälen abgelagert werden. Auf diese Weise stehen sie in Verbindung mit dem sekundären Exkretionsnetz, kreisen jedoch nach der Ablagerung in den Kanälen nicht frei herum. Im Körper sind sie in Form eines Netzes angeordnet, das auf der dorsalen Seite anders und anders auf der ventralen ge-

baut ist. Auf der Ventralseite ist der Kopfbecher von dem Netze frei, dagegen nimmt dasselbe den Hinterteil, die Seiten und die Mundnapfgegend ein; auf der dorsalen Seite herrscht es im Vorder- und Mittelteil vor, im Hinterteil nimmt es bloß das Ende selbst und die Seiten ein und verläuft in einer oder zwei Reihen durch die Mitte der Hinterhälfte des Körpers. Auf der Ventralseite ist somit das Kalkkörperchennetz mehr in dem Hinterteil, auf der Dorsalseite mehr in dem Vorderteil entwickelt. Die Kanäle des sekundären Exkretionsnetzes decken sich ungefähr mit dem Kalkkörperchennetz. Ein Bild dieses Netzes bei *T. cornuta* hat Mathias (9) gegeben. Es setzt sich aus Sammelkanälchen (zwei seitlichen, einem medianen und einem querlaufenden) zusammen, die dann in ein Netz von kleineren Kanälchen übergehen.

Bisher wurden, wie mir bekannt, für die Egel *Tetracotyle hirudinum* (Diesing) Mataré, *T. cornuta* (Rud.) Hughes (= *T. typica* Fill.), *T. bdello cystis* (Lutz) Hughes und *T. apatemon gracilis* Szidat angegeben. Wie aus meiner Darstellung hervorgeht, ist ein wesentlicher Unterschied zwischen *T. dubia* und *T. cornuta* nicht vorhanden; ebenso unterscheidet es sich kaum von *T. flabelliformis*, dasselbe wurde jedoch bis nun bloß in Schnecken gefunden. Der einzige Unterschied, den ich zwischen *T. dubia* und *T. cornuta*, aus der Gegend von Warszawa in *Coretus corneus* gefunden, und laut den Abbildungen derselben bei Szidat feststellen konnte, besteht im Bau der Zyste. Bei *T. cornuta* ist dieselbe viel breiter (0.08—0.13 mm). Ob dieses Kriterium von wesentlichem Werte ist, ist schwer zu entscheiden. Nur die vollständige Verfolgung des Entwicklungszyklus bis zur Erreichung der reifen Trematode kann die Frage der Identität beider Formen entscheiden. Leider hatte ich keine Möglichkeit, den Versuch in dieser Richtung weiterzuführen. Zwar spricht die starke morphologische Ähnlichkeit beider Tetrakotylen für die Identität beider Formen, andererseits aber sprechen dagegen die Unterschiede zwischen den entsprechenden Cercarien d. h. zwischen *C. dubia* und *C. A.* Es ist im vorhinein schwer anzunehmen, daß eine und dieselbe Trematode aus verschiedenen Larvenformen entstehen könnte, wenn auch der Unterschied zwischen den betreffenden Larven nicht so groß wäre. Aller Wahrscheinlichkeit nach müssen auch die reifen Trematoden anders gestaltet sein. Immerhin kommt diesen Unterschieden wenn auch kein artendifferenzierender so jedenfalls

ein varietätendifferenzierender Wert zu. Diese Frage bedarf daher noch weiterer Klärung.

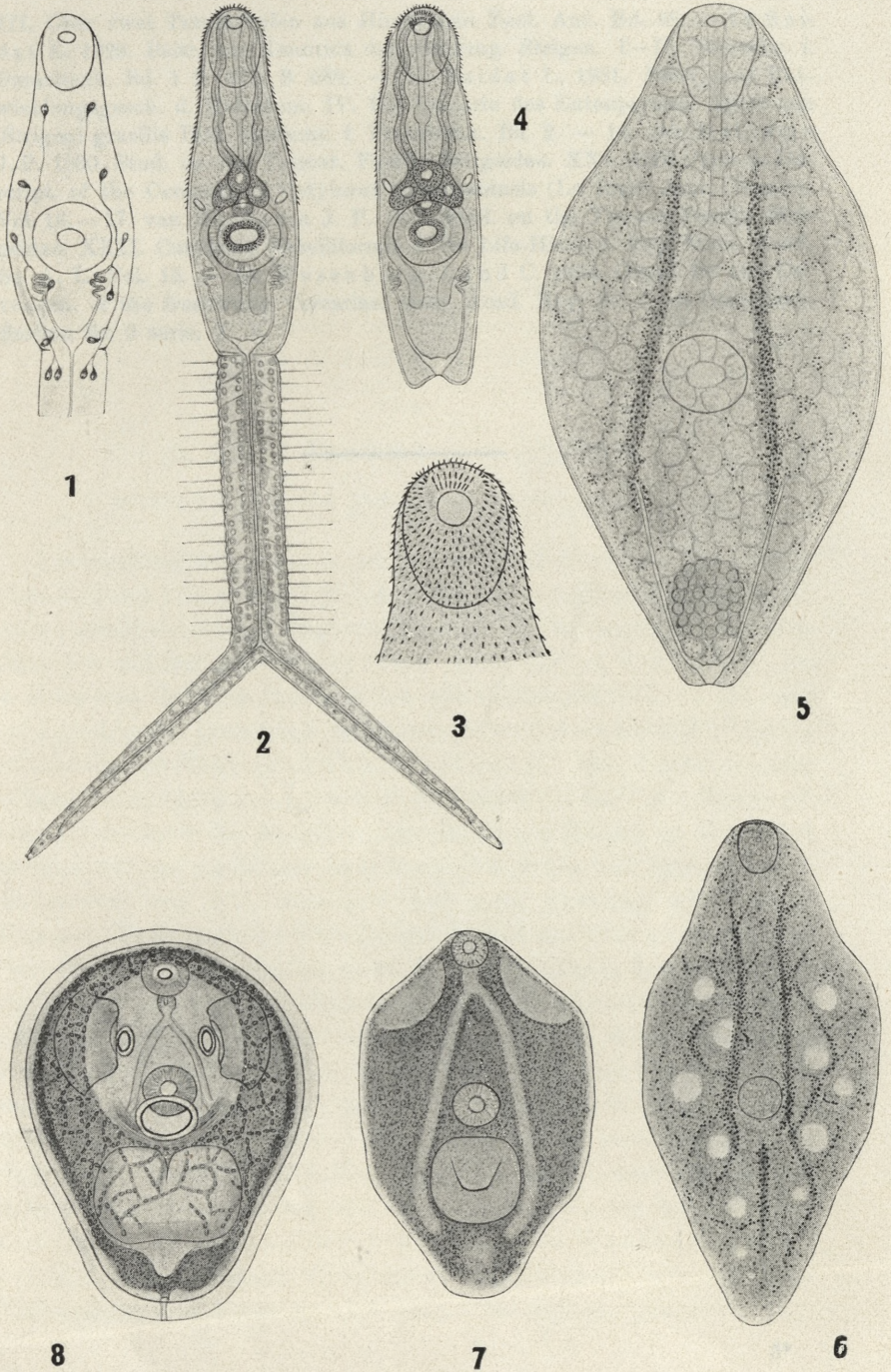
Aus dem Zoologischen Institut der Universität Warszawa.

