

ACTA PROTOZOO- LOGICA

REDACTORUM CONSILIUM

S. DRYL (WARSZAWA), A. GRĘBECKI (WARSZAWA), O. JIROVEC (PRAHA),
G. I. POLJANSKY (LENINGRAD), Z. RAABE (WARSZAWA),
K. M. SUKHANOVA (LENINGRAD)

VOLUMEN VIII

Fasciculi: 27-33

W A R S Z A W A 1 9 7 1

NOTICE TO AUTHORS

Acta Protozoologica is intended as a journal serving for the publication of original papers embodying the results of experimental or theoretical research in all fields of protozoology with the exception of purely clinical reports. The papers must be concise and will not be accepted if they have been previously published elsewhere. After acceptance by the Editors papers will be printed in the order as they have been received, in the possibly shortest time.

Papers are accepted in English, French, German and Russian. Every paper should begin with the name and postal address of the laboratory, name and the surname of the author, title in the language of the text, and translation of the title into the author's own language. The paper should be accompanied by a summary in the language of the text, not exceeding 100 words, also the translation into the author's own language. The authors speaking English, French, German, or Russian should translate the title and the summary into another one of the 4 languages accepted in the Journal. In the Russian texts also the name and the postal address of the laboratory, legends of tables, plates and text-illustrations must be translated, the translation of the summary may be somewhat more extensive, and the name of the author should be given additionally also in the Latin characters.

Manuscript should be a doublespaced typescript (30 lines on one side of a sheet) with a normal margin. No elements of the text should be fully typed in capitals nor in spaced set (only underlining with pencil is admissible). In decimal fractions points (not commas) should be used. The generally accepted abbreviations and symbols are recommended. Nomenclature must agree with the International Code of Zoological Nomenclature, London 1961. The original and one carbon copy of the whole text material should be supplied.

References must be cited in the text indicating only the author and year, thus: "Kinoshita 1954 found that, etc." Only all references cited in the text should be listed. The list must be arranged as follows:

Ehret C. F. and Powers E. L. 1959: The cell surface of *Paramecium*. Int Rev. Cytol., 8, 97—133.

Gelei J. von 1939: Das äussere Stützgerüstsystem des Parameciumkörpers. Arch. Protistenk., 92, 245—272.

Titles of references are given in their original language (not translated). In papers written in English, French or German, the Cyrillic type of the Russian references is transliterated according to the international system (ISO Recommendation R 9 September 1954). This regulation is not applied to names if there exists their traditional spelling. Also author may freely choose the transliteration of his own name. In Russian papers, the Russian references are cited in Cyrillic, the others in the Latin characters, but they must be listed all together in the Latin alphabetical order.

The following material should be supplied on separate sheets: 1. the running title for the page headlines, 2. tables, 3. legends for text-figures, 4. legends for plates. Line-drawings will be published in the text, photographs and raster-figures on separate plates. No coloured photographs can be published presently. Lettering on photographs and drawings should be marked in pencil. With no regard to the language of the text, only the Latin lettering, arabic numerals or generally accepted symbols are admissible for marking on illustrations. Numbering of text-figures, plates and tables must also be marked in pencil, as well in the legends as in the text. Tables are denoted in English and in French — Table, in German — Tabelle, in Russian — Таблица. In English and French papers text-figures should be determined — Fig., in German — Abb., and in Russian — Рис. Plates are denoted in English and French — Pl., in German — Taf., in Russian — Табл.

Galley proofs are sent to the authors. Authors receive 100 reprints without covers.

Manuscripts may be submitted to each member of the Editorial Board or directly to the Office: Acta Protozoologica, Nencki Institute of Experimental Biology, Warszawa 22, ul. Pasteura 3, Poland.

Harvinder GIRGLA *

Cortical anatomy and morphogenesis in *Homalozoon vermiculare* (Stokes)

Anatomie corticale et morphogénèse chez *Homalozoon vermiculare* (Stokes)

Studies on infraciliature and changes in it during the life cycle have been emphasized in recent works on ciliate taxonomy. The infraciliature, consisting essentially of the subpellicularly located basal granules or kinetosomes and associated fibrils of both somatic and buccal ciliature, has been found to be universal property of ciliates. Infraciliature has been studied by silver impregnation techniques, first discovered by Klein 1926 confirmed by Chatton and Lwoff 1953 and modified by Corliss 1953. Recent studies by Fauré-Fremiet 1961 and Corliss 1967 have made this method indispensable in morphogenetic and taxonomic studies on ciliates. In this paper, cortical anatomy and morphogenesis of a holotrich ciliate *Homalozoon vermiculare* (Stokes), a Rhabdophorian gymnostome of the family Spathidiidae, have been described.

Material and methods

Culture of *Homalozoon vermiculare* was obtained from the laboratory of Prof. E. Fauré-Fremiet and was maintained in this laboratory on *Paramecium caudatum*. Homalozoons were kept in Chalkey's medium in Petri dishes at $24 \pm 2^\circ\text{C}$. *Paramecium* cultures were centrifuged, washed in Chalkey's medium and fed to homalozoons. The Chalkey's medium and *Paramecia* were replenished every 24 hr.

Staining

Studies were made with animals prepared individually and collectively by Chatton-Lwoff wet silver impregnation technique modified by Corliss 1953. In addition, homalozoons were stained with 10% nigrosine to demonstrate cilia.

Timing of cycle

The time course of morphogenetic cycle was studied. Dividing homalozoons were isolated in depressions and their daughters were fixed at intervals ranging from zero to 24 hr after binary fission.

* This work was carried out during the author's tenure as Junior Research Fellow of the Council of Scientific and Industrial Research, Government of India to whom grateful thanks are due.

Since oral structures are formed within half an hour after fission, fixation in the first half hour was done at intervals of 10 min each.

Phase contrast microscopy was used to confirm morphology of the macronucleus. In addition, living animals were observed constantly under rotocompressor to determine the time required for fission and stomatogenesis.

Results

Cortical anatomy of non-dividing animal

Homalozoon vermiculare is a large, vermiform and flattened ciliate about 500 μ (average) in length. Oral opening is slit like and is located at the anterior end of the animal. Fig. 1 illustrates the typical appearance of the ventral and dorsal aspects

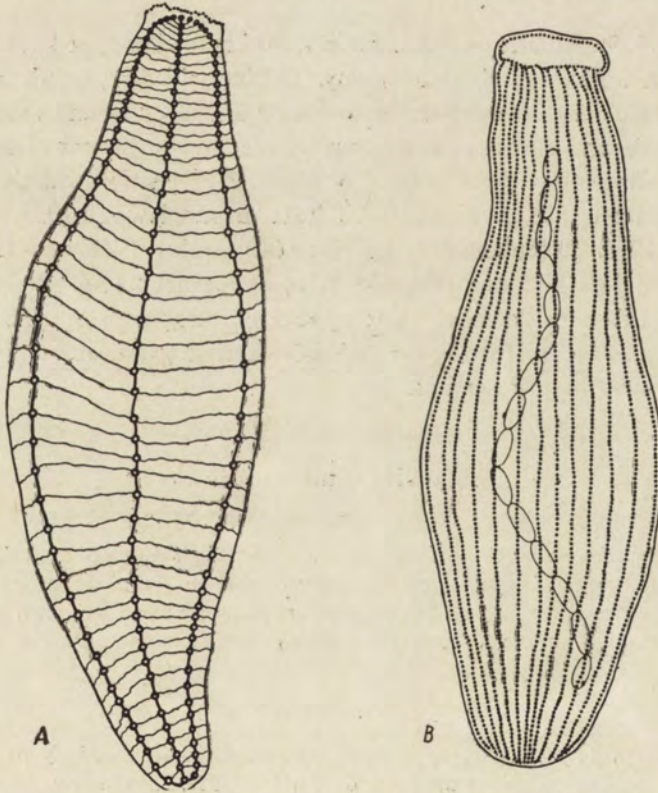


Fig. 1. *Homalozoon vermiculare* (Stokes). A — dorsal surface showing kinetosomal meridians, kinetosomes and connecting fibrils, B — ventral view showing kinetosomal meridians and oral rim. 750 \times

of cortex of non-dividing animal. On the dorsal surface, there are three kinetosome meridians more or less evenly spaced, except where the two outer rows curve toward the central row just below the oral rim (Pl. I 4). There is a uniform pattern of fibrils

which connect the kinetosomes of a row as well as those of the adjacent meridians at more or less regular intervals (Pl. I 2). There are two lateral kinetosome meridians, one each on right and left side of the animal, which are also connected with the kinetosomal meridians of the dorsal surface by transverse fibrils (Pl. I 6). The number of kinetosomes is fewer on the dorsal and lateral surfaces and the kinetosomes themselves are devoid of cilia. These kinetosomes are large and appear as hollow circles (Pl. I 3) in temporary preparations stained in nigrosine, while kinetosomes of the ventral surface appear as small dots both in nigrosine and silver stained preparations. On the ventral surface, there are from 18 to 20 kinetosome meridians more or less evenly spaced, except that the first four rows starting from the left side are more closely spaced than the rest (Fig. 1 B, Pl. I 5). Of these, the first two rows are closer to each other than the 3rd and 4th row. All the ciliary meridians on the ventral surface appear to originate below the oral rim, which bears cilia and trichites, and terminate near the posterior caudal end.

Another interesting feature of the cortical anatomy is the presence of certain structures between the kinetosomal meridians on the ventral surface. These are seen both in nigrosine and silver stained preparations during all developing stages. They occur in rows of two to seven or eight circular bodies often strung together in a linear fashion (Pl. I 5-7). They are never found between the first three kinetosomal meridians of the ventral surface but are usually present between the 4th and 5th, between 6th and 7th and between 7th and 8th rows. Kinetosomal meridians appear wider in the region of these bodies, presumably to accommodate them. It may be suggested that there are presumably algae specifically distributed in the cortex of *Homalozoon*.

The slit-like mouth is located at the anterior convex end of the animal. It bears a rim of kinetosomes, closely spaced. Cilia at the oral rim are larger than those of the ventral surface of the animal. The macronucleus of *Homalozoon* consists of a number of distinct bead like structures connected together and extending over the greater part of the animal. The micronuclei are multiple and scattered throughout the cytoplasm. Macronuclear beads are ovoid in non-dividing animals.

Cell division and stomatogenesis

Homalozoon vermiculare divides by binary fission. Generally one hour before the actual fission occurs, the kinetosomal meridians of the dorsal and ventral surfaces converge and equatorial discontinuities appear in all the kineties. These equatorial discontinuities collectively define the fission line and mark the region of the future division furrow (Fig. 2, Pl. I 6). The time of appearance of equatorial discontinuities is highly variable occurring around 20 hr after preceding fission (designated as stage I). At this stage macronuclear beads become round and flat.

Later a constriction appears on each side of the animal (Stage II — Fig. 2 B, Pl. I 7). As the constriction progresses further, separating proter from opisthe,

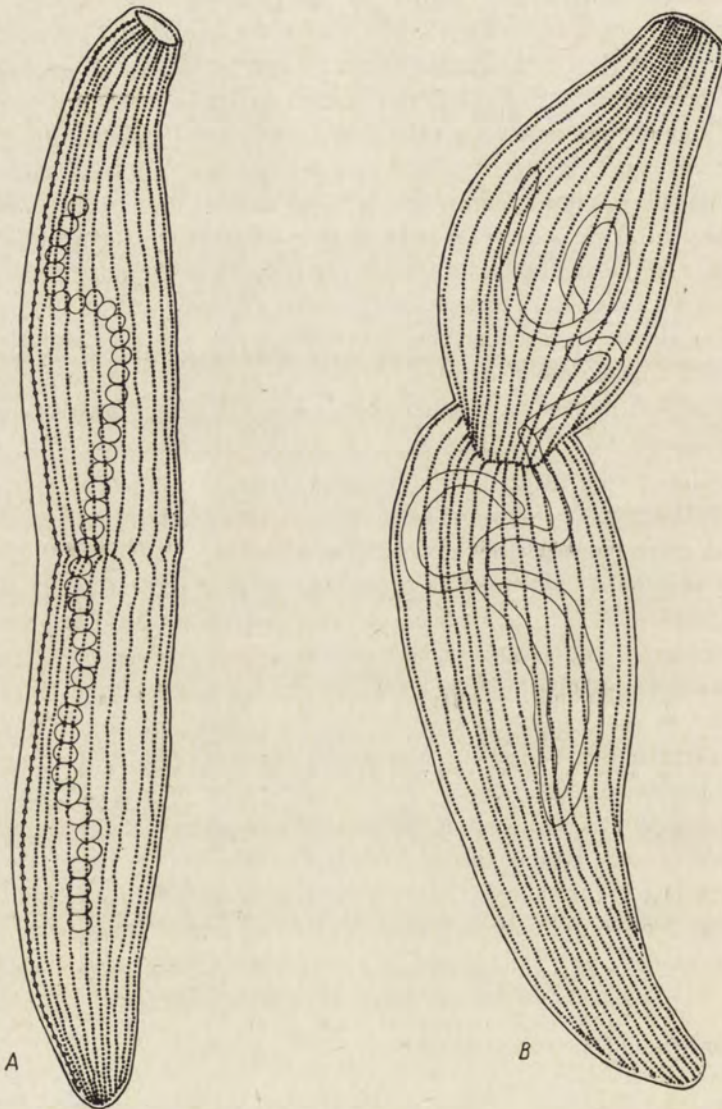


Fig. 2. *Homalozoon vermiculare* (Stokes). A — stage I of dividing animal showing formation of fission zone, B — stage II showing proter and opisthe just before separation, macronucleus has elongated into a rod like body. 500 ×

macronuclear beads fuse with one another and macronucleus elongates into a rod like body which later becomes a spiral. The process of establishment of individual daughter animals, with separate cortex and cytoplasm, is completed within about 30–45 min after the beginning of the stage I. During the subsequent 30 min, daughters remain connected by a narrow band of cytoplasm and membrane.

Stomatogenesis

The old feeding structures remain visibly unchanged in the proter and new structures destined for the opisthe develop only after fission is complete. Soon after fission, the site of future oral structures of opisthe appears wavy with irregularly arranged kinetosomes. But within about 30 min complete oral rim of kinetosomes with cilia and trichites is formed and animal starts feeding.

Discussion

Perhaps the most distinctive feature of cortical anatomy of *Homalozoon* is presence of kinetosome meridians without cilia on the dorsal surface. The kinetosomes are large and appear as ring like hollow circles. Weinreb (1955 a, b) and Diller (1964) also reported complete absence of cilia on the dorsal surface but they could not observe the five kinetosome meridians without cilia, three of which are dorsal and two lateral. There are certain other Rhabadophorian gymnostomes where somatic ciliation is present only on one surface of the animal e.g. *Stephanopogon* and some members of the family *Loxodidae* (Corliss 1961). To the best of our knowledge, presence of kinetosome meridians without cilia has not been reported in any other Holotrich so far. It may be suggested that forms like *Homalozoon* represent an evolutionary link between some Gymnostomes with uniform ciliation and others with ciliation restricted only to one surface.

In *Homalozoon*, old feeding structures remain unchanged in the proter and the new feeding structures destined for the opisthe develop only after fission is complete and the two daughter animals have separated. This type of stomatogenesis is very close to parafissional stomatogenesis, described by Hanson 1969, in *Dileptus anser* where the old feeding structures remain unchanged in the proter and entirely new structures destined for the opisthe develop in conjugation with the appearance of fission line (Golińska and Doroszewski 1964). In *Homalozoon*, on the other hand, fission line appears on both sides of the animal, and marks the site of future oral aperture of the opisthe. Complete oral aperture develops 30–45 min after the fission is complete. The other important point is that the new mouth of opisthe appears to be formed without any relationship to either the parental mouth as in the case of *Paramecium* (Hanson 1962) and *Frontonia* (Small and Profant 1960) or the kinetosomes of somatic meridians e.g. *Colpoda* (Tuffrau 1952) and *Tetrahymena* (Williams and Scherbaum 1959).

Counting of kinetosomes was not possible because of their large number and small size and thus time and origin of new kinetosomes could not be determined. But observation on homalozoons fixed at different developmental stages suggests that the number of kinetosomes increases during interfission period of the animal and not at the time of binary fission. Further studies on nucleic acid and protein

synthesis in relation to cortical morphogenesis are required to correlate macronuclear synthetic activity and cortical anatomy at the time of fission and stomatogenesis.

Acknowledgement

I express my sincere gratitude to Professor B. R. Seshachar, Head of Zoology Department, for his inspiring guidance and advice during the course of this investigation.

Summary

Cortical anatomy and morphogenesis of *Homalozoon vermiculare* (Stokes) (*Holotricha*) have been described. There are five kinetosome meridians without cilia, three on the dorsal and two on lateral surface of the animal, while ventral surface has 18–20 kinetosome meridians with cilia. Kinetosomes of the dorsal surface are very large and appear as hollow circles. Morphogenesis is of the simple Holotrich type. Oral structures of opisthe are formed after fission is complete and animals have separated.

RÉSUMÉ

On a décrit l'anatomie corticale et la morphogénèse chez *Homalozoon vermiculare* (Stokes) (*Holotricha*). Il y a cinq méridiens des kinetosomes sans cilia, trois sur la surface dorsale et deux sur la surface latérale de l'animal. Par contre, la surface ventrale possède 18–20 méridiens des kinetosomes avec cilia. Les kinetosomes de la surface dorsale sont très grandes et apparaissent comme des cercles creux. La morphogénèse est du type des *Holotricha* simple. Les structures orales des opisthæ se forment quand la fission est complète et les animaux sont séparés.

REFERENCES

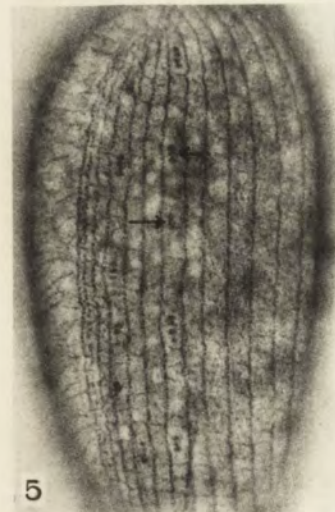
- Corliss J. O. 1953: Silver impregnation of ciliated protozoa by the Chatton-Lwoff technique. *Stain techn.*, 28, 97–100.
- Corliss J. O. 1961: *The Ciliated Protozoa. Characterization, classification, and guide to the literature.* Pergamon Press, London, New York.
- Corliss J. O. 1967: An aspect of morphogenesis in the ciliate protozoa. *J. Protozool.*, 14, 1–8.
- Diller W. F. 1964: Observations on the morphology and life-history of *Homalozoon vermiculare*. *Arch. Protistenk.*, 107, 351–362.
- Fauré-Fremiet E. 1961: Morphogenèse et physiologie de la ciliation. *Paris, Path. Biol.*, 9, 811–816.
- Golińska K. and Doroszewski M. 1964: The cell shape of *Dileptus* in the course of division and regeneration. *Acta Protozool.*, 15, 59–67.
- Hanson E. D. 1969: Major patterns of ciliate stomatogenesis. *Progress in Protozoology, Abstr. Third int. Congr. Protozool.*, Izd. Nauka. Leningrad 1969, p. 97.
- Hanson E. D. 1962: Morphogenesis and regeneration of oral structures in *Paramecium aurelia*. An analysis of intracellular development. *J. exp. Zool.*, 150, 45–68.
- Small E. B. and Profant R. J. 1960: Stomatogenesis as a part of cell division in the hymenostome ciliate *Frontonia leucas* Ehrenberg. *J. Protozool.*, 7 (Suppl.), 9.