Erklärung der Figuren auf der Tafel 2.

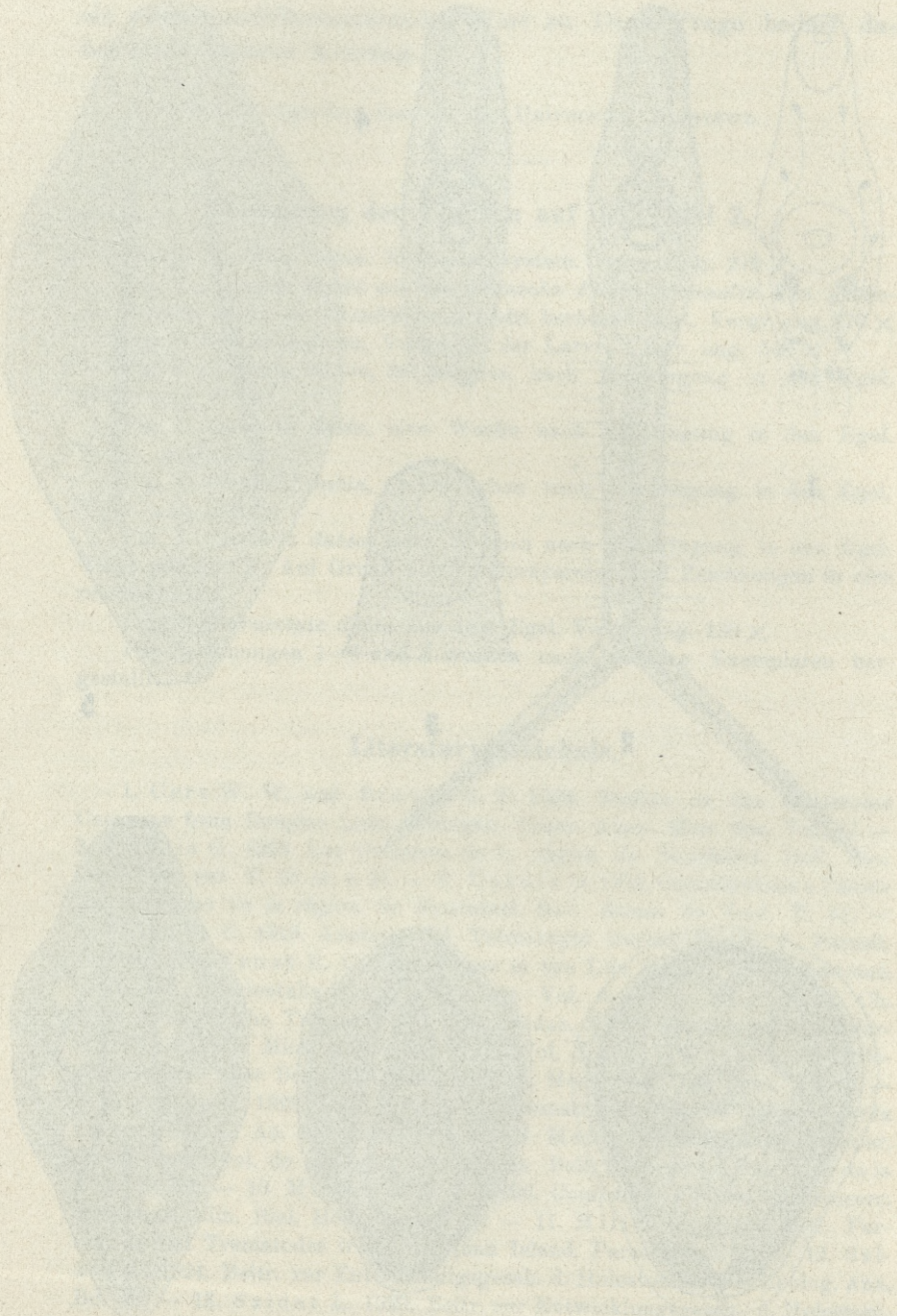
- Fig. 1. *Cercaria dubia*: Exkretionssystem. Vergr. ung. 270 ×
 Fig. 2. *Cercaria dubia* aus der Schnecke *Physa fontinalis*. Die größten Borsten neben der Mundöffnung nicht berücksichtigt. Vergr. ung. 270 ×
 Fig. 3. *Cercaria dubia*, Vorderteil der Larve. Vergr. ung. 540 ×
 Fig. 4. *Cercaria dubia*, 36 Stunden nach Eindringung in den Egel. Vergr. ung. 270 ×
 Fig. 5. *Cercaria dubia*, eine Woche nach Eindringung in den Egel. Vergr. ung. 270 ×
 Fig. 6. *Cercaria dubia*, drei Wochen nach Eindringung in den Egel. Vergr. ung. 130 ×
 Fig. 7. *Cercaria dubia*, 4—5 Wochen nach Eindringung in den Egel. Vergr. ung. 130 ×. Auf Grund von Totalpräparaten und Zeichnungen *in vivo* rekonstruiert.
 Fig. 8. *Tetracotyle dubia* aus dem Egel. Vergr. ung. 130 ×
 Die Zeichnungen 1—6 und 8 wurden nach lebenden Exemplaren hergestellt.

Literaturverzeichnis.

1. Cort W. W. and Brooks S. T. 1928. Studies on the Holostome Cercariae from Douglas Lake Michigan. Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 47.—
2. Dubois G. 1928. Les Cercaires de la région de Neuchâtel. Bull. Soc. neuch. Sc. nat. T. 53 (n. s. 2). —
3. Dubois G. 1934. Contributions à l'étude des Cercaires de la région de Neuchâtel. Rev. Suisse de Zool. T. 41. —
4. Faust E. C. 1918. Anatomy of *Tetracotyle iturbei* Faust. J. Parasit. Vol. 5. —
5. Faust E. C. 1921. Phase in the Life History of a Holostome, *Cyathocotyle orientalis* n. sp. J. Parasit. Vol. 8. —
6. Hughes R. Ch. 1929. Stud. on the Tremat. Family Strigeidae. XVII. *Tetracotyle flabelliformis* Faust. Pap. Mich. Acad. Sc. A. L. Vol. X. —
7. Lutz A. 1933. Beobachtungen über Brasil. Dicranocercarien. Mem. Inst. Osw. Cruz. Vol. 27. —
8. Mathias P. 1922. Cycle évol. d'un Tremat. Holostomide (*Strigea tarda* Steenstr.) C. R. Ac. Sc. Paris. T. 110. —
9. Mathias P. 1925. Rech. exper. sur le cycle évol. de quelques Trematodes Bull. Biol. de la France et de la Belg. T. 59. —
10. Miller H. M. jr. 1926. Comparative Stud. on furcocerc. Cercariae. Illin. Biol. Monogr. Vol. 10. —
11. Miller H. M. jr. 1927. Furcoc. Larval Trematodes from San Juan Island. Parasit. Vol. 19. —
12. Szidat L. 1924. Beitr. zur Entwicklungsgesch. d. Holostomiden. I. Zoolog. Anz. Bd. 58. —
13. Szidat L. 1929. Beitr. zur Entwicklungsgesch. d. Holostom.



L. W. Wiśniewski del.



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

III. Über zwei Tetrakotylen aus Hirudineen. Zool. Anz. Bd. 86. — 14. Szidat L. 1929. Beitr. zur Kenntnis der Gattung Strigea. I—II. Zeitschr. f. Parasitenk. Bd. 1 S. 612; S. 688. — 15. Szidat L. 1931. Beitr. zur Entwicklungsgesch. d. Holostom. IV. Die Cercarie des Entenparasit. Apatemon (Strigea) gracilis Rud. Zeitschr. f. Parasitenk. Bd. 2. — 16. van Haitzma J. P. 1930. Stud. on the Tremat. Family Strigeidae. XXI. Life-Cycle a. Descript. of the Cercaria of *Cotylurus michiganensis* (La Rue). Jour. Parasit. Vol. 16. — 17. van Haitzma J. P. 1931. Stud. on the Tremat. Family Strigeidae. XXII. *Cotylurus flabelliformis* a. its Life-History. Pap. Mich. Acad. Sc. A. L. Vol. 13. — 18. Wesenberg-Lund C. 1934. Contr. to the Developm. of the freshwater Cercariae. Mem. Acad. Roy. Sc. L. de Danemark. Section Sc. 9 serie. T. V.

Badania nad komórkami dwujądrowymi w hodowli tkanek poza ustrojem. — Recherches sur les cellules binucléaires dans la culture de tissus.

Note

de MM. **J. ZWEIBAUM** et **M. SZEJNMAN**,

présentée le 4 février 1935, par M. M. Konopacki m. t.