- Tuffrau M. 1952: La morphogenes'e de division chez les *Colpodidae*. Bull. biol. Fr. Belg., 86, 309-320.
- Weinreb S. 1955 a: *Homalozoon vermiculare* (Stokes). I. Morphology and reproduction. J. Protozool., 2, 59-66.
- Weinreb S. 1955 b: *Homalozoon vermiculare* (Stokes). II. Parapharyngeal granules and trichites. J. Protozool., 2, 67-70.
- Williams N.E. and Scherbaum O.H. 1959: Morphogenetic events in normal and synchronously dividing *Tetrahymena*. J. Embryol. exp. Morph., 7, 241-256.

EXPLANATION OF PLATE I

Homalozoon vermiculare (Stokes)

- 1: Dorsal view, whole animal. 200×
- 2: Dorsal surface showing fibrils connecting kinetosomes and adjacent kinetosomal meridians. 700×
- 3: Dorsal surface showing ring like, hollow kinetosomes. 1000×
- 4: Dorsal and ventral view of oral region. 700×
- 5: Ventral surface showing kinetosomal meridians. Arrows indicate circular bodies. 700×
- 6: Stage I of dividing animal showing formation of fission zone. 700×
- 7: Stage II of dividing animal showing proter and opisthe just before separation. 700×



H. Girgla

auctor phot.

Anna CZAPIK

Les observations sur *Platyophrya spumacola* KahlObserwacje nad *Platyophrya spumacola* Kahl

Platyophrya spumacola est un cilié peu connu qui depuis sa description par Kahl n'a pas été cité dans la littérature scientifique que deux fois: Lukacs 1938 décrit la façon dont l'animal avale sa proie (*Chlamydomonas*) et expulse les débris indigérés; Wenzel 1953 cite cette espèce parmi d'autres ciliés trouvés dans la mousse. D'après lui ce cilié se nourrit de *Nostoc*, *Volvocales*, *Diatomeae*, ainsi que des petits exemplaires de *Colpoda steini*. D'après le premier auteur la longueur du corps chez ce cilié oscille entre 60–80 μ ; d'après l'autre entre 30–80 μ .

J'ai trouvé ce cilié dans la mousse d'une forêt au sud de la Pologne et je le cultivais pendant six mois. Les dimensions de la population variaient dans les limites plus vastes que rapportent les auteurs cités. L'individu sortant du kyste après la division avait environ 30 μ de long tandis que l'individu adulte gorgé de la nourriture atteignait jusqu'à 120 μ .

J'étudiais la morphologie de ce cilié sur les préparations imprégnées à l'argent d'après la méthode de Chatton modifiée par Corliss.

Le corps allongé est aplati latéralement, sa ligne ventrale est concave, sa ligne dorsale convexe. La bouche qui a la forme elliptique est située à l'extrémité antérieure du corps, parallèlement à son axe (Pl. I 1). Comme la ciliature sur chaque côté du corps est différente il serait peut-être plus pratique d'appeler le côté sur lequel animal rampe "ventral" (Fig. I A, B).

Les cils qui entourent la bouche semblent être un peu plus épais que les autres, bien qu'ils ne représentent que les bouts des cinéties somatiques. Il y a 26 cinéties qui ne sont pourtant pas toutes parallèles: celles du côté "dorsal" sont plus serrées et courent parallèlement à l'axe longue du corps; celles du côté "ventral" sont moins serrées et courent obliquement. Ainsi chez l'individu dont tous les deux côtés sont bien imprégnés on voit que ces lignes se croisent (Pl. I 2–4).

J'observais régulièrement les animaux vivants et j'ai pu constater que leur biologie est extrêmement intéressante. La division, comme d'habitude chez les habitants de la mousse, a lieu dans les kystes, qui s'imprégnent aussi bien que les individus actifs (Pl. II 5–6). S'il manque de nourriture dans le milieu les ciliés s'enkystent en masse. Le trait le plus frappant est la métabolie du corps, très rare chez les ciliés. La pellicule qui est très souple permet à l'animal de changer la forme du corps

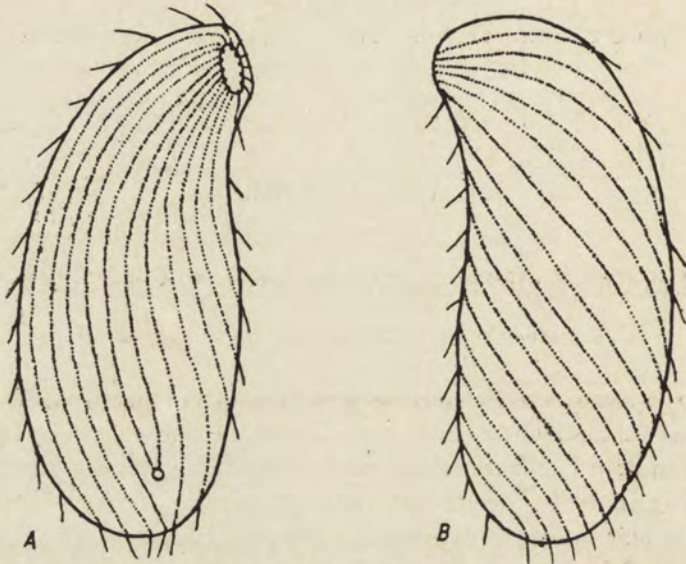


Fig. 1. *Platyophrya spumacola* Kahl. A — coté ventral, B — coté dorsal

d'une façon parfois très bizarre. L'animal rampant parmi les algues devient vermi-forme et pour passer à travers une fente étroite amincit successivement son corps jusqu'à ce qu'il peut ressembler même à la clepsidre (Fig. 2).

L'extérieur de ce cilié dépend aussi de la quantité de nourriture absorbée. Le cilié affamé est plat, mince et transparent. Après un repas abondant son corps devient large et le cytoplasme se remplit de vacuoles (Fig. 3). La population en culture se nourrissait en principe de petits Flagellés du genre *Bodo*, qui étaient abondant dans la mousse et formaient des "prairies" entières sur les débris de la matière

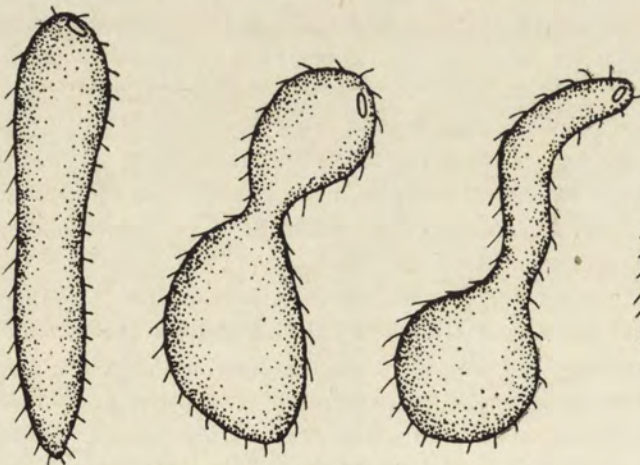


Fig. 2. *Platyophrya spumacola* Kahl. La métabolie du corps

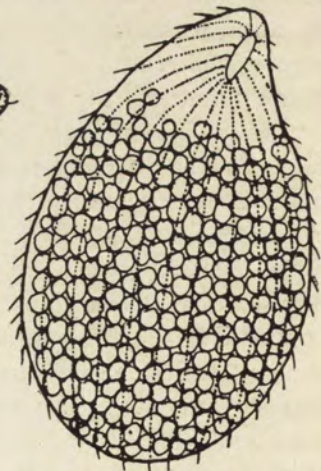


Fig. 3. *Platyophrya spumacola* Kahl. L'animal repu

organique. Par contre *Cyclidium*, qui vivait aussi dans la culture n'attirait pas ces ciliés. Une fois j'ai observé comme un individu de *Platyophrya spumacola* faisait des efforts pour avaler une amibe qui lui a bouché le cytostome et ne voulait pas entrer; finalement elle a été crachée. Quelques fois j'ai remarqué les cas du cannibalisme: de grands individus devoraient les petits qui venaient de sortir du kyste (Pl. II 7). Parfois ils avalaient aussi les kystes.

Pour soutenir la population de Bodo je jetais dans la culture des vers (*Enchytraidae*) coupés en morceaux, dont les Flagellés s'occupaient immédiatement. A cette occasion il s'est montré que *Platyophrya spumacola* mange aussi très volontiers les tissus frais, choisissant surtout les boules de graisse. En présence des tissus les ciliés se comportent comme des vrais histophages: ils se gorgent de nourriture, leur corps augmente, leur mouvements ralentissent. A cet état ils forment souvent les kystes de digestion.

A cette occasion je pouvais noter encore un détail curieux: les ciliés sont attirés d'une façon bizarre par les soies de vers qu'ils avalent facilement bien que celles-ci soient plus longues qu'eux-mêmes (Pl. II 8). Si les cellules du ver adhéraient encore aux soies cette réaction serait facile à comprendre mais les ciliés avalent des soies tout-à-fait nettoyées de tissus. Grâce à l'extraordinaire souplesse de l'animal les soies se placent dans de différentes positions dans le cytoplasme, dilatant les parois du corps (Fig. 4). Leur élimination ne présente aucune difficulté: après quelque

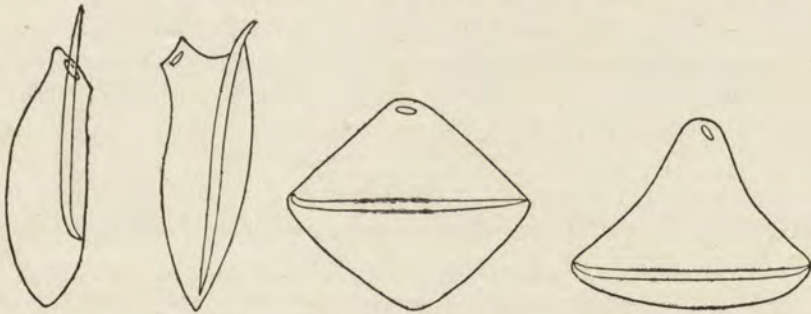


Fig. 4. *Platyophrya spumacola* Kahl. Les soies avalées dans le cytoplasme

contractions de l'animal la soie sort par n'importe quel endroit du corps. J'observais aussi les ciliés qui prenaient une soie avec le cytostome et la traînaient pendant quelques secondes en nageant en arrière.

Pour voir si les ciliés sont attirés également par d'autres objets longs et minces j'ai pêché un certain nombre d'individus et je les ai placés en présence d'*Oscillatoria* (*Cyanophyceae*) sans d'autres organismes. Quelques uns se sont tout de suite enkystés; les autres ont commencé à ramper sur les filaments des algues, en essayant de les avaler. Les individus qui ont réussi à trouver les fragments assez petits d'*Oscillatoria* et les ont avalés sont morts en quelques heures avec les cellules bleu-verts à moitié digérées dans leur vacuoles. Alors *Oscillatoria*, qui présente pour certains ciliés

la nourriture ordinaire est toxique pour *Platyophrya spumacola*. Quelques individus ont avalé des filaments longs d'*Oscillatoria*. Ceux-ci les transperçant de part en part les ciliés sont morts sans pouvoir se dégager.

Cette réaction de *Platyophrya spumacola* est difficile à expliquer. Primo: des animaux en general ne touchent pas la nourriture qui est pour eux toxique. Secundo: si *Platyophrya spumacola* se nourrissait d'algues filamenteux on pourrait comprendre qu'il soit attiré par des objets longs et minces; comme sa nourriture se compose de petits organismes unicellulaires plus ou moins ronds cette explication n'est pas valable. Il s'agit peut-être d'une thigmotaxie poussée très loin mais pour le moment il est difficile de donner une réponse satisfaisante.

Resumé

On a étudié la morphologie de cilié Gymnostomien *Platyophrya spumacola* Kahl trouvé dans la mousse d'une forêt au sud de la Pologne et cultivé pendant six mois. Les dimensions de cilié sont très variable, longueur du corps mesure de 30 jusqu'à 120 μ , il a 26 cinéties. On a obtenue aussi quelques observations intéressantes de biologie de *L. spumicola*.

STRESZCZENIE

Zbadano morfologię orzęska *Platyophrya spumacola* Kahl (*Gymnostomata*) znalezionego w mchu w lesie w południowej Polsce i hodowanego przez 6 miesięcy. Wymiary orzęska są bardzo zmienne, jego długość wynosi od 30 do 120 μ . Liczba kinet wynosi 26. Uczyniono również szereg interesujących obserwacji nad biologią *P. spumicola*.

BIBLIOGRAPHIE

- Kahl A. 1930: Urtiere oder Protozoa. I: Wimpertiere oder *Ciliata* (*Infusoria*). In Dahl F. Die Tierwelt Deutschland Teil 18.
 Lukacs D. 1938: Ergänzende Beobachtungen über die Morphologie und Lebensprozesse zweier Holotricher Prostomaten-Ciliaten: *Pseudoprorodon niveus* und *Platyophrya spumacola*. Arb. ung. biol. ForschInst., 10, 219-234.
 Wenzel F. 1953: Die Ciliaten der Moosrasen trockner Standorte. Arch. Protistenk., 99, 70-141.

EXPLICATION DES PLANCHES I-II

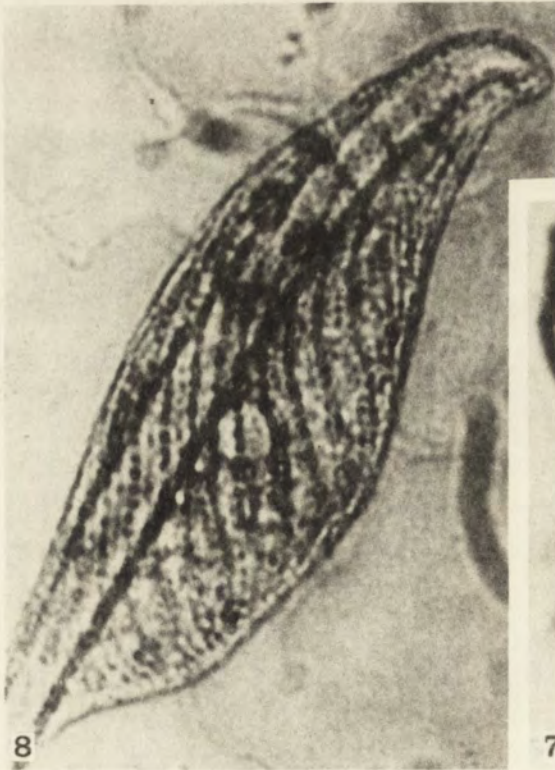
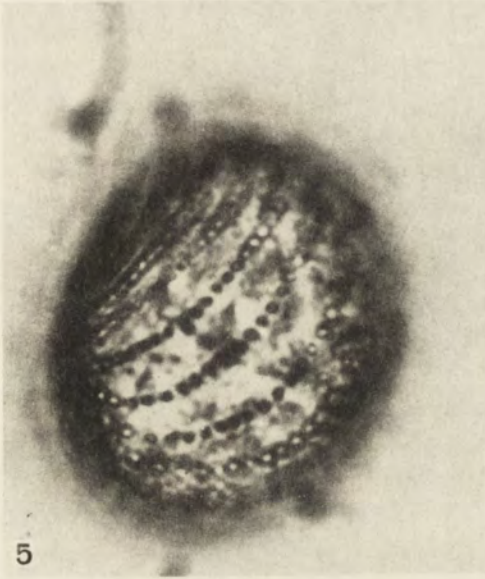
Platyophrya spumacola Kahl

- 1: Le cytostome
- 2: La ciliature du côté ventral
- 3: La ciliature du côté dorsal
- 4: Les cinéties vues de tous les deux côtés à la fois
- 5: Le kyste
- 6: Deux petits individus après la division
- 7: La canibalisme
- 8: L'individu qui a avalé une soie de ver



A. Czapik

auctor phot.



A. Czapik

auctor phot.

Krystyna GOLIŃSKA

Comparative studies on the morphology of *Dileptus anatinus* sp. n.
(*Holotricha*, *Gymnostomata*)Porównawcze badania nad morfologią *Dileptus anatinus* sp. n.
(*Holotricha*, *Gymnostomata*)

In the present study the morphology of the new species of *Dileptus* has been investigated as an introduction to the study of its morphogenesis. Moreover, the results of the observations of the ciliature on its proboscis and around the cytostome in two other species of *Dileptus*: *D. anser* (O.F.M.) and *D. cygnus* (Clap. et Lachm.) have been included.

The new species has been distinguished basing on the features that had served till now for the classification of the *Dileptus* species, as e.g. the size, position of the contractile vacuoles and morphology of the nuclear apparatus. It is suggested that some features of the ciliary arrangement should be also considered as such that can be used for determination of the species of *Dileptus*.

The morphology and arrangement of the ciliature within the genus *Dileptus* is not well known and has never been used as criterion for characterization of the species. All the authors describe the thick aciliary lip around the cytostome of *Dileptus*, that merges directly into aciliary band on the ventral side of proboscis, the so called ventral band which contains the toxic trichocysts. The remaining part of the body is covered with meridional rows of identical cilia. The fibers that accompany the perioral structures are: the central fiber of proboscis, as well as the fiber surrounding the ventral band and the cytostome lip as the continuous one, described by Klein 1930, Visscher 1927, Jones and Beers 1953. This second fiber Dragesco 1963 and Peschkowski 1931 consider as a double form. However, the margins of the aciliary area of the ventral band as well as the pericytostomal area, do not show a fibrous structure in E.M. (Dumont 1961, Grain et Golińska 1969). This is really a dense row of aciliary kinetosomes in the region of cytostome, connected with the nemadesms of the external cone of the cytopharyngeal complex. Around the ventral band each of the aciliary kinetosomes forms a pair with a kinetosome with a cilium, which can be seen in the light microscope (Grain et Golińska 1969). The aciliary kinetosomes give transversal fibers, directed toward

the cytostome. On the ventral band, these fibers fuse into one thick longitudinal central fiber running below the surface of the band (Dumont 1961). The presence of this fiber in *Dileptus* was reported by Peschkowski 1931 basing on light microscope observations, and in related form *Paradileptus* by Canella 1951.

The cilia surrounding the ventral band, the so called feeding cilia, have also been described as appearing in various number and arrangement. In the majority of cases a single row of feeding cilia was described on each side of ventral band (Wrześniowski 1870, Kahl 1931, Hayes 1938, Canella 1951, Dragesco 1963), provided with cilia longer than those on the remaining part of the body. Some authors describe an asymmetrical arrangement around the ventral band and draw short oblique kineties on one of the sides of proboscis (Peschkowski 1931, Canella 1951) or sensory bodies (Gelei 1934, Dragesco 1963). In our studies on *Dileptus cygnus* (Grain et Golińska 1969) on the right side of the ventral band, a double row of feeding cilia was found to occur, situated closely to each other, and on the left side — closely to the band — one row of dense feeding cilia and further on, short oblique kineties each of which contained only two cilia. In the studies on *D. gigas*, Peschkowski 1931 describes 3–6 kinetosomes in each of the oblique kineties.

In the present studies, the problem of the existence of a specialized oral ciliature in *Dileptus* has been taken into account as well. This problem is closely connected with the suggestion presented earlier (Grain et Golińska 1969, Golińska et Grain 1969) that the ventral band is a specialized part of pericytostomal area. In this case the feeding cilia would be a part of the ciliature surrounding the oral area.

Materials and methods

The new species of *Dileptus* was found in August 1969 in Zaborów near Warsaw in a small pond. The water level was low after a prolonged draught. A culture has been started, using the same medium and food as for other species of *Dileptus*, i.e. Pringsheim's solution or tap water as medium and a mixed culture of *Colpidium* and *Tetrahymena* as food.

In fixed preparations, the nuclear apparatus was revealed by the Feulgen reaction and the ciliary apparatus by the method of Parducz 1952. *Dileptus anatinus* is so far the only species in our collection that can be easily stained with haematoxylin. Attempts of impregnation with protargol fail to give comparative picture of the ciliature of *Dileptus*.

Results

Morphology of *Dileptus anatinus* sp. n.

Dileptus anatinus sp. n. has the cylindrical shape, characteristic for its genus, with the cytostomal area in its anterior part. The posterior body part is tapering into the caudal part. On the dorsal part, over the cytostome, a mobile elongated

appendix is formed, the so called proboscis. The cytostome is surrounded by a double cone of nemadesma. The contractibility of the body is very low. The average length of proboscis is about $1/3-1/2$ of the remaining part of the body.

The length of the ciliate measured together with proboscis is highly variable in a prosperous culture, and falls within the limits of 900–1200 μ , in favorable conditions. These differences might be still more considerable.

The contractile vacuoles are situated in two arrays: one of them is situated on the dorsal body part (Pl. I 1) and enters the dorsal part of proboscis. It contains 20 vacuoles. The second array is situated on the ventral side (Pl. I 2), has only 4–5 vacuoles and reaches the cytostome lip. All the vacuoles are of the same size regardless of their localization.

The nuclear apparatus of *D. anatinus* is of the dispersed type. The macronucleus (Pl. I 3) is composed of very numerous (200–500) small fragments of different size, evenly dispersed in the cell and entering also the thicker part of proboscis. Each fragment of macronucleus contains numerous small nucleoli (Pl. I 5). The micronuclei are all of the same size, about 1.5 μ in diameter and are evenly dispersed in the cell. They are more than ten in number. During the division each fragment of macronucleus divides separately assuming an elongated shape with an irregular course. In each elongated macronucleus fragment are Feulgen-negative areas, it is probable that during the division the nucleoli are not removed from the nucleus.

The whole body of *Dileptus anatinus* is evenly ciliated with the exception of the ventral band of proboscis and the pericytostomal lip. All the meridional rows of cilia in the caudal part reach end of the body, in the anterior part the ventral rows end near the cytostomal lip, the dorsal ones get on the proboscis. The ciliary system shall be discussed in details in the further part of this study. It should only be mentioned here that principally the ciliature of the left side of proboscis can have a taxonomic value, thus the number of kinetosomes in each oblique row is 5 in *D. anatinus*, the number of rows of spaced cilia measured just above the cytostome is about 6.

The results of comparative studies on morphology of three species of *Dileptus*

The structure of nuclear apparatus

The three species of *Dileptus* which are compared, belong to two groups which differ by the structure of the nuclear apparatus. The nuclear structure of the dispersed type (Dragesco 1963) occurs in *D. anser* and *D. anatinus* sp. n. whereas in *D. cygnus* the nucleus is moniliform. The dispersed fragments of the macronucleus in *D. anser* and *D. anatinus* differ from each other by the number of nucleoli. *D. anser* has in each fragment of its macronucleus mostly one, centrally situated nucleolus (Pl. I 6), although, according to the data of Jones 1951 their number

may reach 4. In *Dileptus anatinus* sp. n. the fragments of macronuclei are filled with very numerous small nucleoli (Pl. I 5) and it should be added that no fragment with only one centrally situated nucleolus was found. The shape of the dividing fragments of macronucleus is also different in both species. The macronuclear fragments of *D. anser* take the shape of a very long thin rod with slight swellings at both ends during the division. Such a characteristic form has already been described by Jones 1951. *D. anatinus* sp. n. contains also elongated fragments of the macronucleus during the division, but they have the shape of fairly thick irregular rods which are often twisted (Pl. I 7). This image resemble to the pictures observed by Studitsky 1930 in the case of dividing macronuclei in the form called by him *Dileptus gigas*.

Ciliary apparatus

When observing the ciliary systems, a special attention was payed to the arrangement of the cilia around the mouth and on proboscis. The pictures obtained in *D. anatinus* sp. n. and *D. anser* were compared with the previously studied (Grain et Golińska 1969) perioral ciliature of *D. cygnus*.

The structure of the cytopharyngeal complex and the ventral band seems to be similar in all three species of *Dileptus* studied. Everywhere a double cone of nemadesma surrounding the cytostome can be seen. The toxic trichocysts are on the right side of the ventral band and the central fiber is shifted to the left side of the band. The width of the ventral band is similar in the species studied, although significant differences in the length and thickness of proboscis can be observed.

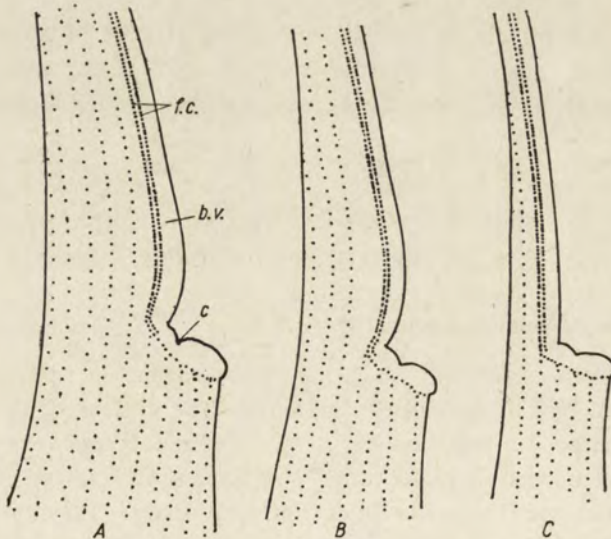


Fig. 1. Pattern of ciliature of the right side of proboscis. A — *Dileptus anatinus* sp. n. B — *Dileptus anser*, C — *Dileptus cygnus*, c — cytostome, b. v. — ventral band, f. c. — feeding cilia

The ciliature of the right side of proboscis is very similar in the three species of *Dileptus* under study. Near the right margin of the ventral band, there is a double row of feeding cilia (Pl. II 8) which are placed very closely to each other. These cilia can display a metachronal type of movement (Pl. II 9), regardless of whether it includes also the rows of neighbouring cilia. The feeding cilia have not been observed to differ in length from the cilia of the remaining part of the body, however it is clear that they are located more densely.

On proboscis to the right of the feeding cilia there are some more "normal" ciliary rows — in which the distances between the rows and kinetosomes are the same as in the central part of the body. The number of these arrays differs in various species and seems to depend on the thickness of proboscis (Fig. 1). When measured just above the cytostome it has the mean value of 6 rows for *D. anatinus* sp. n., for *D. anser* 4 rows, for *D. cygnus* 2 or 3. Further on towards the apical part of proboscis their number decreases, the dorsal rows following on narrowing proboscis become the rows of sensory bodies and none of them was observed to reach the tip of proboscis. Backwards, the rows of these cilia merge directly into the rows of cilia of the right aspect of the body.

The left side of proboscis differs more widely in the species under study (Fig. 2). Only the dense row of kinetosomes near the left margin of the ventral band is the same, being similarly densified as the feeding cilia on the right side (Pl. III 15). This single row on the left side of the band is often stained with haematoxylin as a solid line and can be erroneously considered to be a fiber. The cilia of this group of feeding cilia do not seem to be longer or thicker than those on the remaining parts of the

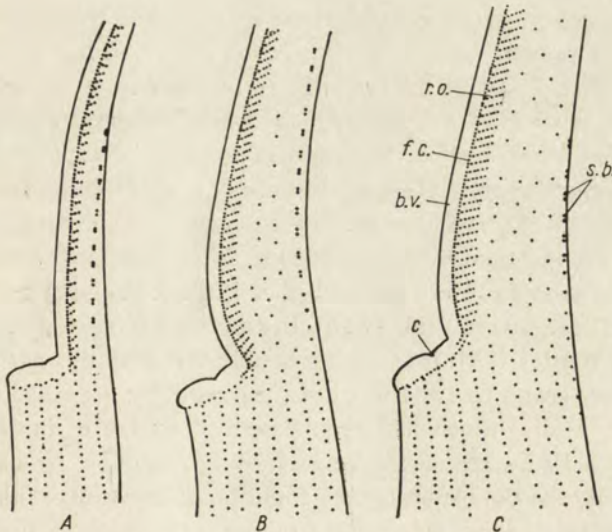


Fig. 2. Pattern of ciliature of the left side of proboscis. A — *Dileptus cygnus*, B — *Dileptus anser*, C — *Dileptus anatinus* sp. n. c — cytostome, b. v. — ventral band, c. f. — feeding cilia, r. o. — oblique rows, s. b. — sensory bodies

body, at least in *D. anatinus* sp. n., where the intense staining allows to ascertain this fact. Further on, towards the left side, a strand of short oblique kineties is present. These structures called by Peschkowski 1931 "membranelles" contain a different number of kinetosomes in different species. Probably this value does not undergo changes within the same species. In *D. cygnus*, in each oblique row 2 kinetosomes were found, in *D. anser* — 4, in *D. anatinus* sp. n. — 5. These rows can probably be also considered as a sort of feeding cilia. They reach the dense row near the band, and one "membranella" corresponds to more or less two kinetosomes of the dense row (Pl. III 14, 15). It is interesting to note that the metachronal movement has never been observed in this part of feeding cilia, even when it occurred on the right side of the band (Pl. II 12).

On the left side of proboscis, further on toward the dorsal side, a few rows of spaced cilia can be found to occur in *Dileptus anatinus* sp. n. This part of the ciliature does not occur in *D. cygnus*, in *D. anser* it can be found only in big individuals and even then it does not proceed far on the proboscis (Pl. IV 19). The number of rows of spaced cilia seems to depend directly on the thickness of proboscis. They constitute a prolongation of the ciliary rows of the left body side; towards the anterior part they end their course in turn, not reaching the tip of proboscis. None of them has been observed to merge further on with sensory bodies or connected with the oblique rows of feeding cilia (Pl. IV, 20–22). The number of rows of spaced cilia measured just above the cytostome is 4–7 for *D. anatinus*, for *D. anser* the highest number found is 3, and in small individuals these rows have been not found at all.

The system of the sensory bodies that had been described in *D. anser* by Gelei 1934 can be studied in detail in *D. anatinus* sp. n. thanks to its affinity for stains. These bodies are present only on proboscis, on the extension of the ciliary rows of the left and dorsal part of the body. In *D. anatinus* sp. n. the mean number of 5 arrays of sensory bodies has been found, when measured on the level distant from the cytostome of about 1/4 of the length of proboscis. The pictures thus obtained show that in *D. anatinus* sp. n. the parts of sensory bodies localized more backwards on the body (Pl. IV 24), near the area of occurrence of the normal cilia, as well as those which are localized more towards the dorsal side, are composed of single, short, rod-like structures. The sensory bodies in the remaining areas of their occurrence are grouped by twos (Pl. IV 24). In *D. cygnus* (Grain et Golińska 1969) and in *D. anser* (Gelei 1934) it is most probable that only this part of the sensory bodies where they group by twos, was described as being the sensory bodies. Three rows of sensory bodies which had been described by Gelei in *D. anser*, clearly visible also in Pl. IV 23, are composed exclusively of double structures. Similarly, in *D. cygnus*, only the double structures could be discerned from the normal cilia. It was observed in all three species that the sensory bodies in their double form can reach, as far as the tip of proboscis, even in *D. cygnus* where the apical part of proboscis is very narrow. It can be expected that the single sensory bristles occur

in all three species, only in *D. anser* and *D. cygnus* they cannot be discerned from the normal cilia because of the difficulties in staining. The similarity of localization and arrangement of these structures allow to suggest that their ultrastructure is analogous to that in *D. cygnus* (Grain et Golińska 1969) and that they are transformed cilia.

The arrangement of ciliature was also studied around the cytostomal area and special attention was payed to the places where the ventral band reaches the lip. The following result seems to be the most important: namely, that in *D. anatinus* sp. n. and in other species studied, both the internal rows of feeding cilia near the ventral band break off after having passed a small distance around the lip (Pl. II 11, Pl. III 13), sometimes at the very beginning. They do not pass further on into rows of normal cilia on the ventral part of the body, as it occurs with the rest of the feeding cilia of proboscis. It should be remembered that these kinetosomes of the internal rows of the feeding cilia in *D. cygnus* (Grain et Golińska 1969) and most probably also in other species, are connected with the aciliary kinetosomes that give fibers to the area of the ventral band. In the previous studies on *D. cygnus* the authors have not been able to establish the lack of continuity of the internal rows of the feeding cilia below the cytosome. Distinct pictures have been obtained just for *D. anatinus* sp. n. — thanks to the good staining as well as to the consider able dimensions of its proboscis.

On the right side of cytostome of *D. anatinus* and of the remaining species studied, a second row of feeding cilia localized at a longer distance from the band, goes further backwards after detachment of the internal row, then it turns and becomes one of the normal ventral rows neighbouring with the extensions of the normal rows of cilia of the right side.

To the ventral side the cytostome lip is bordered with consecutive curved parts of the ventral rows of cilia. Similar systems have been observed in all three species studied.

On the left side of cytostome in *D. anatinus* sp. n. the “membranellae” after reaching the cytostomal lip form gradually shortening rows (Pl. III 14) i.e. instead of 5 they include at first 4, then 3, 2 cilia and at last in the place where the internal row of feeding cilia breaks off a single row arises which seems to merge further into one of the normal ventral rows of cilia. Nearer the ventral part, similarly as on the right side, the fringe of the cytostome lip seems to be formed by the consecutive curved parts of the ventral rows (Pl. III 16, 17). Therefore, an attempt was made to find a place where the kinetosomes are missing, for the neighbouring rows are curved towards opposite directions. Such an place has not been found, although there are places where the kinetosomes are spaced apart and it is difficult to relate them to any of the ventral rows.

For better understanding of the ciliature arrangement around the mouth and especially the orientation of the “membranellae” and the curved rows around the

cytostomal area, the studies concerning the formation of these parts of the ciliature during the morphogenetic processes on one, and further studies of their ultrastructure on the other hand, are necessary.

Discussion

When analysing the results, the following problems arise: a. Whether *D. anatinus* can really be considered as a new species? b. Whether the types of ciliature on the proboscis may be taken into account when characterizing the species? c. Whether *Dileptus* is provided with an oral ciliature?

Dileptus anatinus sp. n. is the nearest to the widely known species *Dileptus anser* (O.F.M.). The comparison between these two species and the evidence for the fact that *D. anatinus* is a distinguished species has been given in the above discussed part of the present study. In view of the still greater differences there seems to be no necessity for the comparison of the species described with the remaining species of the genus *Dileptus*.

The works of Studitsky 1930 seem to be worth mentioning as well as those of Peschkowski 1931, in which the authors described the morphology of form called by them *D. gigas*. However, Canella 1951 and Dragesco 1963 are of the opinion that earlier authors dealt not with *D. gigas*, which have a big, single macronucleus (according to Claparede and Lachmann 1859), but with *D. anser*. However, a more exact study of morphology of the forms described by Studitsky 1930 and Peschkowski 1931 allows to postulate that these authors dealt with *D. anatinus*. This is supported by the structure of the nuclear apparatus which is the same in both forms, as well as by the type of ciliature described by Peschkowski 1931 on the proboscis, together with the affinity for haematoxylin.

It seems, that *D. anatinus* can be considered as a new species considering the features used till now for determination, as well as those suggested presently. The size of the ciliate may be a feature the least reliable for the differentiation of the species of *Dileptus* as being highly variable, however the presence of the ventral array of contractile vacuoles and the structure of the macronucleus allows to differentiate this species from *D. anser* even in the case when we deal with a small number of specimens.

As far as the differentiation of the species of *Dileptus*, as well as the determination of the species *D. anatinus* are concerned it is interesting to mention that the toxic trichocysts are shot when two individuals belonging to two different species meet and that this phenomenon occurs after the cultures of *D. anser* and *D. anatinus* have been mixed. In the previous studies, this phenomenon was found to occur in relation to *D. anser* and *D. cygnus* (Grain et Golińska 1969). The reaction of trichocyst shooting has never been observed to occur within one species. This phenomenon has an interesting support in the studies carried out previously (Grain

et Golińska 1969) where some differences in the ultrastructure of the toxic trichocysts in *D. cygnus* and *D. anser* (Dragesco, Auderset et Baumann 1965) were found. Presently studies are conducted on the ultrastructure of *D. anatinus* sp. n. and other species of *Dileptus*. It is possible that the features characteristic for different species of *Dileptus* can also be found on the ultrastructural level of the cell.

Till now, the ciliary systems have not been taken into account as a species feature within the genus *Dileptus*, probably because of the difficulties in their staining. The number of kineties within the individual species shows significant variations, and seems to be directly related to the size of the specimens. When comparing different species, the extreme numbers of kineties may overlap. This concerns also the segments of the kineties reaching the proboscis, that is, the number of "normal" rows on the right side of proboscis, as well as the spaced rows together with the sensory bodies on the left side of this organ. Therefore, the determination of the species based on these features is possible only in the case of a prosperous culture of ciliates. It is possible that the number of kinetosomes in the oblique rows of "membranellae" is a feature that is species constant. In the present work 5 kinetosomes were always found in one oblique row in *D. anatinus* sp. n., in *D. anser* 4 and in the previous studies on *D. cygnus* always only 2 kinetosomes were observed in one oblique row. However, in the studies of Peschkowski 1931 the number of kinetosomes in the membranellae in the case of the *Dileptus* species studied by this author, is estimated by her as variable within the limits of 6 to 3. It is possible that in unfavorable conditions these numbers can really undergo changes — in the present work only ciliates from prosperous cultures were used. It seems that the number of kinetosomes in the oblique rows can be considered as having a taxonomic value with the restriction that this concerns only individuals kept in good conditions.

The problem of the existence of the oral ciliature in *Dileptus* remains to be discussed. According to its systematic classification *Dileptus* should not have a special oral ciliature and the cytopharyngeal complex should exist and to be formed independently of the ciliature (Corliss 1967). Previous studies (Grain et Golińska 1969, Golińska et Grain 1969) have shown that the ciliature around the cytostome is no doubt specialized, that it contains a complicated system of fibers connected to the aciliary kinetosomes. It is also well known that the external part of the cytopharyngeal basket is connected to the kinetosomes during the whole life of the animal and the internal part during the formation of mouth. It has also been established that during regeneration a proliferation of the kinetosomes occurs in the region of the aciliary area, that in future is to become the cytostome and the ventral band. Unfortunately, it is not exactly known which category of kinetosome are formed in the course of this process. Whether this concerns only the aciliary kinetosomes or whether the proliferation concerns as well the internal rows of the feeding cilia connected to them. In this context it is interesting to mention that the internal rows of the feeding cilia do not constitute an extension of any of the meridional rows

of cilia and break off within the perioral lip. This fact has been established in the present work.

The problem of existence of oral ciliature in *Dileptus* can be solved only by studying the morphogenetic processes of the oral part and of proboscis, *Dileptus anatinus* sp. n. seems to present an exceptionally favorable material for these studies.

Summary

The work contains the comparison of ciliary apparatus of proboscis and around the cytostome in three species of *Dileptus* as well as a description of one of the species as a new one. *D. anatinus* sp. n. is characterized by the size of 900–1200 μ , the presence of an additional ventral row of contractile vacuoles, numerous nucleoli in the macronuclear fragments, on the left side of proboscis 5 kinetosomes in each oblique row of cilia, and numerous rows of spaced cilia.