Les cellules binucléaires ont été souvent décrites dans les différents tissus tels que le foie, les reins, les ganglions sympathiques et les centres nerveux. Leur apparition a été souvent observée dans les cellules cultivées in vitro. Ainsi par ex. Lynch (1) les a observées dans les cultures des épithéliums, Macklin (2) dans les fibroblastes provenant du coeur, Strangeways (3) dans la culture du cartilage et de l'iris, Fischer (4) dans les myoblastes et dans les épithéliums, Lewis et Webster (5) ainsi que Barta (6) dans les cultures des ganglions lymphatiques. Malgré de nombreux travaux sur les conditions dans lesquelles on les voit apparaître, on est encore très mal renseigné sur cette question. Ainsi selon Münzer (7) les cellules binucléaires deviennent plus nombreuses si l'on refroidit le foie étudié. Aussi dans le voisinage immédiat de la coupe pratiqué avec un couteau chauffé on constate une augmentation considérable de ces cellules. Il en est de même lorsque le foie est isolé de la circulation. Wermel et Ignatjewa (8) ont constaté une augmentation de cellules binucléaires dans le foie et dans les reins sous l'action de l'intoxication produite avec de l'ipérite, de la luisite etc. Konopacki (9) a observé aussi une forte augmentation de ces cellules dans les oeufs des échinodermes sous l'action de l'eau de mer hypertonique et Weatherford (10) a constaté de nombreux fibroblastes binucléaires dans les états d'inflammation. Barta (l. c.) a étudié les causes régissant la pro-

duction des cellules bi- et plurinucléaires dans le ganglion lymphatique cultivé »in vitro« et a attribué leur formation au manque d'oxygène. Lewis et Webster (l. c.) ont vu apparaître de nombreuses cellules binucléaires et polynucléaires dans le ganglion lymphatique cultivé sous l'action du sérum tuberculeux et granulomateux et Zweibaum et Ostrouch (11) ont observé les fibroblastes bi- et plurinucléaires dans le plasma d'animaux sarcomateux. Selon Fischer (l. c.) le nombre de cellules binucléaires augmente avec l'âge des cultures. Bucciante (12) a trouvé, que les cellules binucléaires apparaissent sous l'action de la température basse (-1°C). Il s'ensuit que les cellules binucléaires apparaissent assez souvent aussi bien »in situ« qu'»in vitro« sous l'action de différents agents. On ignore pourtant les conditions qui font naître ces cellules.

On sait que toute culture de fibroblastes provenant du coeur embryonnaire du poulet contient toujours un certain nombre de cellules binucléaires. Nous avons entrepris l'étude systématique des conditions dans lesquelles ces cellules apparaissent »in vitro«, en modifiant quelque peu les conditions dans lesquelles les cultures sont généralement faites. Nous avons étudié par conséquent l'action des agents mécaniques, tels que la pression exercée sur le fragment, la présence d'un fil de coton ou du lycopodium, 2) le non renouvellement du milieu, 3) les produits du métabolisme, 4) l'action de CO_2 , 5) le pH du milieu, 6) l'évaporation de la culture, 7) l'hypertonie et l'hypotonie, 8) la saturation de la chambre de la culture avec de la vapeur d'eau, 9) l'épaisseur du caillot, 10) l'insuffisance de l' O_2 , 11) l'âge de la culture et 12) l'âge de l'embryon.

Nos expériences ont été faites sur des fibroblastes provenant du coeur de l'embryon du poulet de 8 jours. Les cultures ont été effectuées sur les lamelles de 18×18 mm. placées dans des godets carrés, au fond desquels on mettait quelques gouttes du liquide de Ringer pour y maintenir de l'humidité. Pour avoir des gouttes d'une épaisseur égale, le plasma et l'extrait ont été étendus sur une surface de 1 cm. Il va sans dire que dans toutes les expériences les conditions ont été rigoureusement les mêmes. Les cultures ont été fixées avec du Formol-Ringer et fortement colorées avec de l'hémalum. Nous avons mesuré le pH avec la méthode colorimétrique ou au moyen des indicateurs, tels que le

bromothymolbleu et le bromocrésylpourpre. La marche de l'expérience a été la suivante: les deux fragments dont nous nous sommes servis pour l'expérience ont été cultivés pendant un certain temps dans la même goutte, puis l'un de ces fragments a été mis dans le milieu expérimental, l'autre nous servait de contrôle. Ainsi les caractères des deux fragments se sont trouvés à peu près les mêmes. Nous avons employé des cultures âgées de 1 à 32 jours et les cellules binucléaires ont été étudiées toujours après 48 h. de séjour »in vitro«. Le calcul des cellules a été exécuté au moyen du réseau oculaire et de la platine à chariot mobile. Pour établir le nombre de cellules on a fixé le point extrême de la zone d'invasion de la culture et l'on déplaçait le chariot exactement de 8 en 8 carrés de l'oculaire. Nos calculs n'ont porté que sur la périphérie de la culture où les cellules forment une ou deux couches seulement. Là où les cellules formaient plusieurs couches, tout calcul de cellules binucléaires devient impossible. Pour pouvoir établir l'augmentation du pourcentage des cellules binucléaires sous l'action de divers agents, il a été nécessaire avant tout d'établir le pourcentage des cellules binucléaires dans les conditions normales. Nous entendons par conditions normales les cultures faites dans une goutte du plasma de poules âgées environ d'une année, mélangée avec une goutte de l'extrait embryonnaire à 25% provenant du poulet de 8 jours et tenue à la glacière depuis 6 jours au maximum. La goutte était étendue sur une surface de 1 cm.

Il résulte des observations et des calculs de très nombreuses cultures que le pourcentage des cellules binucléaires varie dans ces conditions dans une assez large mesure, notamment de 0 à 3.6%. Nous avons trouvé sur 62.346 cellules 516 cellules binucléaires, c'est-à-dire en moyenne 0.7%. Nous avons admis cette moyenne comme le nombre normal des cellules binucléaires apparaissant dans les cultures des fibroblastes provenant du coeur de l'embryon du poulet. Ce nombre est quelque peu inférieur à celui établi par Macklin dans ses recherches sur les cellules binucléaires (0.9%). Cette divergence résulte probablement de ce que nous avons étudié un beaucoup plus grand nombre de cellules.