A reaction of shooting off trichocysts has been found to occur after the contact of two individuals from different species. The presence of the oral ciliature in *Dileptus* is discussed, in favour of which speaks the occurrence of kineties restricted to the perioral area. Also the value of the ciliary apparatus as taxonomic features within this genus has been discussed, and especially that of the perioral ciliature.

STRESZCZENIE

Praca zawiera porównanie układów rzęskowych na proboscis i wokół cytostomu u trzech gatunków *Dileptus* oraz opis jednego z nich jako gatunku nowego. *D. anatinus* sp. n. charakteryzuje się wielkością 900–1200 μ , obecnością dodatkowego brzuszego rzędu wodniczek tętnicznych, licznymi nukleolami we fragmentach makronukleusa. Posiada 5 kinetosomów w każdym ukośnym rzędzie rzęsek na proboscis, na lewej stronie proboscis ma również liczne rzędy rzadko rozsianych rzęsek.

Stwierdzono reakcję wystrzeliwania trichocyst toksycznych przy zetknięciu osobników różnych gatunków oraz omówiono obecność orzęsienia oralnego u *Dileptus*, za którą przemawia występowanie kinet ograniczonych do terenu przygębowego. Dyskutowano też wartość układów rzęskowych a w szczególności orzęsienia wokółgębowego, jako cech taksonomicznych w obrębie tego rodzaju.

REFERENCES

- Canella M. F. 1951: Osservazioni morfologiche, biologiche e sistematiche su *Paradileptus estensis* sp. n. e su altri *Trachiliidae* (*Holotricha*). An. Univ. Ferrara Sez. III., 1, 81–170.
- Claparede E. et Lachmann J. 1859: Etudes sur les Infusoires et les Rhizopodes. Mém. Inst. natn. Genev., 6, 261–482.
- Corliss J. O. 1967: An aspect of morphogenesis in the ciliate protozoa. J. Protozool., 14, 1–8.
- Dragesco J. 1963: Revision du genre *Dileptus* Dujardin 1871 (*Ciliata Holotricha*) (Systematique, Cytologie, Biologie). Bull. biol. Fr. Belg., 97, 103–145.

- Dragesco J. Auderset G. et Baumann M. 1965: Observations sur la structure et la genèse des trichocystes toxiques et des protrichocystes de *Dileptus* (Ciliés *Holotriches*). *Protistologica* 1, 81-90.
- Dumont J. 1961: Observations on the fine structure of the ciliate *Dileptus anser*. *J. Protozool.*, 8, 392-402.
- Gelei J. 1934: Die sensorischen Organellen der Ciliaten. *Allatt. Kozl.*, 31, 115-138.
- Golińska K. et Grain J. 1969: Observations sur les modifications ultrastructurales lors de la régénération chez *Dileptus cygnus* Clap. et Lachm., 1859, Cilie *Holotriche Gymnostome*. *Protistologica* 5, 447-464.
- Grain J. et Golińska K. 1969: Structure et ultrastructure de *Dileptus cygnus* Claparede et Lachmann 1859, Cilie *Holotriche Gymnostome*. *Protistologica* 5, 269-291.
- Hayes M. L. 1938: Cytological studies on *Dileptus anser*. *Trans. Am. microsc. Soc.*, 57, 11-25.
- Jones E. E. 1951: Encystment, excystment and the nuclear cycle in the ciliate *Dileptus anser*. *J. Elisha Mitchell scient. Soc.*, 67, 205-217.
- Jones E. E. and Beers C. D. 1953: Some observations on the structure and behaviour in the ciliate *Dileptus monilatus*. *J. Elisha Mitchell scient. Soc.*, 69, 42-48.
- Kahl A. 1931: Wimpertiere odre *Ciliata* (*Infusoria*). 2. *Holotricha*. *Die Tierwelt Deutschlands*, Ed. G. Fischer Jena.
- Klein B. M. 1930: Das Silberliniensystem der Ciliaten. *Arch. Protistenk.*, 69, 235-326.
- Párducz B. 1952: Új gyorsfeszítő eljárás a véglénykutatás és oktatás szolgálatában. *Annls hist.-nat. Mus. natn. hung.*, 2, 5-12.
- Peschkowski L. 1931: Zur Morphologie von *Dileptus gigas* und *Loxophyllum meleagris*. *Arch. Protistenk.*, 73, 179-203.
- Studitsky J. B. 1930: Materialien zur Morphologie von *Dileptus gigas*. *Arch. Protistenk.*, 70, 155-185.
- Visscher J. F. 1927: A neuromotor apparatus in the ciliate *Dileptus gigas*. *J. Morph.*, 44, 373-381.
- Wrześniowski A. 1870: Beobachtungen über Infusorien aus der Umgebung von Warschau. *Z. wiss. Zool.*, 20, 467-511.

EXPLANATION OF PLATES I-IV

The system of contractile vacuoles and the structure of the nuclear apparatus in different species of *Dileptus*

- 1: *Dileptus anatinus* sp. n., alive specimen, the proportions of the body are visible as well as the dorsal array of contractile vacuoles
- 2: *D. anatinus* sp. n., alive specimen, the ventral array of contractile vacuoles
- 3: *D. anatinus* sp. n., the nuclear apparatus, numerous macronuclear fragments
- 4: *D. anser*, the nuclear apparatus, numerous macronuclear fragments
- 5: *D. anatinus* sp. n., the nuclear apparatus, numerous nucleoli in the macronuclear fragments
- 6: *D. anser*, the nuclear apparatus, single nucleoli in nearly all the macronuclear fragments
- 7: *D. anatinus* sp. n., the nuclear apparatus, the division, numerous elongated macronuclear fragments contain nucleoli

The ciliature of the right side of proboscis in *Dileptus anatinus* sp. n.

- 8: A general view of the ciliature of the right side, the transition of the ciliary rows on proboscis into rows on the right side of the body
- 9: The metachronal movement of the feeding cilia which does not extend to the rest of the cilia of the right side
- 10: The feeding cilia in the region of the cytostomal area. Double row of kinetosomes is visible
- 11: Feeding cilia on the margin of oral lip. It can be seen that the internal row of cilia is broken off
- 12: The ventral band of the proboscis. The metachronal movement of the feeding cilia can be seen, as well as its absence on the left side

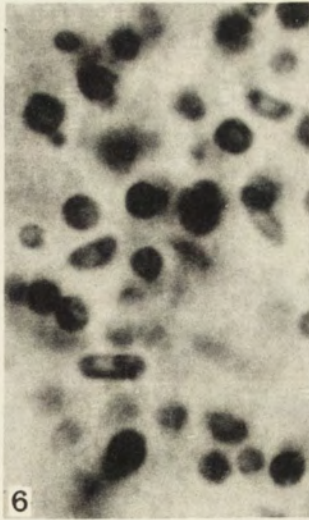
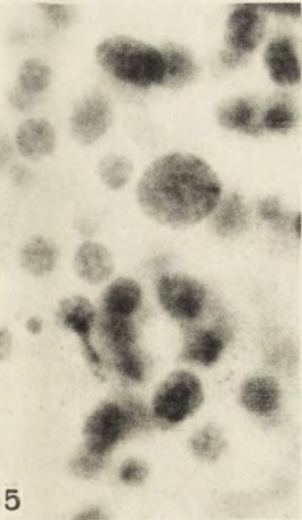
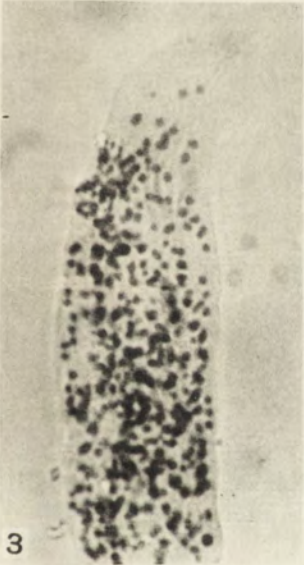
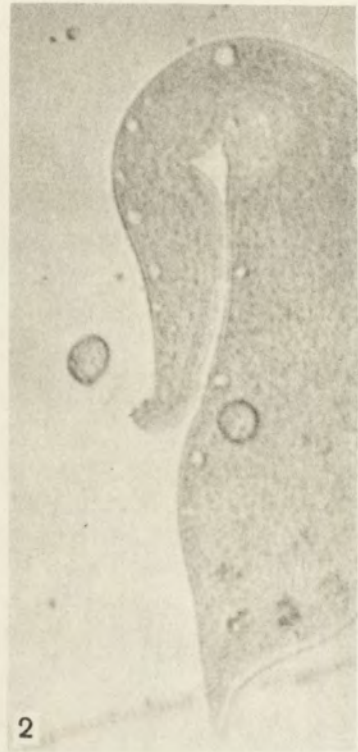
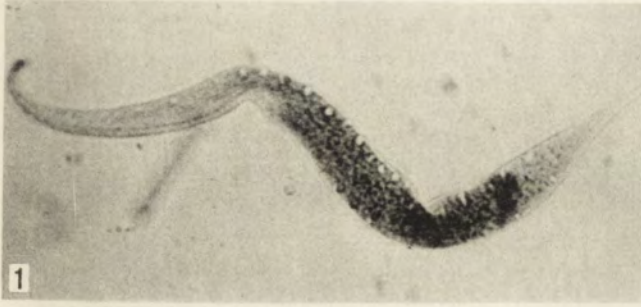
The ciliature on the left side of the cytostomal area in *Dileptus anatinus* sp. n.

- 13: The cytostomal area. In its upper part the connection to the ventral band and the internal rows of the feeding cilia broken off from both sides
- 14: The same object as in 13, the kinetosome system on the left side of the band is visible as well as the end of "membranellae" near the cytostome area
- 15: Feeding cilia on the left side of the band — it can be seen that the internal row is composed of kinetosomes placed very densely
- 16: The arrangement of the kinetosomes on the left side of the cytostomal area
- 17: The same object as in 16. Curving of the ventral arrays of cilia can be observed, as well as the transition of the side ones into spaced rows on proboscis

The ciliature of the left and ventral side of the proboscis in different species of *Dileptus*

- 18: *Dileptus anatinus* sp. n. The spaced rows of the left side of proboscis
- 19: *D. anser*. The spaced rows of the left side of the proboscis
- 20: *D. anatinus* sp. n. The left side of proboscis
- 21: *D. anatinus* sp. n. The left-dorsal side of the proboscis. The border between the spaced rows and the sensory bodies
- 22: *D. anatinus* sp. n. The dorsal side of proboscis. The arrangement of sensory bodies
- 23: *D. anser*. The left side of proboscis. The arrangement of the sensory bodies can be seen together with lack of spaced ciliary rows
- 24: *D. anatinus* sp. n. The left-dorsal side of proboscis. The arrangement of sensory bodies on the border of the area of the spaced cilia
- 25: *D. anatinus* sp. n. The dorsal side of proboscis. The transition of the dorsal rows of cilia into the area of the sensory bodies

(1-2 in vivo photograph, 3-7 staining the Feulgen method, 8-25 haematoxylin staining after Parducz)



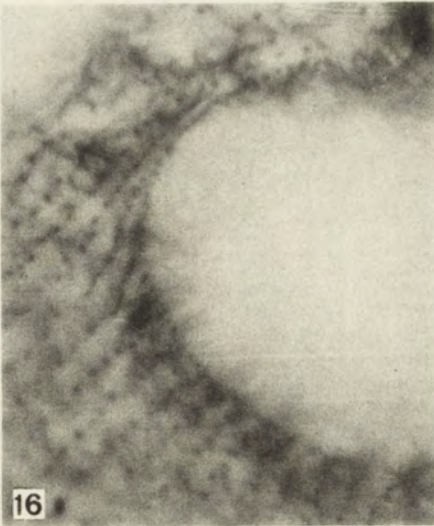
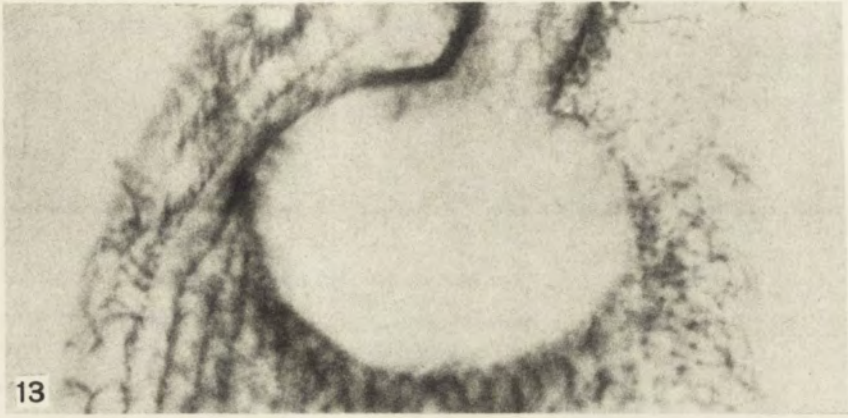
K. Golińska

auctor phot.



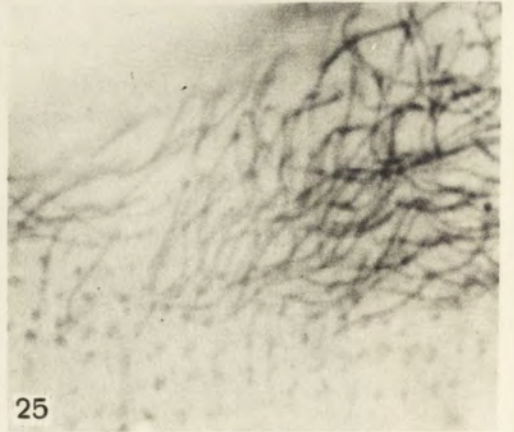
K. Golińska

auctor phot.



K. Golińska

auctor phot.



K. Golińska

auctor phot.

Лаборатория Цитологии одноклеточных организмов Института Цитологии Академии Наук СССР, Ленинград
Ф-121, проспект Маклина 32, СССР

Институт Зоологии Академии Наук Азербайджанской ССР, Баку, 6-ая Хребтовая 5, СССР

Laboratory of Cytology of Unicellular Organisms, Institute of Cytology, Academy of Sciences of the U.S.S.R., Leningrad
F-121, Prospect Maklina 32, U.S.S.R.

Institute of Zoology, Academy of Sciences of the Azerbaijan S.S.R., Baku, 6-th Khrebtovaja 5, U.S.S.R.

Ф. Г. АГАМАЛИЕВ

F. G. AGAMALIEV

Новые данные по фауне псаммофильных инфузории западного побережья Каспийского моря

Complements to the fauna of psammophilic ciliates
of the Western coast of the Caspian Sea

Каспийское море по своей геологической истории, а также физико-географическим и химическим особенностям весьма своеобразно. В водах Каспия, по сравнению с океанической водой, относительно намного больше сульфатов и карбонатов, но меньше хлоридов. Может быть, отличное от океанического соотношение солей, вместе с другими гидрологическими и гидрохимическими факторами, а также изоляция Каспийского моря от мирового океана являются причинами высокой степени эндемичности многоклеточных этого моря (Зенкевич 1951, 1963, Мордухай-Болтовской 1960).

В 1966–1967 годах нами были опубликованы первые сведения по фауне псаммофильных инфузорий Каспийского моря (Агамалиев 1966 а, 1966 б, 1967 а). Был обнаружен 131 вид псаммофильных инфузорий, из них 14 новых видов. В этих работах приводятся описания всех новых, ряда слабоизученных и некоторых наиболее характерных видов инфузорий интерстициальной фауны Каспия. Экологический анализ фауны показал, что в районе исследования преобладает микропоральный тип фауны. Наряду с этим в составе фауны ветрегаются также мезопоральные, эврипоральные и факультативно-мезопоральные виды.

Сравнение обнаруженных видов инфузорий Каспийского моря и других изученных географических районов (морей Атлантики и Японского моря) показало, что видовой состав фауны инфузорий Каспийского моря отличается от фауны инфузорий районов Атлантики и Японского моря не больше, чем фауны этих районов различаются между собою. Этот факт позволил нам подтвердить гипотезу Форе-Фремье (Fauré-Frémiet 1951) о космополитном характере распространения псаммофильных видов морских инфузорий. В ре-

зультате наших исследований было выявлено, что, несмотря на низкую соленость каспийской воды, фауна его инфузорий носит в основном морской характер (Агамалиев 1969) и не обнаруживает, в отличие от фауны многоклеточных, сколько-нибудь выраженного эндемизма.

Продолжая изучение инфузорий мезопсаммона западного побережья Среднего и Южного Каспия, в 1968–1969 гг. мы дополнительно обнаружили там 77 видов псаммофильных инфузорий. Из них один вид и одна разновидность оказались новыми. Таким образом, список видов инфузорий мезопсаммона Каспийского моря доведен до 208 форм.

Обработка проб и приготовление препаратов было проведено в Институте зоологии АН Азербайджанской ССР, а определение и уточнение видового состава — в Лаборатории цитологии одноклеточных организмов Института цитологии АН СССР (Ленинград).

Пользуюсь случаем выразить глубокую благодарность проф. Ю. И. Полянскому и доктору биол. наук И. Б. Райкову за помощь и ценные указания в выполнении данной работы.

Материал и методика

Основная масса проб собрана в местах, хорошо защищенных от прибоя, на западном побережье Среднего и Южного Каспия, а также на островах Бакинского и Апшеронского архипелагов. В этих районах грунты представлены в основном мелким песком, местами песок крупно- и среднезернистый, местами он значительно заилен. На сильно заиленных участках псаммофильные инфузории отсутствовали.

Нами применялись те же методы обработки проб, которые использовались в наших предыдущих работах. Кроме того, для экстракции инфузорий из грунта, был применен метод Улига (Uhlig 1964, 1965). Пробы песка помещались в широкую полиэтиленовую трубку (диам. 70 мм), затянутую снизу мельничным газом (№ 38). Поверх песка клали прослойку ваты, а на вату — измельченный лёд, изготовленный замораживанием морской воды. При таянии льда сначала образуется вода повышенной солености, которая, фильтруясь сквозь пробу грунта, выгоняет оттуда инфузорий. Последние выходят сквозь ячейки мельничного газа в подставленную чашку с фильтрованной морской водой. Этим методом удавалось получить практически полную экстракцию инфузорий из грунта.

С целью проверки влияния загрязненности нефтяными отходами на развитие фауны псаммофильных инфузорий несколько проб было взято с загрязненных мест. Часть проб для проверки распределения фауны инфузорий по глубинам брались специальной драгой или дночерпателем Петерсена с глубины 10, 20 и 50 м.

Видовой состав инфузорий мезопсаммона западного побережья Каспийского моря

Ниже приводится дополнительный список псаммофильных инфузорий Каспийского моря (77 видов и разновидностей). Среди них новыми оказались один вид и одна разновидность, описание которых даётся ниже. Список найденных форм приводится в Таблице 1. Одновременно указывается географи-

Таблица 1

Table 1

Дополнительный список видов инфузорий западного побережья Каспийского моря. (Основной список видов опубликован в работе: Агамалиев, 1967 а)

Additional list of ciliate species from the west coast of the Caspian Sea. (A basic list of species was published in Agamaliev, 1967 a)

Виды инфузорий Ciliate species	Географическое распространение Geographical distribution						
	Северная Атлантика North Atlantic	Экваториальная Атлантика Equatorial Atlantic	Балтика Baltic Sea	Средиземное море Mediterranean Sea	Черное море Black Sea	Северные моря СССР North seas of USSR	Японское море Japan Sea
1	2	3	4	5	6	7	8
Subclassis <i>Holotricha</i>							
Ordo <i>Gymnostomatida</i>							
Familia <i>Enchelyidae</i> Ehrbg.							
1. <i>Holophrya</i> sp.							
2. <i>Placus buddenbrocki</i> Sauerbrey	+	—	+	—	—	—	—
3. <i>Prorodon arenarius</i> Dragesco	—	—	—	+	—	—	—
4. <i>P. ovum</i> Ehrbg.-Kahl	—	—	(+)	—	—	—	—
5. <i>P. penardi</i> Dragesco	+	—	—	—	—	—	—
6. <i>P. mimeticus</i> Kahl	—	—	(+)	—	—	—	—
7. <i>Prorodon</i> sp.							
8. <i>Helicoprорodon minutus</i> Bock	+	+	+	—	+	+	+
9. <i>H. gigas</i> (Kahl)	+	+	+	+	+	+	+
10. <i>Lacrymaria sapropelica</i> Kahl	—	—	(+)	—	—	—	—
11. <i>L. olor</i> var. <i>marina</i> Kahl	+	—	+	+	—	+	—
12. <i>Chaenea psammophila</i> Dragesco	+	—	—	—	—	—	+
Familia <i>Colepidae</i> Ehrbg.							
13. <i>Coleps spinosus</i> Vacelet	—	—	—	+	+	—	—
14. <i>C. remanei</i> Kahl	—	—	+	—	—	—	—
Familia <i>Trachelocercidae</i> Kent							
15. <i>Trachelocerca coluber</i> Kahl	—	—	+	+	+	+	+
16. <i>Tc. multinucleata</i> Dragesco	+	—	—	—	+	—	+

1	2	3	4	5	6	7	8
17. <i>Tc. entzi</i> Kahl	+	+	+	+	+	—	+
18. <i>Tracheloraphis gracilis</i> Dragesco	+	—	—	—	—	—	+
19. <i>Trachelonema grassei</i> Dragesco	+	—	—	—	—	+	—
Familia <i>Amphileptidae</i> Bütschli							
20. <i>Litonotus pictus</i> var. <i>binucleatus</i> Kahl	—	—	+	—	+	+	—
21. <i>Loxophyllum serratum</i> Kahl	—	—	+	—	—	—	—
22. <i>L. multiplicatum</i> Kahl	—	—	+	—	—	+	+
Familia <i>Loxodidae</i> Bütschli							
23. <i>Ciliofaurea arenicola</i> Dragesco	—	—	—	+	—	—	+
24. <i>Kentrophoros fasciolatum</i> Sauerbrey	+	+	+	+	+	+	+
25. <i>K. gracile</i> Raikov	—	+	—	—	+	+	+
26. <i>K. fistulosum</i> Fauré-Fremiet	+	—	—	+	+	—	—
Familia <i>Didiniidae</i> Poche							
27. <i>Mesodinium pupula</i> Kahl	+	—	—	—	+	—	—
28. <i>Cyclotrichium ovatum</i> Fauré-Fremiet	+	—	+	—	—	—	—
Familia <i>Chlamyodontidae</i> Stein							
29. <i>Chlamyodon obliquus</i> Kahl	—	+	—	—	—	+	—
30. <i>Chilodonella psammophyla</i> Dragesco	+	—	—	—	—	—	—
Familia <i>Nassulidae</i> Fromentel							
31. <i>Eucamptocerca longa</i> Da Cuhna	—	—	+	—	—	—	+
Ordo <i>Hymenostomatida</i>							
Familia <i>Frontoniidae</i> Kahl							
32*. <i>Uronema marina</i> Dujardin	—	—	+	—	—	—	—
Familia <i>Pleuronematidae</i> Kent							
33. <i>Pleuronema grassei</i> Dragesco	+	—	—	—	—	—	—
34. <i>Pleuronema marinum</i> Dujardin	+	+	+	+	+	+	—

* По Калю (Kahl 1930-1935) и Корлису (Corliss 1961) этот вид условно помещен в сем. *Frontoniidae*. Томпсон (Thompson 1964) поместил этот вид в сем. *Uronematidae*.

* According to Kahl 1930-1935 and Corliss 1961, this species was provisionally included in the family *Frontoniidae*. Thompson 1964 included it in the family *Uronematidae*.

1	2	3	4	5	6	7	8
35. <i>Histiobalantium majus</i> Kahl	+	+	—	—	—	—	—
36. <i>H. marinum</i> Kahl	+	—	+	—	—	—	+
37. <i>Cyclidium candens</i> Kahl	—	—	(+)	—	—	—	—
38. <i>C. veliferum</i> Kahl	—	—	+	—	—	—	—
Ordo <i>Heterotrichida</i>							
Familia <i>Spirostomatidae</i> Stein							
39. <i>Gruberia lanceolata</i> (Gruber)	—	+	—	—	—	+	—
40. <i>G. uninucleata</i> Kahl	+	+	+	+	+	+	—
41. <i>Blepharisma dileptus</i> Kahl	—	—	(+)	—	—	—	+
Ordo <i>Oligotrichida</i>							
Familia <i>Halteriidae</i> Clap. et Lachm.							
42. <i>Strombidium sulcatum</i> Clap. et Lachm.	+	+	+	+	+	+	—
43. <i>S. arenicola</i> Dragesco	+	—	—	—	+	—	+
44. <i>S. calkinsi</i> Kahl	—	+	+	—	—	—	—
Familia <i>Strobilidiidae</i> Kahl							
45. <i>Lohmaniella spiralis</i> Leegaard	(+)	—	+	—	—	—	—
46. <i>L. elegans</i> Wulff	—	—	(+)	—	—	(+)	—
47. <i>L. oviformis</i> Leegaard	(+)	—	(+)	—	—	—	—
Ordo <i>Hypotrichida</i>							
Familia <i>Oxytrichidae</i> Ehrbg.							
48. <i>Holosticha oculata</i> (Mereschkowski)	—	—	—	—	—	(+)	—
49. <i>H. arenicola</i> Kahl	—	—	+	—	—	—	—
50. <i>Keronopsis gracilis</i> Kahl	—	+	+	+	—	—	—
51. <i>K. rubra</i> f. <i>heptasticha</i> Ehrbg.	—	—	(+)	—	—	—	—
52. <i>K. multistilata</i> Kahl	—	—	(+)	—	—	—	—
53. <i>Amphisiella capitata</i> (Perejaslaw.)	—	—	—	+	+	—	—
54. <i>A. thiophaga</i> Kahl	—	—	(+)	—	—	—	—
55. <i>Epiclintes ambiguus</i> (O.F.M.)	+	+	+	+	+	+	+
56. <i>Oxytricha marina</i> Kahl	—	—	+	+	—	—	—
57. <i>O. tricornis</i> Milne	—	—	(+)	—	—	—	—
58. <i>O. gibba</i> O. F. Müller	—	—	—	—	+	—	—
59. <i>Paruroleptus musculus</i> Kahl	—	—	(+)	+	—	—	—
60. <i>Micromitra brevicaudata</i> Kahl	—	—	+	+	—	—	—

1	2	3	4	5	6	7	8
61. <i>Tachysoma saltans</i> Cohn	+	—	+	+	—	—	—
62. <i>T. rigescens</i> Kahl	+	—	+	—	—	—	—
63. <i>Stichotricha simplex</i> Kahl	—	—	(+)	—	—	—	—
64. <i>Opisthotricha halophila</i> Kahl	—	—	(+)	—	—	—	—
65. <i>Stichotricha gracilis</i> Möebius	—	—	+	—	—	—	—
Familia Euplotidae Ehrbg.							
66. <i>Euplotes charon</i> O. F. Müller	—	—	+	+	+	—	—
67. <i>E. neopolitanus</i> Wichterman	—	—	—	+	—	—	—
68. <i>E. vannus</i> Müller	+	+	+	+	+	—	—
69. <i>E. minuta</i> Yocom	—	+	—	—	—	—	—
70. <i>E. eurystomus</i> var. <i>marinus</i> n. var.	—	—	—	—	—	—	—
71. <i>Diophrys appendiculata</i> (Ehrbg.)	—	+	+	+	—	+	—
72. <i>D. kasymovi</i> n. sp.	—	—	—	—	—	—	—
73. <i>Discocephalus ehrenbergi</i> (Kahl)	+	+	+	—	—	—	—
74. <i>D. rotatorius</i> Ehrbg.	+	+	+	+	—	+	+
75. <i>Uronychia heinrothi</i> v. Budd.	—	—	(+)	—	—	—	—
Familia Aspidiscidae Stein							
76. <i>Aspidisca sedigita</i> Quenn.	+	—	+	—	+	+	—
77. <i>A. pulcherrima</i> Kahl	—	—	(+)	—	—	—	—

ческое распространение каждого вида (по литературным данным, сгруппированным также, как в статье Райкова 1963 и Агамалиева 1969). Плюс означает, что данный вид был найден в псаммоне соответствующего района, плюс в скобках — что он обнаружен в других биотопах данного района или что биотоп вообще не указан. Поскольку в предыдущих работах (Агамалиев 1967 а, 1967 б) подробно приводились результаты гранулометрического анализа песка района исследования, в настоящей статье эти данные опускаются.

В мелком песке ($M_0=0.1-0.3$ мм) массовыми формами оказались *Lacrimaria sapropelica*, *Trachelocerca entzi*, *Lohmanniella spiralis*, *Opisthotricha halophila*, *Euplotes vannus*, *Aspidisca pulcherrima* и др. В среднем и крупном песке ($M_0=0.7-1.8$ мм) самыми массовыми формами оказались *Mesodinium pupula*, *Strombidium calkinsi*, *Euplotes eurystomus* var. *marinus*, *Diophrys appendiculatus* и *Uronychia heinrothi*.

Данные Таблицы 1 показывают, что из 77 точно определенных видов фауны инфузорий Каспийского моря, общих с районами Северной Атлантики оказалось 31, с Экваториальной Атлантики — 19, с Балтикой — 51, со Средиземным морем — 24, с Черным морем — 21, с Северными морями СССР (Ба-

ренцево, Белое) — 20, с Японским — 17. Всего 3 вида (*Helicoprorodon gigas*, *Kentrophoros fasciolatum*, *Epiclintes ambiguus*) оказались общими для всех районов. Эти данные показывают, что, несмотря на изолированность Каспия от мирового океана и его низкую соленость, почти все обнаруженные в нем виды инфузорий встречаются и в других географических районах. Большинство дополнительно найденных в Каспии форм — чисто морские виды. Однако, найдены и некоторые пресноводные формы (*Paruroleptus musculus*, *Histiobalantium majus*).

Параллельно с изучением псаммофильных инфузорий, в обрастаниях на естественных предметах (скалы, камни и др.) нами было обнаружено 11 видов *Peritricha* из сем. *Vorticellidae* Stein, список которых дается ниже:

1. *Vorticella microstoma* Ehrbg., 2. *V. nebulifera* Müll., 3. *V. marina* Greff., 4. *V. patellina* O. F. Müller., 5. *V. campanula* Ehrbg., 6. *Carchesium lochmanni* Kent, 7. *C. spectabile* Kent, 8. *Zoothamnium alternans* Clap. et Lachm., 9. *Z. pelagicum* Samsonov, 10. *Z. marinum* Mereschk., 11. *Z. elegans* d'Udekem.

Описания видов

Prorodon sp. (Рис. 1, Табл. I, 1)

Многие представители рода *Prorodon*, отмеченные в песках морей Атлантики, а также в пресных водоёмах, описаны Калем (Kahl 1930–1935, 1933), Боком (Bock 1952), Дражеско (Dragesco 1960, 1963 a, 1965, 1966 a, 1966 b), Ганапати и Рао (Ganapati and Narasimha Rao 1958), Туколеско (Tuculesco 1962) и др.

В песках западного побережья Каспийского моря обнаружено всего 6 видов *Prorodon*, ранее известных из песков морей Атлантики, Средиземноморья и Балтики. На тотальных препаратах, окрашенных по Шаттону и Львову (Chatton et Lwoff 1930), среди многочисленных особей *Prorodon binucleatus*, *P. laurenti* и др. нам встретился необычный экземпляр. Своей морфологией он резко выделялся среди других форм. В известных нам литературных источниках виды такого строения не описаны. Поэтому мы описываем данный экземпляр, возможно, относящийся к новому виду, как *Prorodon* sp.

Эта форма была обнаружена в песке пляжа Бильги (северный берег Апшеронского полуострова), хорошо защищенного от прибоя и состоящего из мелкого гетерогенного песка ($M_0 = 0.1-0.3$ мм).

Форма тела фиксированной особи вытянуто-овальная (Рис. 1, Табл. I 1). Ротовое отверстие расположено апикально, имеет воронкообразную форму. Рот окружен двумя венчиками ресничек (передний венчик более мощный) и вооружен палочковым аппаратом (Рис. 1 А, В).

Вблизи ротового отверстия расположен тигмотактический аппарат, который состоит из трех сближенных рядов крупных ресничек. Этот аппарат является характерным признаком рода *Prorodon*. С другой стороны ротового отверстия хорошо видно характерное поле кинетосом, соединенных между собой не только вдоль, но и поперек соматических рядов („адесмокинететы”). Задний конец тела закруглен и несет одну сократительную вакуоль.

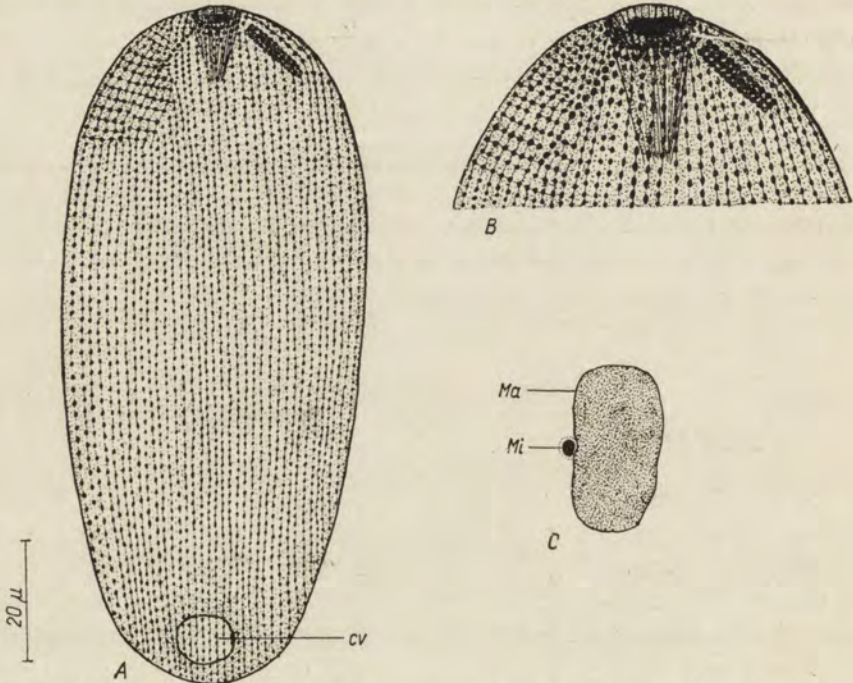


Рис. 1. *Prorodon* sp. А — общий вид, В — передняя часть (А и В — серебрение), С — ядерный аппарат. Ма — макронуклеус, Ми — микронуклеус, cv — сократительная вакуоль

Fig. 1. *Prorodon* sp. А — general view, В — anterior body part (А and В — silver impregnated specimen), С — nuclear apparatus. Ма — macronucleus, Ми — micronucleus, cv — contractile vacuole

Ресничный покров густой, меридионально одеваает все тело инфузории и состоит из большого числа (80–90) ресничных рядов. Последние на всем протяжении тела инфузории идут параллельно друг другу.

Ядерный аппарат состоит из одного овального макронуклеуса длиной около 15 μ , шириной 10 μ . Микронуклеус сферический, расположен вплотную к макронуклеусу (Рис. 1 С). Длина тела 100–150 μ , прижизненно 20–250 μ .

Pleuronema marinum Dujardin, 1841 (Рис. 2, 3 А–С, Табл. I 2–3)

Первое описание этого вида дано в работах Дюжардена, Кента и Каля (см. Кahl, 1930–1935). Позже Боррор (Borror 1963) дал его полное описание.

Дражеско (Dragesco 1968), пользуясь методикой Шаттона и Львова описал этот вид, сравнивая его с близкими формами (*Pleuronema roscoffensis* Dragesco и Роскоффской формой *Pleuronema marinum*).

При работе на Каспийском море нами были обнаружены две формы этого вида инфузорий. Сравнивая эти формы между собой и с формами, описанными в литературе, мы выяснили, что они по некоторым морфологическим признакам (форма тела, число оральных ребер и число ресничных меридианов) отличаются друг от друга (Табл. I 2, 3). Кроме того, описываемые формы имеют разные количества макро- и микронуклеусов: первая форма имеет 7–10 макронуклеусов (Ma) и 3–4 микронуклеуса (Mi), расположенные вдоль тела (Рис. 2 В), а вторая форма имеет 3 Ma и 2 Mi, компактно расположенные в середине тела (Рис. 3В). Поэтому, мы даем описания обеих каспийских форм.

У первой формы тело вытянуто и закруглено на концах (Рис. 2, Табл. I 2). Цитоплазма бесцветная, забита разными включениями. Задний конец тела снабжен удлинненными ресничками или щетинками и несет терминальную сократительную вакуоль. Буккальная полость и мембранеллы сильно вытянуты и расположены на одинаковом расстоянии от переднего и заднего концов тела (Рис. 2, Табл. I 2). Буккальная полость спереди узкая, а позади округлая, диаметром около 20 μ . Ундулирующая мембрана занимает намного больше половины длины тела. Расположение и форма всех мембранелл (M_1, M_2, M_3) такие же, как у типичной *Pleuronema marinum*. Длина буккального аппарата составляет 80 μ , а ширина 20 μ . На краю расширенной части буккальной полости оканчиваются 4 ресничных меридиана, идущих параллельно от переднего конца тела. Остальные меридианы обходят буккальную полость слева и доходят до заднего конца тела инфузории. Задняя часть буккальной полости снабжена 12 длинными и 4 короткими оральными ребрами.

Ресничный покров, включая 4 предротовых меридиана, состоит из 38–40 соматических рядов (Рис. 2, Табл. I 2).

Ядерный аппарат состоит из 7–10 макронуклеусов, расположенных в виде цепочки вдоль тела и 3–4 микронуклеусов (Рис. 2 В). В литературе формы с таким ядерным аппаратом не описано. Однако не исключена возможность, что описываемые многоядерные инфузории представляют собой эксконъюгантов *P. marinum*. Длина тела у фиксированных особей составляет 100–110 μ , а ширина 45 μ .

Вторая каспийская форма отличается от первой по форме тела и отсутствием первой ротовой мембранеллы — M_1 (Рис. 3 А, Табл. I 3). Форма тела более короткая и широкая, цитоплазма бесцветная. Буккальная полость позади округлая и несет 12 длинных и 4–5 коротких (рудиментарных) ребер. Длина длинных ребер — около 15 μ . Длина буккальной полости составляет 40 μ . Ундулирующая мембрана занимает намного больше половины длины тела. Спереди на краю расширенной части буккальной полости оканчиваются

2 соматических ряда. Остальные ряды огибают буккальную полость и заканчиваются на посторальном шве. Буккальный ресничный аппарат характерен для вида *P. marinum*, за исключением отсутствия у этой формы мембранеллы M_1 (Рис. 3 А, С).