Partie expérimentale.

a) Action des agents mécaniques. La pression exercée sur le fragment par un morceau de verre couvre-objet ou par le

fragment d'un autre tissu, empêche considérablement la croissance des cultures, tandis que l'action du lycopodium est pour ainsi dire nulle. Par contre sous l'action du fil de coton l'accroissement des cultures est très irrégulier. Les agents mécaniques n'exercent aucune action sur la formation des cellules binucléaires »in vitro«.

b) Non renouvellement du milieu. L'étude des cultures non renouvelées pendant 4 jours a montré que cet agent est très important pour la production des cellules binucléaires. En effet, sur 8478 cellules nous avons trouvé 272 cellules binucléaires, soit 3·54%. Le milieu de cultures après 4 jours de séjour »in vitro« devient assez fortement acide. En effet, les mesures du pH nous ont montré une acidité de 6·0 à 6·6. Dans les cultures non renouvelées pendant 4 jours il se produit toujours une certaine protéolyse du milieu et nous nous sommes appliqués à vérifier comment agissent les produits du métabolisme contenant les produits protéolytiques du caillot.

c) Produits du métabolisme. Pour nos recherches nous nous sommes servis de cultures faites dans des flacons de Carrel où l'on mettait de 5 à 6 fragments du coeur de l'embryon du poulet. La phase liquide se composait de liquide de Ringer contenant de l'extrait embryonnaire à 5%. Ce liquide n'a pas été renouvelé de 10 à 36 jours. Dans ces conditions il se produit souvent une protéolyse plus ou moins forte de la phase solide, quelquefois même une protéolyse totale. Une ou deux gouttes de cette phase liquide ont été ajoutées à une culture expérimentale. Or, les produits du métabolisme de 30–36 jours provenant d'une culture protéolysée empêchent complètement l'accroissement des cultures. Les produits du métabolisme de 30 jours non protéolysés sont également toxiques, quoique à un moindre degré. Quant aux produits du métabolisme de 10 à 24 jours ils n'empêchent aucunement la croissance des cultures, comme il résulte de très nombreuses expériences, mais ils provoquent la formation des cellules binucléaires s'ils contiennent des produits de la protéolyse. Le pH des cultures auxquelles on avait ajouté des produits du métabolisme exerçant une forte action sur la production des cellules binucléaires, a été de 6·0 à 6·4.

d) Action de CO₂. Les cultures faites sur les verres couvre-objet de 40 × 50 mm. ont été placées sur l'entrée d'un flacon de Carrel du type c. et ensuite fixées à la vaseline ou à la paraffine.

Le col du flacon fermé avec un bouchon a été soigneusement paraffiné. Deux tubes en verre très fin traversaient le bouchon pour le passage du gaz. Le CO_2 a été fourni par un gazomètre contenant un mélange voulu de gaz. Nous avons fait passer par le flacon de Carrel un litre de gaz environ, afin d'être sûr que nos cultures se trouvaient dans du gaz en quantité nécessaire. Les tubes ont été ensuite fermés à la flamme. Nous avons étudié l'action de CO_2 mélangé avec l'air en proportion de 1:7, 1:12 et 1:25, ce qui correspond environ à 14,3%, 8,3% et 4,0% de CO_2 contenu dans le flacon de Carrel.

C'est dans le mélange de CO_2 en proportion de 1:25 que nous avons constaté l'accroissement le plus considérable des cultures. Cet accroissement est plus fort que dans le contrôle. Dans les cultures croissant dans l'atmosphère de CO_2 on constate une augmentation nette des cellules binucléaires, d'autant plus forte que la proportion du gaz augmente. Dans les conditions de 1:7 la croissance des cultures, bien quelle soit ralentie, peut se produire. Le pH du milieu des cultures dans le mélange de CO_2 en proportion de 1:7 et 1:12 a été de 5,8 à 6,4.

e) Action de pH. Nous avons étudié l'action de pH dans les limites de 6,0 à 8,4 en ajoutant au milieu, dont le pH a été préalablement déterminé, le HCl ou le NaOH dilué en proportion établie pour obtenir le pH voulu. Les expériences montrent que le pourcentage des cellules binucléaires augmente à mesure qu'il accroît l'acidité du milieu. Le milieu alcalin n'a aucune action sur la production des cellules binucléaires.

f) Insuffisance de l' O_2 . Ces expériences ont été effectuées soit en plaçant les cultures au-dessus d'une petite excavation d'un verre porte-objet pour réduire l'air au minimum, soit en préparant les cultures dans des gouttes de plasma de différente épaisseur (cf. Barta), soit enfin en cultivant le tissu dans une atmosphère d'azote. Il résulte de nos expériences que l'insuffisance de l' O_2 , comme d'ailleurs il a été montré par Barta (l. c.), favorise la formation des cellules binucléaires. Dans l'atmosphère d'azote, les cultures deviennent très denses, comme il a été déjà constaté par Laser (13).

g) Action de l'évaporation du milieu. Nos cultures soumises à l'évaporation de 10 à 20 minutes à la température du laboratoire et placées ensuite dans le thermostat, supportaient

très bien une évaporation, même de 20 minutes. Pourtant on y observe de nombreuses fragmentations des noyaux. On constate une augmentation très prononcée des cellules binucléaires dans les cultures soumises à une évaporation de 20 minutes. Le pourcentage des cellules binucléaires dans ces cultures est de 2·5%, tandis que dans les cultures ayant subi l'évaporation de 10 minutes le pourcentage n'est que de 1·3%.