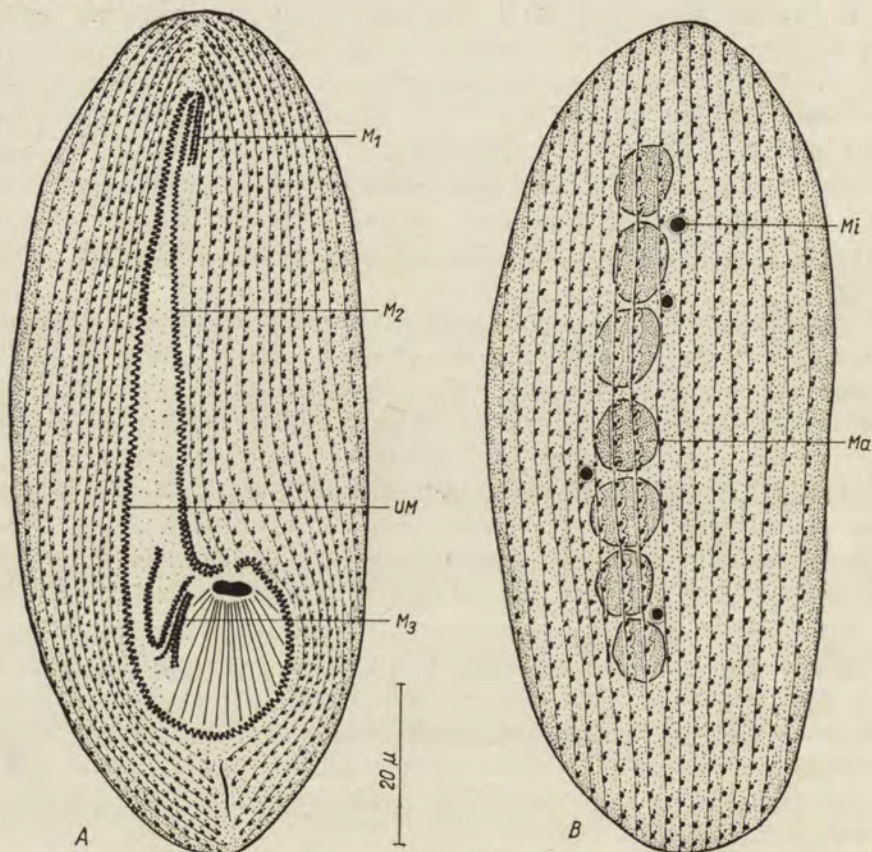


Рис. 2. *Pleuronema marinum* Dujardin, 1841 первая форма. А — общий вид с брюшной стороны, В — вид со спинной стороны. M_1 — первая мембранелла, M_2 — вторая мембранелла, M_3 — третья мембранелла, UM — ундулирующая мембрана, Ma — макронуклеус, Mi — микронуклеус. Серебрение

Fig. 2. *Pleuronema marinum* Dujardin, 1841, first form. А — view of the ventral side, В — view of the dorsal side. M_1 — first membranella, M_2 — second membranella, M_3 — third membranella, UM — undulating membrane, Ma — macronucleus, Mi — micronucleus (silver impregnation)

Ресничный покров состоит из 35–38 ресничных рядов (включая 2 предротовых меридиана).

Ядерный аппарат данной формы состоит из 3 макронуклеусов и 2 микронуклеусов, расположенных в середине тела (Рис. 3 В). Возможно, что эта форма представляет собой продукт первого деления эксконъюганта.

Длина тела у фиксированных особей составляет 60 μ , а ширина 30 μ .

Как видно из вышесказанного, каспийские формы *Pleuronema marinum* по

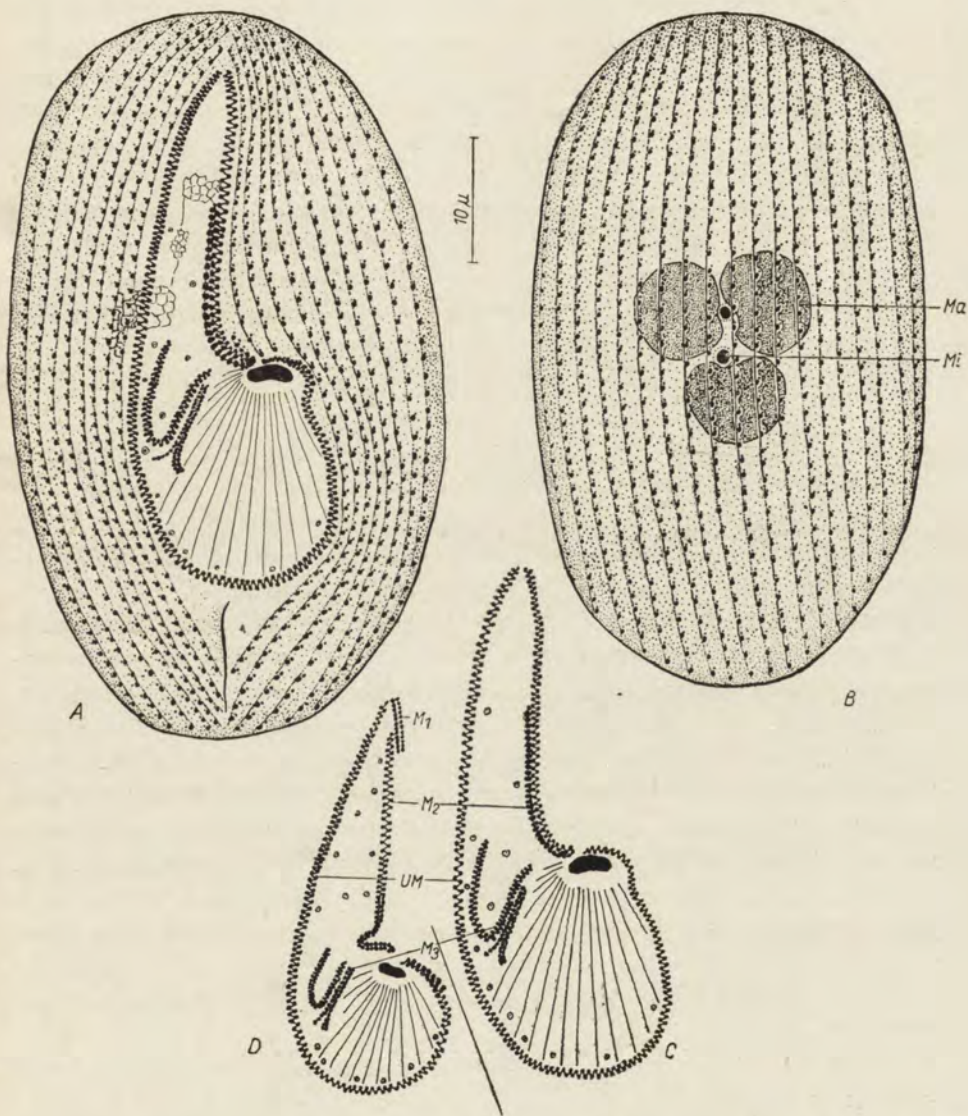


Рис. 3. *Pleuronema marinum* Dujardin, 1841 вторая форма. А — общий вид с брюшной стороны, В — вид со спинной стороны, С — буккальный аппарат *P. marinum*, D — буккальный аппарат *P. coronatum* (по Dragesco, 1968). M₁ — первая мембранелла, M₂ — вторая мембранелла, M₃ — третья мембранелла, UM — ундулирующая мембрана, Ma — макронуклеус, Mi — микронуклеус. Серебрение

Fig. 3. *Pleuronema marinum* Dujardin, 1841, second form. A — view of the ventral side, B — view of the dorsal side, C — buccal apparatus of *P. marinum*, D — buccal apparatus of *P. coronatum* after (Dragesco, 1968). M₁ — first membranella, M₂ — second membranella, M₃ — third membranella, UM — undulating membrane, Ma — macronucleus, Mi — micronucleus (silver impregnation)

многим признакам идентичны типичной форме, описанной в литературе (Воггор 1963, Dragesco 1968). Отличия касаются, как отмечено выше, формы тела, числа оральных ребер, числа ресничных меридианов, а также буккального ресничного аппарата. Так, у первой формы тело сильно вытянуто, буккальная полость очень большая, занимает 80% длины тела. У других форм такого большого перистома не встречается. Кроме того, у первой формы меньше (в среднем 39) ресничных рядов. Что касается второй формы, то она по своей форме тела и цилиатуре ближе всего стоит к *Pleuronema roscoffensis*. Однако она отличается от последнего вида наличием легкого изгиба влево заднего конца M_2 и изгиба ундулирующей мембраны в области цитостома, а также отсутствием M_1 . Наконец, следует отметить, что обе каспийские формы стоят ближе к форме *P. marinum*, описанной Боррором, поскольку форма Дражеско имеет намного больше ресничных меридианов (58–66).

Pleuronema coronatum Kent, 1881 (Табл. I 4–5)

Этот вид инфузорий широко распространен на западном побережье Каспия. Описания различных форм этого вида даются Калем (Kahl 1930–1935), Форе-Фремье (Fauré-Fremiet 1950), Дражеско (Dragesco 1960, 1963 a, b, 1965, 1968), Боррором (Воггор 1963) и другими авторами.

Нами в предыдущей работе (Агамалиев 1968) было дано описание каспийской формы *Pleuronema coronatum*. В данной статье мы даём некоторые дополнения к этому описанию. По сравнению с типичной формой *P. coronatum*, каспийская форма отличается более вытянутым, яйцевидным или овальным телом (Табл. I 4). Цитоплазма прозрачная, имеется одна или несколько сократительных вакуолей, расположенных на заднем конце тела. Каспийская форма отличается от типичной сравнительно вытянутым буккальным ресничным аппаратом (Табл. I 4). Оральные ребра состоят из 14–17 лучей (Табл. I 5). Длина буккального аппарата 45 μ , ширина 20 μ . 5 ресничных меридианов, идущих от переднего конца тела, заканчиваются на левом краю буккальной полости. Число кинетосом в первом преоральном меридиане (от переднего конца M_1 до заднего конца M_2) составляют 30–34, а у форм Дражеско (Dragesco 1968) — 20.

Ресничный покров, включая 5 предротовых меридианов, состоит из 36–38 ресничных рядов.

Ядерный аппарат состоит из одного овального макронуклеуса и нескольких микронуклеусов. Длина тела у фиксированных особей составляет 70–80 μ , а ширина около 50 μ .

Каспийская форма *P. coronatum* почти идентична формам, описанным в литературе. Отличия касаются лишь формы тела, количества оральных ребер (больше, чем у формы *P. coronatum* Боррора (Воггор 1963) и количества предротовых ресничных рядов.

Euplotes raikovi Agamaliyev, 1966

Этот вид является одним из самых широко распространенных в Каспийском море. Подробное описание было дано в наших предыдущих работах (Агамалиев 1966 а, б, 1967 а, б). В данной работе мы приводим еще характерный признак этого вида.

Эта мелкая форма, в большом количестве встречающаяся в мелком гетерогенном песке западного побережья Каспия, хорошо серебрится по Шаттону и Львову. В течение 1968–1969 гг. по ней было получено много серебрянных препаратов. Сравнительное изучение препаратов показало, что среди многочисленных особей *Euplotes raikovi*, с 7 латерально-дорзальными рядами щетинок встречаются особи, которые имеют 8 латерально-дорзальных рядов. В предыдущих работах описываются только особи, имеющие 7 рядов.

Euplotes poljanskyi Agamaliyev, 1966

Очень характерная для Каспия форма, которая образует массовые популяции в очень мелком песке, имеющем высокую степень сапробности. Подробное описание этого вида см. Агамалиев 1966, 1967. Форма тела овальная, цитоплазма забита разными включениями. Перистом занимает больше половины тела. Адоральная зона состоит из 40–42 мембранелл. В результате дополнительного изучения этого вида было выявлено, что среди многих особей с 7 латерально-дорзальными рядами щетинок часто встречаются особи, имеющие 8 латерально-дорзальных рядов.

В предыдущих работах было указано, что особи имеют 7 латерально-дорзальных рядов щетинок.

Euplotes minuta Yocum, 1930 (Рис. 4, Табл. II 8)

Вид впервые был найден Йокомом (Yocum 1930). Позже он был переописан Боррором (Borror 1962) на основании материалов, серебряных по Шаттону и Львову. Эта инфузория найдена нами в средних и крупных песках на острове Артема (Апшеронский архипелаг). Тело овальное, слегка вытянутое (Рис. 4, Табл. II 8). Живые инфузории в падающем свете бесцветны, цитоплазма забита включениями. Перистом занимает больше половины тела (Рис. 4, Табл. II 8). Длина его составляет 60–65 м. Адоральная зона состоит из 60–65 мембранелл. Вентральная сторона тела имеет 10 фронтально-вентральных, 5 трансверсальных и 4 каудальных цирры. Расположение вентральной цилиатуры и морфология вентрального аргирома такие же, как у формы Боррора. Имеется одна сократительная вакуоль, расположенная справа и позади трансверсальных цирр. В результате серебрения обнаруживается 10 латерально-

-дорзальных рядов щетинок (Рис. 4 А, В). В одном дорзальном ряду располагается 18–22 щетинки. Аргиром межщетиновых рядов-как у типичной формы.

Ядерный аппарат состоит из одного макронуклеуса и одного микронуклеуса (Рис. 4 С). Длина тела 100–130 м.

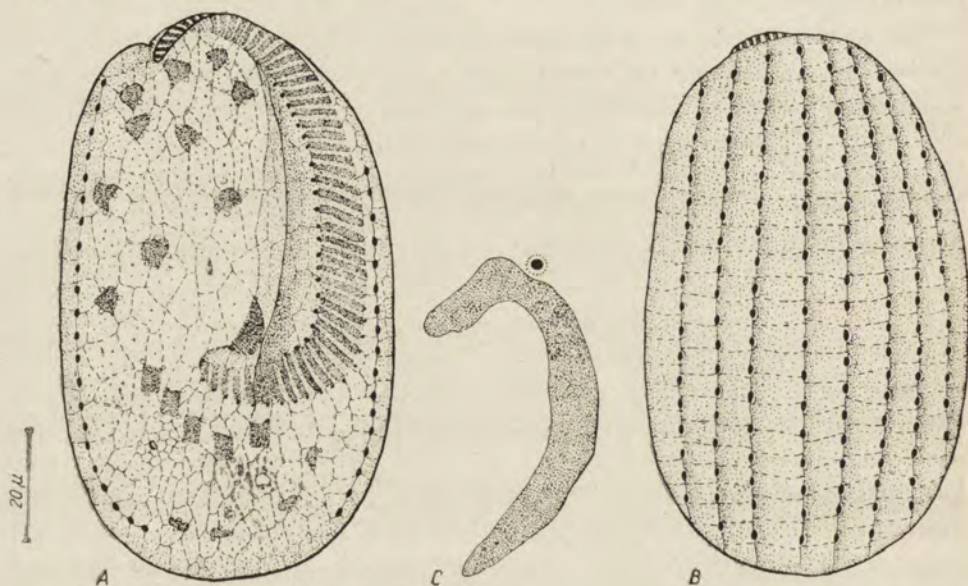


Рис. 4. *Euplotes minuta* Yocom, 1930. А — общий вид с брюшной стороны, В — вид со спинной стороны (А и В — серебрение), С — ядра (гемалаун)

Fig. 4. *Euplotes minuta* Yocom, 1930. А — view of the ventral side, В — view of the dorsal side (А and В — silver impregnation), С — nuclei (hemaloun)

Биотоп-крупный и средний олигосапробный песок Каспийского моря.

Каспийская форма *Euplotes minuta* почти по всем признакам идентична формам, описанным в литературе. Однако, следует отметить, что каспийская форма отличается сравнительно большими размерами тела, большим числом мембранелл адоральной зоны и нехваткой одного из латерально-дорзальных рядов щетинок.

Euplotes euryostomus var. *marinus* var. nov. (Рис. 5, Табл. II 9–11)

В литературе описано много видов *Euplotes*, близких к *Euplotes euryostomus* Wrzeńskiowski, 1870 (см. Табл. 2). Все виды, указанные в Таблице 2, кроме *Euplotes apscheronicus*, являются пресноводными формами. Подробное описание *E. euryostomus* дано в работе Тюффро (Tuffrau 1960). Во время работы на Каспийском море в средних и крупных песках (остров Артема) нами обна-

Таблица 2

Table 2

Морфологические признаки видов *Euplotes* близких к *Euplotes euryostomus* var. *marinus* (по данным Tuffrau 1960, Dragesco 1960, Bovee 1957, Diller and Kounaris 1966, Gaw 1939, Agamaliev 1967)

Morphological characters of *Euplotes* species, related to *Euplotes euryostomus* var. *marinus* (after Tuffrau 1960, Dragesco 1960, Bovee 1957, Diller and Kounaris 1966, Gaw 1939, Agamaliev 1967)

Виды Species	Число цирр Number of cirri			Число Number of		Длина пери- стома в μ Peri- stome length in μ	Длина тела в μ Body length in μ
	фронт- вентр. fr.- ventr.	транс- верс. transv.	кауд. caud.	лат.- дорз. рядов lat.- dors. rows	мембр. адо- раль. зоны adoral zone membr.		
<i>E. euryostomus</i> Wrzesn., 1870	9	5	4	8	60-65	80	105-160
<i>E. apscheronicus</i> Agamaliev, 1967	9	5	4	9	30-35	35	50- 60
<i>E. patella</i> O. F. Müller, 1773	9	5	4	9	46-50	60	105-145
<i>E. patella</i> var. <i>lemanii</i> Dragesco, 1960	9	5	4	?	?	40	80
<i>E. plumipes</i> Stokes, 1884	9	5	4	10	50	83	116-165
<i>E. daidaleos</i> Diller et Kounaris, 1966	9	5	4	10	40	57	92
<i>E. woodruffi</i> Gaw, 1939	9	5	4	8	75	90	95-155
<i>E. leticiensis</i> Bovee, 1957	9	5	4	?	40-50	60	90-100
<i>E. euryostomus</i> var. <i>marinus</i> var. nov.	9	5	4-5	9	70-75	100-130	130-180

ружено много особей, которых можно отнести к *E. euryostomus*, хотя они отличаются рядом признаков от типичной формы этого вида. Мы описываем каспийскую форму как новую вариацию. Изучение проводилось на материале, обработанном по Шаттону и Львову.

Тело овальное, со слегка суженным задним концом и очень большим перистомом (Рис. 5 А, Табл. II 9). До сих пор в литературе не описано форм *E. euryostomus* с таким огромным перистомом. Длина перистома составляет 100-130 μ . Адоральная зона состоит из 70-75 мембранелл. Мембранеллы на самом заднем конце адоральной зоны очень тесно сближены; у некоторых особей они почти сливаются. Вентральная сторона тела имеет 9 фронт-вентральных, 5 трансверсальных и 4-5 каудальных цирр. Типичные *E. euryostomus*, а также близкие виды имеют только 4 каудальные цирры (Табл. 2). В остальном вентральная цилиатура расположена также, как у типичной формы. Вент-

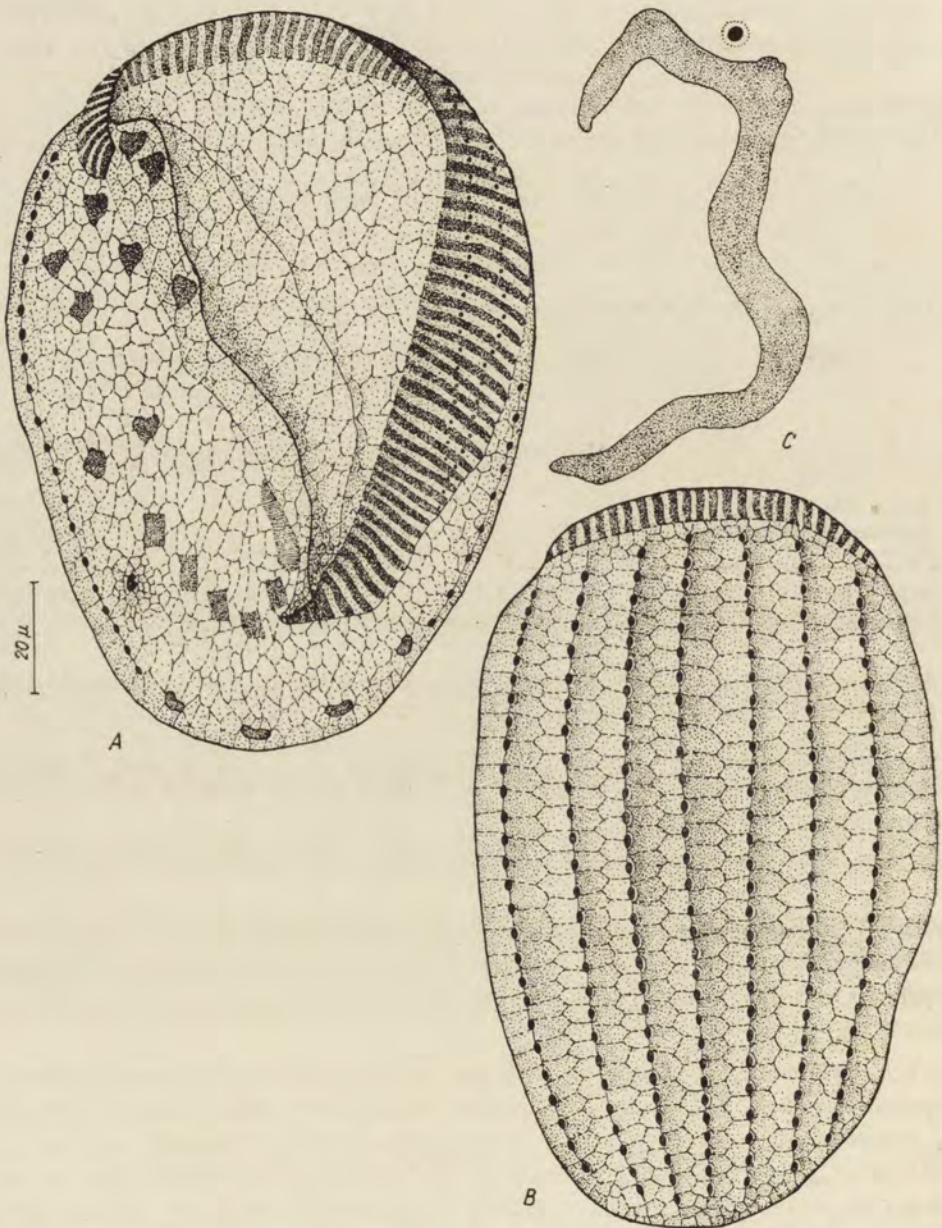


Рис. 5. *Euplotes eurystomus* var. *marinus* var. nov. А — общий вид с брюшной стороны, В — общий вид со спинной стороны (А и В — серебрение), С — ядра (гемалаун)

Fig. 5. *Euplotes eurystomus* var. *marinus* var. nov. А — view of the ventral side, В — view of the dorsal side (А and В silver impregnation), С — nuclei (hemaloun)

ральный аргиром такой же, как у типичной формы *E. eurystomus*. Имеется одна сократительная вакуоль. В результате серебрения обнаруживается 9 латерально-дорзальных рядов щетинок (Рис. 5 А, В, Табл. II 10), в то время как типичные *E. eurystomus* имеют только 8 рядов. В одном ряду расположено от 27 до 30 щетинок. У некоторых особей это число достигает 35. Аргиром межщетиноквых рядов — как у типичной формы *E. eurystomus* (Рис. 5 В, Табл. II 10). В серебрённых материалах обнаружены конъюгирующие особи, у которых хорошо видны закладки новых цирр и перистома (Табл. II 11).

Ядерный аппарат состоит из одного макронуклеуса и одного микронуклеуса, расположенного близко к макронуклеусу (Рис. 5 С). Длина тела 130–180 м. Встречаются особи длиной до 200 м. Биотоп — крупный и средний олигосапробный песок Каспийского моря.

Следует отметить, что эта форма по дорзальной цилиатуре напоминает *E. patella* и *E. apscheronicus*, у которых тоже 9 рядов щетинок, но отличается от них иным расположением задней группы фронто-вентральных цирр, намного большим размером перистома и большим числом мембранелл адоральной зоны, наличием не только 4, но и 5 каудальных цирр, а также иным строением аргирома дорзальных межщетиноквых рядов и большим числом щетинок в дорзальных рядах.

Главными отличительными чертами *E. eurystomus* var. *marinus* от типичной формы *E. eurystomus* являются большее на единицу число латерально-дорзальных рядов щетинок, очень большой размер перистома и мембранелл адоральной зоны, наличие не только четырех, но иногда и пяти каудальных цирр. Эти различия дают нам возможность выделить эту форму в новый вариант, обитающий в морской воде.

Род *Diophrys* Dujardin, 1842

В настоящее время известно 11 видов рода *Diophrys* (см. Табл. 3). Первый представитель этого рода был описан Эренбергом (Ehrenberg 1838). Затем Дюжарден (Dujardin 1841) открыл второй вид. Позднее Buddenbrock 1920 и Mansfeld 1923 обнаружили еще два вида этого рода.

После большого перерыва Дражеско (Dragesco 1963 b), Борроп (Borrop 1965), Агамалиев 1967 а, b, Райков и Ковалева 1968 с применением серебрения по методике Шаттона и Львова описали еще 6 видов *Diophrys*. Почти все известные виды являются псаммофильными формами и обнаружены в разных географических районах (морях Атлантики и Японском море). Представители этого рода в основном встречаются в среднем и крупном песке, иногда в мелком и даже в очень мелком песке. Таким образом, их можно отнести к эврипаральной и мезопаральной экологической группам.

Таблица 3
Table 3

Морфологические признаки различных видов *Diophrys* (по данным Ehrenberg 1838, Dujardin 1842, Mansfeld 1923, Buddenbrock 1920, Dragesco 1963, Borror 1965, Agamaliyev 1967, Raikov et Kovaleva 1968)
Morphological characters of various *Diophrys* species (after Ehrenberg 1838, Dujardin 1842, Mansfeld 1923, Buddenbrock 1920, Dragesco 1963, Borror 1965, Agamaliyev 1967, Raikov et Kovaleva 1968)

Виды Species	Число щипр Number of			Число Number of		Длина перистома в μ Peristome length in μ	Число ядер Number of nuclei	Длина тела в μ Body length in μ
	фронт. front.	вентр. ventr.	транс. transv.	левых/ правых мarg. L/R marg.	лат.-дорз. рядов lat.-dors. rows			
<i>D. scutum</i> Dujardin, 1842	5	2	5	2/3	5-6	75-80	2 Ma, 5-6 Mi	150-200
<i>D. peloetes</i> Borror, 1965	5	2	5	2/3	7-8	?	2 Ma, 8-9 Mi	95-134
<i>D. oligothrix</i> Borror, 1965	5	2	5	2/3	4-5	40-45	2 Ma, 4 Mi	79-106
<i>D. scutoides</i> Agamaliyev, 1967	3	2	5	2/3	5	75-80	2 Ma, 3 Mi	110-120
<i>D. quadricaudatus</i> Agamaliyev, 1967	5	2	5	3/4	5-6	50-60	3 Ma, 2 Mi	80-110
<i>D. appendiculata</i> (Ehrbg., 1838)	5	2	5	1/3	5-6	?	2 Ma, 3 Mi	80
<i>D. magnus</i> Raikov et Kovaleva, 1969	5	2	5	2/3	6	56-60	Ma*, Mi 6	160-200
<i>D. irngard</i> Mansfeld, 1923	5	2	4	3/3	?	23-25	2 Ma**, Mi?	150
<i>D. kahli</i> Dragesco, 1963	7	2	5	2/1	?	?	2 Ma**, 4-6 Mi	90-100
<i>D. histrix</i> Buddenbrock, 1920	7	2	5	2/3	?	?	2 Ma, Mi?	30-40
<i>D. kazumovi</i> sp. nov.	6	2	6	2/3	6	56-60	2 Ma, 5 Mi	90-150

* Цепочка — chain-like. ** Овальное — oval.

При исследовании псаммофильных инфузорий Каспийского моря нами были найдены 3 новых вида *Diophrys*, два из них (*Diophrys quadricaudatus*, *D. scutoides*) описаны в нашей предыдущей работе (Агамалиев 1967 а, б), а третий описывается ниже.

Diophrys kasymovi sp. nov. (Рис. 6, Табл. I 6, 7)

Обнаружен в крупном и среднем песке островов Апшеронского архипелага (Южный Каспий).

Форма тела продолговато-овальная, с закругленными концами (Рис. 6, Табл. I 6, 7). Цитоплазма забита диатомовыми водорослями и другими включениями. Перистом занимает больше половины тела, длина его составляет 60 μ .

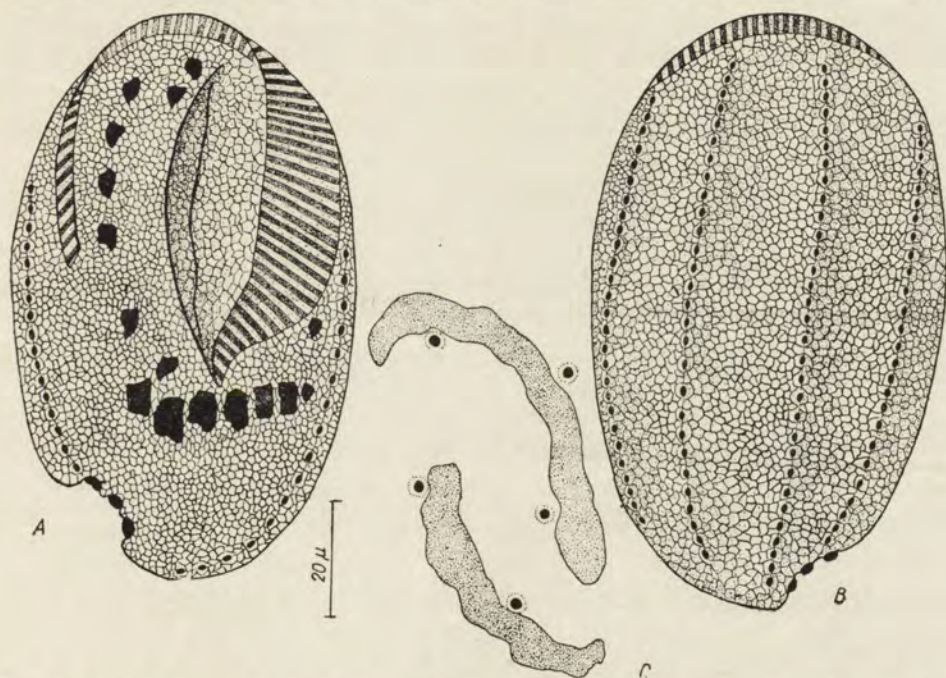


Рис. 6. *Diophrys kasymovi* sp. nov. А — общий вид с брюшной стороны, В — общий вид со спинной стороны (А и В — серебрение), С — ядра (гемалаун)

Fig. 6. *Diophrys kasymovi* sp. nov. А — view of the ventral side, В — view of the dorsal side (А and В silver impregnation), С — nuclei (hemaloun)

Адоральная зона мембранелл начинается на правом краю тела, проходит по переднему краю перистомальной полости и спускается по левому краю тела до нижней границы фронтальных цирр (Рис. 6 А, Табл. I 6). Адоральная зона мембранелл состоит из 54–62 элементов. Вентральная поверхность тела имеет 6 фронтальных цирр, расположенных в двух рядах (один из них состоит из 2-х, другой из 4 цирр), 2 вентральных цирр, 6 трансверсальных цирр,

2 левых маргинальных и 3 мощных правых маргинальных цирр (Рис. 6 А, Табл. I 6). Вентральный аргиром имеет вид сетки с мелкими ячейками. В результате серебрения обнаруживаются 6 латерально-дорзальных рядов щетинок. В одном дорзальном ряду насчитывается от 25 до 36 щетинок. Межщетиновый аргиром того же типа, что и вентральный аргиром (Рис. 6 В, Табл. I 7).

Ядерный аппарат состоит из двух частей макронуклеуса и 5 микронуклеусов, расположенных рядом с макронуклеусом (Рис. 6 С).

Длина тела на фиксированном материале составляет 90–150 мк, у живой особи — 170–200 мк. Биотоп — средний и крупный олигосапробный песок Каспийского моря.

Главной отличительной чертой этого вида является не встреченное у других видов число фронтальных цирр (6) и большое число трансверсальных цирр (6). Видов *Diophrys* с таким числом вентральных цирр описано не было (Табл. 3). Лишь в работе Ковалевой 1967 описана форма *Diophrys* sp. (из песка Баренцова моря) с 6 трансверсальными циррами. Однако по всем остальным признакам она отличается от описываемой нами формы.

Uronychia heinrothi v. Buddenbrock, 1920 (Рис. 7)

Эта инфузория часто встречается в среднем и крупном песке островов Бакинского и Апшеронского архипелагов и побережья Среднего Каспия.

Форма тела почти округлая (Рис. 7). В падающем свете инфузории проз-

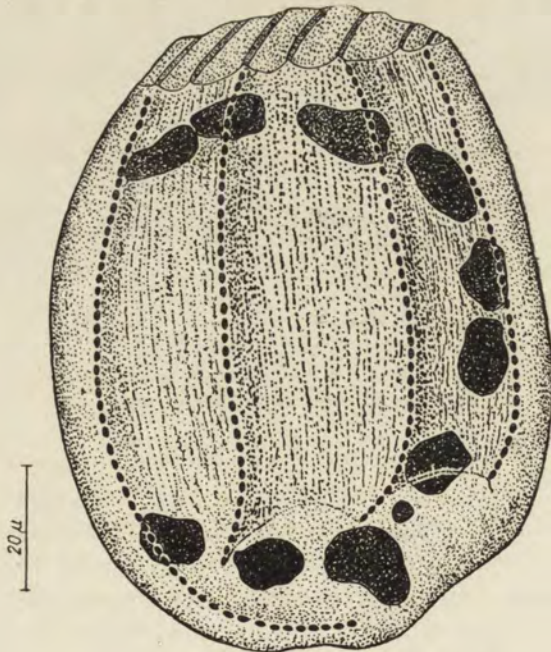


Рис. 7. *Uronychia heinrothi* v. Buddenbrock, 1920. Общий вид со спинной стороны (серебрение)
Fig. 7. *Uronychia heinrothi* v. Buddenbrock, 1920. View of the dorsal side (silver impregnation)

рачные, питаются диатомовыми и другими одноклеточными водорослями. В результате серебрения обнаружено 4 ряда дорзальных щетинок. Нам не удалось получить серебрения вентральной цилиатуры.

Макронуклеус четковидный, состоит из 8–11 (чаще всего 9) фрагментов, С-образно располагающихся в цитоплазме (Рис. 7).

Длина тела у фиксированных особей составляет 100–120 м, а ширина — 80 м. Биотоп — крупный и средний олигосапробный песок Каспийского моря.

Aspidisca caspica Agamaliev, 1967 (Рис. 8, Табл. II 12, 13)

Довольно обычная инфузория в песках западного побережья Среднего и Южного Каспия. Часто встречается в мелком и гетерогенном песке. Подробное описание этого вида дается в нашей предыдущей работе (Агамалиев 1967). При дополнительном исследовании материала из западного Каспия нами обнаружены две формы, которые имеют совсем другую структуру дорзального межщетиноквого аргиромы. Эти формы инфузорий по своей вентральной цилиатуре и по форме тела близки также к *Aspidisca pulcherrima* и *Aspidisca baltica* (см. Табл. 4).

Правый край тела ровный, выпуклый, а левый край с зубцами. Имеется 3 главных зубца, а на заднем конце тела располагаются еще мелкие зубчатые

Таблица 4

Table 4

Морфологические признаки видов *Aspidisca* близких к *Aspidisca caspica* Agamaliev, 1967
Morphological characters of *Aspidisca* sp. related to *Aspidisca caspica* Agamaliev, 1967

Виды Species	Число цирр Number of cirri			Число Number of		Длина тела в м Body length in м	Строение дорзального аргиромы (см. Рис. 10) Structure of dorsal argyrome (cf. Fig. 10)
	фронт. front.	вентр. ventr.	трансв. transv.	мембр. пер. части адо- ральной зоны ant. part of adoral zone membr.	дорз. рядов dors. rows		
<i>A. pulcherrima</i> Kahl, 1935 *	6	2	6	4	4	70–80	Тип (Type) I
<i>A. baltica</i> Kahl, 1935 **	6	2	6	7	4	60–70	Тип II
<i>A. caspica</i> Aga- maliev, 1967	6	1	5	7	4	50–60	Тип I, II, III

* no /after Tuffrau 1964.