Dans les cultures évaporées pendant 20 minutes on observe de très nombreuses amitoses.

h) Action de l'hypertonie du milieu. Nous avons ajouté aux cultures des solutions hypertoniques (liquide de Ringer contenant 1·0, 1·2, 1·5 et 1·8% de NaCl). Les fibroblastes ne supportent pas une concentration de 1·8% de NaCl conformément aux résultats obtenus par Hogue (14). Dans le milieu de 1·5% de NaCl la croissance des cultures est légèrement ralentie, la zone d'invasion est peu serrée, mais cette hypertonie du milieu influe sur la production des cellules binucléaires. Aussi dans cette concentration le pourcentage de ces cellules s'élève à 2·0%, mais il tombe à 1·0% dans un milieu de NaCl de 1·2%.

i) Action de l'hypotonie du milieu. La méthode que nous avons appliquée dans ces expériences a été la même que dans les expériences précédentes. On a ajouté aux cultures du liquide de Ringer contenant 0·4 ou 0·6% de NaCl. Les solutions hypotoniques provoquent la formation des cellules binucléaires, mais à un assez faible degré. Dans la solution de 0·4% le pourcentage de ces cellules s'élève à 1·5% et dans celle de 0·6% il est de 1·3%.

k) Action de la vapeur d'eau. Ces expériences ont été faites soit dans des flacons de Carrel, soit dans des godets carrés dont nous nous servons habituellement. Dans ces récipients on a ajouté du liquide de Ringer en quantité variant de 1 goutte à 3 cm. Les résultats obtenus, assez divergents d'ailleurs, nécessitent des recherches ultérieures. Nous avons observé dans de nombreuses expériences une augmentation considérable du pourcentage des cellules binucléaires, dans d'autres au contraire, le pourcentage a été normal.

l) Action de la température. C'est un agent dont nous n'avons étudié l'action qu'à la température 34—36° C et 41° C. Il résulte de ces expériences qu'à la température de 34—36° C le

pourcentage des cellules binucléaires s'élève à 2·9%. Par contre une augmentation de la température jusqu'aux 41°C n'exerce aucune action sur la formation de ces cellules.

TABLEAU.

Nr.	Conditions	Nombre des cellules		%	pH
		mono-	bi-nucléaires		
1.	Agents mécaniques	19724	153	0·7	—
2.	96 h. in vitro	8478	272	3·3	6·0—6·6
3.	Produits du métabolisme	5423	182	3·4	6·0—6·4
4.	Action de CO ₂ 1:7	5339	163	3·7	} 5·8—6·4
5.	» » » 1:12	6166	126	2·3	
6.	» » » 1:25	28621	330	1·2	
7.	pH du milieu 6·0	5746	284	5·0	6·0
8.	» » » 6·4	7360	178	2·3	6·4
9.	» » » 6·8	8912	133	1·4	6·8
10.	» » » 7·2—7·6 (contrôle)	62816	516	0·7	7·2—7·6
11.	» » » 8·0	7370	78	0·9	8·0
12.	» » » 8·4	13342	96	0·9	8·4
13.	Atmosphère d'azote	3933	114	2·7	6·2—6·4
	Épaisseur de la goutte:				
14.	3—4 gouttes de plasma	3367	102	3·1	—
15.	2 » » »	4016	60	1·2	—
16.	Evaporation de 20 minutes	8843	223	2·5	—
17.	» » 10 »	6498	87	1·3	—
18.	Hypertonie: NaCl 1·5%	5102	113	2·0	—
19.	» »: 1·2%	11869	124	1·0	—
20.	Hypotonie: NaCl 0·4%	18017	251	1·5	—
21.	» » 0·6%	21059	240	1·3	—
22.	Température: 34—36°C.	2564	65	2·9	—
23.	» 41°C.	7804	58	0·8	—

Nous avons étudié en outre des agents tels que: l'âge de l'embryon et la durée de la culture. L'étude des cultures, surtout pendant les premiers jours de la vie »in vitro« nous a paru

particulièrement intéressant, car les cellules s'adaptent alors aux nouvelles conditions de vie. Nous avons étudié uniquement les embryons de 8 et de 10 jours. Les embryons plus jeunes de 5 à 8 jours ont été étudiés par Macklin qui a trouvé que le pourcentage des cellules binucléaires est plus élevé chez les embryons de 8 jours, que dans ceux de 5 jours. D'après nos expériences le pourcentage de ces cellules est le même dans les embryons de 10 jours que dans ceux de 8 jours. Nos expériences ont montré en outre que l'âge de la culture, au moins au cours de 1 à 16 passages, n'a pas d'influence sur la production des cellules binucléaires. En effet, les cultures fraîchement préparées montrent après 48 h. »in vitro« un pourcentage des cellules binucléaires qui s'élève à 0.6, tandis que dans les cultures de 6 jours il a été de 0.4 et celui de 20 à 32 jours a été en moyenne de 0.7%. Nous voyons donc que ce pourcentage se maintient au niveau normal. Nos expériences ont montré en outre que le pourcentage des cellules binucléaires ne dépend pas de la quantité de l'extrait embryonnaire contenu dans le milieu. En effet, les cultures contenant de 0 à 25 pourcent de l'extrait montraient invariablement un pourcentage normal des cellules binucléaires (0.3—0.5%).

Conclusions.

La structure des cellules binucléaires que nous avons observées au cours de nos recherches est sensiblement la même que celle des cellules mononucléaires. Dans la plupart des cas les noyaux de ces cellules sont de dimensions normales et contiennent généralement deux nucléoles. Ces noyaux sont placés soit l'un près de l'autre en formant la lettre V, soit l'un au-dessus de l'autre. Les noyaux en V se trouvent surtout dans les cellules à la périphérie de la zone d'invasion. Les cellules fusiformes montrent le plus souvent des noyaux un au-dessus de l'autre. Les noyaux des cellules binucléaires sont souvent très aplatis et quelquefois beaucoup plus grands que les noyaux des cellules mononucléaires.

La question de l'origine des cellules binucléaires ne vient qu'en second. Les observations auxquelles ont donné lieu nos expériences nous permettent d'affirmer que les cellules binucléaires se forment par voie amitotique. Sur 371.313 cellules mononucléaires nous

n'avons jamais observé de mitoses sans division de la cellule, tandis que nous avons constamment observé des amitoses non suivies de division cellulaire. Nous n'avons non plus jamais observé de mitoses dans des cellules binucléaires, tandis que nous avons souvent constaté des amitoses dans les cellules binucléaires et même une fois dans une cellule trinucléaire. Aussi nous pouvons affirmer, d'accord avec Macklin, que les fibroblastes binucléaires se forment »in vitro« par voie amitotique. Il est intéressant à noter en outre que les cellules binucléaires n'apparaissent que rarement dans les cultures contenant un grand nombre de mitoses, pas plus qu'on en voit dans les accumulations de mitoses dans les cultures.

Les expériences que nous venons de décrire brièvement montrent que la formation des cellules binucléaires »in vitro« peut être provoquée par de nombreux agents. Parmi ces agents le non renouvellement du milieu, la présence de produits du métabolisme, le CO_2 et l'insuffisance de l' O_2 sont accompagnés, comme nous ont montré les mensurations du pH, d'une acidité plus ou moins prononcée du milieu. Les expériences spéciales faites dans un milieu acide nous ont confirmé dans l'opinion que cet agent influe en effet sur la production des cellules binucléaires. Par conséquent les agents expérimentaux qui influent sur la formation des cellules en question peuvent être ramenés d'une part à l'acidification du milieu, d'autre part à l'hypertonie et à l'abaissement de la température. Les agents intrinsèques, comme l'âge de la culture, l'âge de l'embryon et, semble-t-il, les propriétés spécifiques du tissu d'où provenaient les cellules, ne jouaient aucun rôle dans nos expériences: Les fibroblastes provenant de l'aorte ou du tissu sous-cutané montrent en effet dans les mêmes conditions le même pourcentage des cellules binucléaires que ceux provenant du coeur. Les propriétés individuelles du tissu ne jouaient également aucun rôle, car nous nous sommes servis d'un matériel de différente provenance.

Nos expériences montrent pourtant d'assez grandes différences dans le pourcentage des cellules binucléaires entre les diverses cultures. Ainsi par ex. un fragment de la culture no. 137 nous a montré 3.7% des cellules binucléaires tandis qu'un autre nous a donné 11.2% de ces cellules. Mais c'est là un cas extrême. Les différences moins accentuées sont bien plus fréquentes, fait qui

a été déjà décrit par Macklin. Les fautes techniques étant écartées, on doit admettre qu'il existe certaines causes internes spéciales, une sorte de disposition pour la formation des cellules binucléaires.

Quelles sont ces causes? A notre avis elles doivent être recherchées dans la structure physique du cytoplasme, laquelle montre des profonds changements pendant le processus de la division cellulaire. La plupart des agents étudiés dans nos expériences exercent une action identique sur la structure physique du cytoplasme, à savoir en augmentant sa viscosité. En effet parmi les agents que nous avons étudiés, certains, comme par ex. le non renouvellement du milieu, les produits du métabolisme, l'insuffisance de l'O₂, provoquent l'acidification du milieu. Or nous savons que l'acidité augmente la viscosité du cytoplasme. Jacobs (15) a démontré sur des oeufs d'échinodermes et de protozoaires que le CO₂ augmente la viscosité du cytoplasme et nous avons constaté nous-même que cet agent provoque l'augmentation du pourcentage des cellules binucléaires. Nous avons vu ensuite que les cellules binucléaires deviennent plus nombreuses sous l'action de l'abaissement de la température. Or cet agent conduit lui aussi à une augmentation de la viscosité du cytoplasme. Comme il résulte de nos expériences, l'évaporation et les solutions hypertoniques provoquent l'accroissement du nombre de cellules binucléaires. Konopacki (l. c.) a observé aussi la formation des cellules binucléaires dans les oeufs d'échinodermes sous l'action de solutions hypertoniques. Or, Chambers (16) et Heilbrunn (17) ont démontré que les solutions hypertoniques augmentent elles aussi la viscosité du cytoplasme. Malheureusement nous ignorons l'action qu'exercent sur la structure physique du cytoplasme des substances toxiques tels que l'ipérite, la luisite etc. expérimentées par Wermel et Ignatjewa, de même que nous ignorons l'action du serum tuberculeux et granulomateux expérimentés par Lewis et Webster ainsi que l'action du plasma sarcomateux étudiés par Zweibaum et Ostrouch. Si l'on admettait que ces agents augmentent eux aussi la viscosité du cytoplasme, on pourrait en conclure que tous les agents provoquant la formation des cellules binucléaires modifient l'état physique du cytoplasme, notamment sa viscosité. Comment expliquer alors l'augmentation du pourcentage des cellules binu-

cléaires sous l'action de l'hypotonie et de la vapeur d'eau? Il est vrai que sous l'action de ces agents le pourcentage de ces cellules n'est pas très élevé, mais il montre qu'il y a encore d'autres agents spéciaux qui à côté de la viscosité, jouent un rôle dans la production des cellules binucléaires. C'est sur l'action de ces agents que doivent porter les recherches ultérieures.

Nous avons vu en outre que les cellules binucléaires se forment par voie amitotique. Dans toutes nos expériences la division amitotique apparaît en même temps que les cellules binucléaires. Nous pouvons donc conclure par hypothèse que le processus de l'amitose est lié avec l'augmentation de la viscosité du cytoplasme et qu'ainsi les deux processus, l'amitose et la formation des cellules binucléaires sont intimement liés. Malheureusement les travaux concernant la viscosité du cytoplasme pendant l'amitose manquent dans la littérature. Nous trouvons la confirmation de notre hypothèse dans les travaux de Loeb (18) qui, par l'évaporation du liquide contenant des amibes, a obtenu l'amitose sans division de la cellule. Rosenfeld (19) a constaté l'apparition des cellules binucléaires dans certains cas de l'éthérisation des cultures et Wilson (20) les a observées sous les mêmes conditions dans les oeufs des échinodermes. Nous savons d'autre part (Bancroft et Richter (21)) que l'anesthésie d'éther est liée avec la coagulation réversible des protéines. Si l'on admet avec Chambers que l'éther, même à une faible concentration, augmente la viscosité du cytoplasme, toutes ces expériences parleraient en faveur de notre hypothèse qu'entre la division amitotique, la formation des cellules binucléaires et l'état de viscosité du cytoplasme il existe une dépendance étroite.

Bibliographie.

1. Lynch R. S. *Anat. Record* T. 18. 1920. — 2. Macklin C. *Contrib. Embryol. Washington* 1917. — 3. Strangeways T. S. P. *Proc. Roy. Soc. London* 1924. — 4. Fischer A. *Gewebezüchtung. München* 1930. — 5. Lewis W. H. a. Webster L. T. *Jour. exper. Med.* T. 53. 1921. — 6. Barta Ed. *Arch. f. exper. Zellforschung.* T. 2. 1926. — 7. Münzer F. *Th. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickl.* T. 96. 1923. — 8. Wermel E. M. u. Ignatjewa Z. P. *Zeit. f. Zellforsch. u. mikr. Anatomie.* T. 16. 1932. — 9. Konopacki M. *Arch. f. Zellforsch.* T. 7. 1911. — 10. Weatherford H. L. *Zeit. f. Zellforsch.*

u. mikr. Anat. T. 17. 1933. — 11. Zweibaum J. et Ostrouch M. Bull. Ac. Pol. Sc. Cl. de Med. 1931. — 12. Bucciante L. Protoplasma T. 5. 1922. — 13. Laser H. Bioch. Zeit. T. 264. 1933. — 14. Hogue M. Jour. of exper. Med. T. 30. 1919. — 15. Jacobs M. H. Biol. Bull. T. 42. 1922. — 16. Chambers R. Cowdry, General Cytology. Chicago 1925. — 17. Heilbrunn L. V. cité d'après Cowdry, General Cytology. — 18. Loeb J. Arch. f. Entwickl. mech. Org. T. 2. 1896. — 19. Rosenfeld M. Arch. f. exper. Zellforsch. T. 12. 1932. — 20. Wilson E. B. Arch. f. Entwickl. mech. Org. T. 13. 1901. — 21. Bancroft W. a. Richter. G. H. Jour. physiol. Chemie T. 35. 1931.

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

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

N° 8—10 B I, 1934.

- Brem M.** Anatomical method for determining the wood of the Spruce and the Larch.
Bursa A. *Hydrurus foetidus* in der Polnischen Tatra. II. Phenologie.

N° 8—10 B II, 1934.

- Bojarczyk Z.** Das Zellbild der Großhirnrinde bei Wild- und Haustieren (Planches 30—31).
Grodziński Z. Zur Kenntnis der Wachstumvorgänge der *Area vasculosa* beim Hühnchen.
Stach J. Die Gattung *Odontella* Schöff. (*Collembola*) und ihre Arten (Planche 29).
Wodzicki K. Beobachtungen über das Vorkommen des rechten Eileiters bei der Hausente (Planche 27).
Wojtusiak R. J. Über den Formensinn der Schildkröten.
Zaćwilichowski J. Über die Innervierung und die Sinnesorgane des Flügels der Schnacke *Tipula paludosa* Meig. (Planche 26).
Zaćwilichowski J. Die Sinnesnervenelemente des Schwingers und dessen Homologie mit dem Flügel der *Tipula paludosa* Meig. (Planche 28).

TABLE DES MATIÈRES.

Janvier—Février 1935.

	Page
ST. MARKOWSKI. Über den Entwicklungszyklus von <i>Bothriocephalus scorpii</i> (Müller 1776) (Planche 1)	1
L. W. WIŚNIEWSKI. <i>Cercaria dubia</i> sp. n. und deren weitere Entwicklung in <i>Herpobdella atomaria</i> (Planche 2)	19
J. ZWEIBAUM et M. SZEJNMAN. Recherches sur les cellules binucléaires dans la culture de tissus	37

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

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

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

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