** no /after Borror 1965.

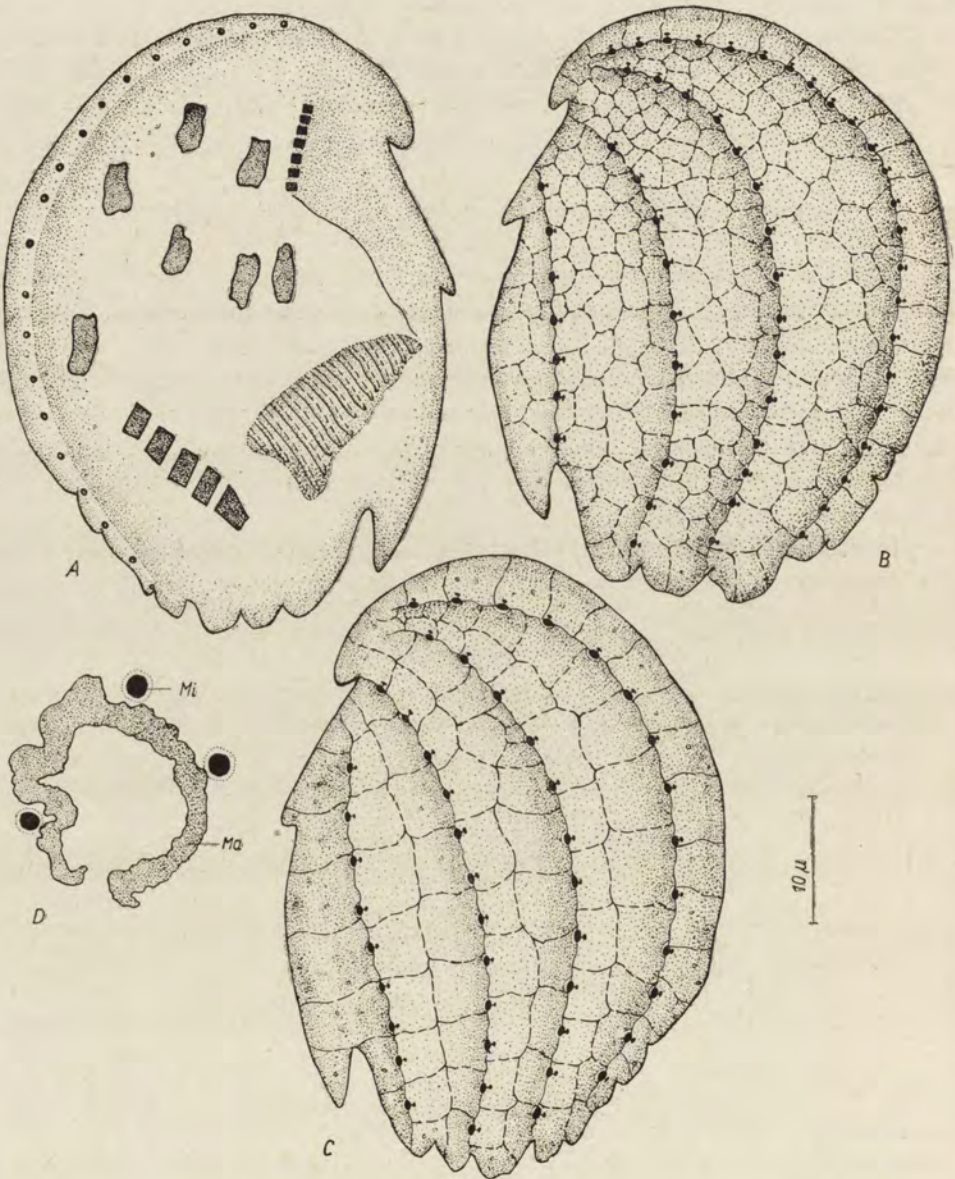


Рис. 8. *Aspidisca caspica* Agamaliyev, 1967. А — общий вид с брюшной стороны, В и С — общий вид со спинной стороны (А и С — серебрение), D — ядра (гемалуан). Ма — макронуклеус, Ми — микронуклеус

Fig. 8. *Aspidisca caspica* Agamaliyev, 1967. A — view of the ventral side, B, C — view of the dorsal side (A-C — silver impregnation), D — nuclei (hemaloun). Ma — macronucleus, Mi — micronucleus

складки пелликулы (Рис. 8 А–С, Табл. II 12). Живые инфузории бесцветные. Вентральная сторона инфузорий всегда несет 7 фронто-вентральных и 5 трансверсальных цирр (Рис. 8 А, Табл. II 12). В результате серебрения обнаружено 5 латерально-дорзальных рядов щетинок (Рис. 8 А–С). Межщетиновый аргиром *Aspidisca caspica* по своей структуре может принадлежать к трем различным типам (Рис. 9). Первый тип дорзального аргиромы (с крупными ячейками) описан в работе Агамалиева (1967 а, б). Второй и третий типы аргиромы (см. Рис. 8 В–С; Рис. 9; Табл. II 13) у видов *Aspidisca* до сих пор в литературе

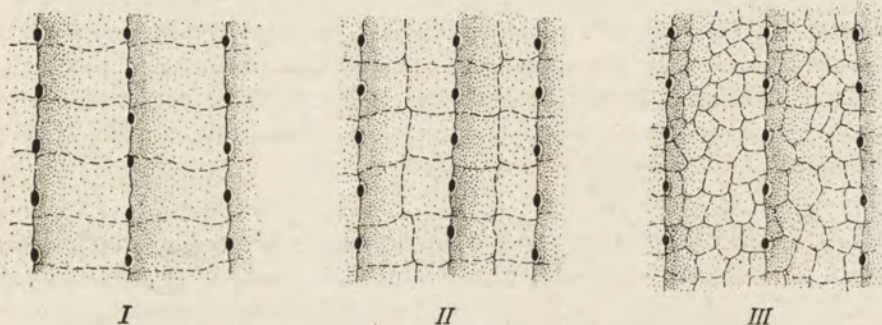


Рис. 9. Типы дорзального аргиромы у близких видов *Aspidisca*
 Fig. 9. Types of the dorsal argyrome in the related species of *Aspidisca*

не описаны. Указанные признаки пока не дают нам возможности разделить вид *A. caspica* на два и три вида по характеру аргиромы, поскольку различное строение дорзального межщетинового аргиромы, может быть, меняется в цикле деления особи или же является клональным или популяционным признаком. Необходимо изучение изменчивости строения аргиромы в клональных культурах.

Ядерный аппарат состоит из одного макронуклеуса с расположенными вблизи от него 3 микронуклеусами (Рис. 8 D). Длина тела 40–50 мк. Микропоральный вид обнаружен в мелком мезосапробном песке северного побережья Апшеронского полуострова.

Резюме

В результате дополнительного исследования песчаной литорали западного побережья Среднего и Южного Каспия было обнаружено еще 77 видов псаммофильных инфузорий. Среди них новыми оказались один вид и одна разновидность. Таким образом, общий список фауны доведен до 208 видов. Обнаруженные виды в основном относятся к микропоральной фауне.

В мелком песке ($M_0 = 0.1-0.3$ мм) массовыми формами оказались *Lacrymaria sapropelica*, *Trachelocerca entzi*, *Lochmanniella spiralis*, *Euplotes vannus*,

Aspidisca caspica и др., в среднем и крупном песке ($M_0 = 0.7-1.8$ mm) — *Mesodinium pupula*, *Strombidium calkinsi*, *Euplotes eurystomus* var. *marinus* и *Uronychia heinrothi*.

Результаты сравнения обнаруженных видов инфузорий Каспия и других географических районов показывают, что из 75 дополнительно найденных точно определенных видов фауны инфузорий Каспийского моря общих с районами Северной Атлантики оказалось 31, с Экваториальной Атлантикой — 19, с Балтикой — 51, со Средиземным морем — 24, с Черным морем — 21, с Северными морями СССР (Баренцево, Белое) — 20, с Японским морем — 17. Всего 3 вида (*Helicoprordon gigas*, *Kentrophoros fasciolatum*, *Epiclintes ambiguus*) были общими для всех перечисленных районов. Большинство дополнительно найденных в Каспии форм — чисто морские виды. В обрастаниях на естественных предметах (камни, скалы и др.) нами было обнаружено 11 видов *Peritricha* список которых даётся в статье.

В статье даётся описание двух новых форм (*Euplotes eurystomus* var. *marinus*, *Diophrys kasymovi*) и некоторых других видов (*Prorodon* sp., *Pleuronema marinum*, *Pleuronema coronatum*, *Euplotes raikovi*, *Euplotes poljanski*, *Euplotes minuta*, *Uronychia heinrothi*, *Aspidisca caspica*), наиболее характерных для песков Каспия. Отмечена вариабильность и некоторые морфологические отличия каспийских форм этих видов от других форм, описанных из разных географических районов.

SUMMARY

Additional investigations of the littoral sands of the western coast of the middle and southern parts of the Caspian Sea revealed 77 species of psammophilic ciliates more. One of them appeared to be a new species and the other one a new variety. Thus, the list of species reached up to 208. Most species are the representatives of microporal fauna.

In fine sand ($M_0 = 0.1-0.3$) the most abundant were the following species: *Lacrymaria sapropelica*, *Trachelocerca entzi*, *Lochmaniella spiralis*, *Euplotes vannus*, *Aspidisca pulcherrima*, and others, in medium sand: *Mesodinium pupula*, *Strombidium calkinsi*, *Euplotes eurystomus* var. *marinus* and *Uronychia heinrothi*.

The comparison of these 75 ciliate species, additionally found in the Caspian sea, with those from other geographical regions showed that 31 species are common with North Atlantic fauna, 19 with Equatorial Atlantic, 51 with Baltic Sea, 24 with Mediterranean, 21 with Black sea, 20 with northern seas of U.S.S.R. (Barents and White Sea), and 17 with Japan Sea fauna. Only 3 species (*Helicoprordon gigas*, *Kentrophoros fasciolatum*, *Epiclintes ambiguus*) are common in all the mentioned regions. Eleven species of *Peritricha* were found on the surface of stones, cliffs etc., their list is given in the present paper.

The descriptions of two new forms (*Euplotes eurystomus* var. *marinus* var. nov. and *Diophrys kasymovi* sp. nov.) are given in the present paper as well as the descriptions of some species (*Prorodon* sp., *Pleuronema marinum*, *Pleuronema coronatum*, *Euplotes raikovi*, *Euplotes poljanskyi*, *Euplotes minuta*, *Uronychia heinrothi*, *Aspidisca caspica*), the most characteristic of the Caspian Sea sands. The variability and some morphological differences of the Caspian forms of these species in comparison with the descriptions of these species from other geographical regions are reported.

Euplotes eurystomus var. *marinus* var. nov.

Body oval with slightly narrowed posterior end and very big, 100–130 μ long, peristome. Adoral zone composed of 70–75 membranelles, lying very tightly in its posterior end or nearly merging together in some specimens. There are 9 fronto-ventral, 5 transversal and 4–5 caudal cirri on the ventral body side. Ventral argyrome resembles that of *E. eurystomus*. One contractile vacuole is present. Silver impregnation reveal 9 latero-dorsal rows composed of 27–30 bristles. In some specimens the number of bristles amounts to 35. The pattern of argyrome is the same as in typical form *E. eurystomus*.

Nuclear apparatus composed of one macronucleus and one micronucleus lying near to the Ma. Body length 130–180 μ , sometimes up to 200 μ .

Biotop — medium and coarse oligosaprobiontic sand.

Locality — Art'om isle.

Diophrys kasymovi sp. nov.

Elongated-oval body shape with rounded ends. The cytoplasm filled with diatoms and other inclusions. Peristome 60 μ long occupies more than a half of the body length. Adoral zone of membranelles begins at the right body side, passes over the anterior border of the peristomial cavity to the left body side and ends at the posterior border of the frontal cirri. This zone is composed of 54–62 elements. On the ventral body side there are 6 frontal cirri arranged in two rows (2 and 4 cirri), 2 ventral cirri, 6 transversal, 2 left marginal and 3 strong right marginal cirri. Ventral argyrome in form of a net with small meshes. Six latero-dorsal rows of bristles with 25–36 bristles in a row are present. Ventral argyrome is the same as the dorsal one.

Nuclear apparatus is composed of two parts of macronucleus and 5 micronuclei arranged near to the Ma. Body length 90–150 μ in fixed specimens and 170–200 μ in living ones.

Biotop — medium and coarse oligosaprobiontic sand of the Caspian Sea.

Locality — Apšeroniskij archipelago.

ЛИТЕРАТУРА

- Агамалиев Ф. Г. 1966 а: Предварительные данные по интерстициальной фауне инфузорий западного побережья Каспийского моря. Изв. АН Азерб. ССР, сер. биол. наук, 2, 61–73.
- Агамалиев Ф. Г. 1966 б: Новые виды инфузорий мезопсаммона западного побережья Каспийского моря. Acta Protozool., 4, 169–183.
- (Агамалиев Ф. Г.) Agamaliiev F. G. 1967 а: Faune des Ciliés mesopsammiques de la côte ouest de la Mer Caspienne. Cah. Biol. mar., 8, 359–402.
- Агамалиев Ф. Г. 1967 б: Материалы по экологии инфузорий мезопсаммона западного побережья Каспийского моря. Докл. АН СССР, 176, 1524–1527.
- Агамалиев Ф. Г. 1968: Материалы по морфологии некоторых псаммофильных инфузорий Каспийского моря. Acta Protozool., 6, 225–244.
- Агамалиев Ф. Г. 1969: О зоогеографии псаммофильных инфузорий Каспия. Зоол. журн., 48, 957–961.
- Bock K. J. 1952: Über einige holo- und spirotriche Ciliaten aus den marinen Sandgebieten der Kieler Bucht. Zool. Anz., 149, 107–115.
- Borror A. C. 1962: *Euplotes minuta* Yocom (*Ciliata*, *Hypotrichida*) J. Protozool., 9, 271–273.
- Borror A. C. 1963: Morphology and ecology of the benthic ciliated protozoa of Alligator Harbor, Florida. Arch. Protistenk., 106, 465–543.
- Borror A. C. 1965: Morphological comparison of *Diophrys scutum* (Dujardin, 1841) and *D. peletes* n. sp. (*Ciliophora*, *Hypotrichida*). J. Protozool., 12, 60–66.
- Bovee E. C. 1957: *Euplotes leticiensis* n. sp., from the Letician drainage into the Amazon River. J. Protozool., 4, 124–128.
- Buddenbrock W. 1920: Beobachtungen über einige neue und wenig bekannte marine Infusorien Arch. Protistenk., 41, 341–364.

- Chatton E. et Lwoff A. 1930: Imprégnation, par diffusion argentique, de l'infra-ciliature des Ciliés marins et d'eau douce, après fixation cytologique et sans dessiccation. C. r. Séanc. Soc. Biol. Paris, 104, 834-836.
- Corliss J. O. 1961: The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification and Guide to the Literature. Pergamon Press, Oxford-London-New-York-Paris.
- Dragesco J. 1960: Les Ciliés mésopsammoniques littoraux (systématique, morphologie, écologie). Trav. Stn biol. Roscoff, n. s., 12, 1-356.
- Dragesco J. 1963 a: Compléments à la connaissance des Ciliés mésopsammoniques de Roscoff. I. Holotriches. Cah. Biol. mar., 4, 91-119.
- Dragesco J. 1963 b: Compléments à la connaissance des Ciliés mésopsammoniques de Roscoff. II. Heterotriches et Hypotriches. Cah. Biol. mar., 4, 251-275.
- Dragesco J. 1965: Ciliés mésopsammoniques d'Afrique noire. Cah. Biol. mar., 6, 357-399.
- Dragesco J. 1966 a: Observation sur quelques Ciliés libres. Arch. Protistenk., 109, 155-206.
- Dragesco J. 1966 b: Ciliés libres de Thonon et ses environs. Protistologica, 2, 2, 59-95.
- Dragesco J. 1968: Les genres *Pleuronema* Dujardin, *Schizocalyptra* nov. gen. et *Histobalantium* Stokes (Ciliés, Holotriches, Hymenostomes). Protistologica, 4 (1), 85-105.
- Dujardin F. 1841: Histoire naturelle des Zoophytes Infusoires, Paris.
- Diller W. F. and Kounaris D. 1966: Description of a zoochlorella bearing form of *Euplotes*, *E. daidaleos* n. sp. (*Ciliophora*, *Hypotrichida*). Biol. Bull., 131, 437-445.
- Ehrenberg C. G. 1838: Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen. Leipzig.
- Fauré-Fremiet E. 1950: Écologie des Ciliés psammophiles littoraux. Bull. biol. Fr. Belg., 84, 35-75.
- Fauré-Fremiet E. 1951: The marine sand dwelling Ciliates of Cape Cod. Biol. Bull., 100, 59-70.
- Ganapati P. N. and Narasimha Rao M. V. 1958: Systematic survey of marine ciliates from Visakhapatnam. Andhra Univ. Mem. Oceanogr., 62, 75-90.
- Gaw H. Z. 1939: *Euplotes woodruffi* sp. nov. Arch. Protistenk., 93, 5 p.
- Kahl A. 1930-1935: Wimpertiere oder Ciliata. Teile 1-4. Die Tierwelt Deutschlands, 18, 21, 25, 30, 1-886.
- Kahl A. 1933: Ciliata libera et ectocommensalia. Tierwelt der Nord-und Ostsee, 23, Teil II, C-3, 19-146.
- Ковалева В. Г. 1967: Новые данные по фауне инфузорий мезопсаммона Баренцова моря. Acta Protozool., 5, 81-88.
- Mansfeld R. 1923: 16 neue oder weing bekannte marine Infusorien. Arch. Protistenk., 46, 97-140.
- Мордухай-Болтовской Ф. Д. 1960: Каспийская фауна в Азово-Черноморском бассейне. Изд. АН СССР, Москва.
- Райков И. Б. 1963: Инфузории мезопсаммона Уссурийского залива (Японское море). Зоол. журн., 32, 1753-1767.
- (Райков И. Б. и Ковалева В. Г.) Raikov I. B. and Kovaleva V. G. 1968: Complements to the fauna of psammobiotic ciliates of the Japan Sea (Posjet gulf.). Acta Protozool., 6, 309-333.
- Tuffrau M. 1960: Révision du genre *Euplotes*, fondée sur la comparaison des structures superficielles. Hydrobiologia, 15, 1-77.
- Tuffrau M. 1964: La morphogenèse de bipartition et les structures neuromotrices dans le genre *Aspidisca* (Ciliés, Hypotriches) Revue de quelques espèces. Cah. Biol. mar., 5, 173-199.
- Tucolesco J. 1962: Etudes protozoologiques sur les eaux Romaines. I. Espèces nouvelles d'Infusoires de la Mer noire et des bassins salés paramarines. Arch. Protistenk., 106 (1), 1-36.
- Thompson J. 1964: A redescription of *Uronema marinum* and a proposed new family *Uronematidae*. V a J. Sci., 15, 80-87.
- Uhlig G. 1964: Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen, mesopsammalen Mikrofauna. Helgoländer wiss. Meeresunters., 11 (3-4), 178-185.
- Uhlig G. 1965: Untersuchungen zur Extraktion der vagilen Mikrofauna aus marinen Sedimenten. Verh. dt. zool. Ges., 151-157.
- Yocum H. B. 1930: Two new species of *Euplotes* from Puget Sound. Publs. Puget sound. mar. biol. Stn., 7, 241-248.
- Зенкевич Л. А. 1951: Моря СССР, их фауна и флора. Учпедгиз, Москва.
- Зенкевич Л. А. 1963: Биология морей СССР. Изд. АН СССР, Москва.

ПОДПИСИ К ТАБЛИЦАМ I-II

- 1: *Prorodon* sp.; общий вид
2-3: *Pleuronema marinum* Dujardin, 1841, 2 — первая форма, 3 — вторая форма, общий вид с брюшной стороны
4-5: *Pleuronema coronatum* Kent, 1881, 4 — общий вид с брюшной стороны, 5 — оральные ребра
6-7: *Diophrys kasymovi* sp. nov., 6 — общий вид с брюшной стороны, 7 — общий вид со спинной стороны
8: *Euplotes minuta* Yocom, 1930, общий вид с брюшной стороны
9-11: *Euplotes eurystomus* var. *marinus* var. nov., 9 — общий вид с брюшной стороны, 10 — общий вид со спинной стороны, 11 — конъюгирующие особи
12-13: *Aspidisca caspica* Agamaliev, 1967, 12 — общий вид с брюшной стороны, 13 — строение спинного аргиромы
1-14: Серебрение по Шаттону и Львову

EXPLANATION OF PLATES I-II

- 1: *Prorodon* sp., general view
2-3: *Pleuronema marinum* Dujardin, 1841, 2 — first form, 3 — second form, general view of the ventral side
4-5: *Pleuronema coronatum* Kent, 1881, 4 — general view of the ventral side, 5 — oral ribs
6-7: *Diophrys kasymovi* sp. nov., 6 — general view of the ventral side, 7 — dorsal side
8: *Euplotes minuta* Yocom, 1930, ventral side
9-11: *Euplotes eurystomus* var. *marinus* var. nov., 9 — general view of the ventral side, 11 — conjugating specimens
12-13: *Aspidisca caspica* Agamaliev, 1967, 12 — general view of the ventral side, 13 — structure of the dorsal argyrome
1-14: silver impregnation according to Chatton et Lwoff



Ф.Г. Агамалиев

auctor phot.



Ф.Г. Агамалиев

auctor phot.

Jerzy MORACZEWSKI

La composition chimique de la coque d'*Arcella discoïdes* Ehrbg.*Skład chemiczny skorupki *Arcella discoïdes* Ehrbg.

Un terme universellement utilisé dans la littérature scientifique pour déterminer la substance dont est faite la coque d'*Arcella* ou bien la substance cimentante des autres Thécamoebiens est "la pseudochitine". La pseudochitine n'a en effet rien de commun avec la chitine sauf sa fonction de protéger l'organisme. La chitine est un polysaccharine et Averintzev dit que la coque est faite d'albuminoïde. Une introduction si irrationnelle d'un nouveau nom a eu pour résultat que récemment dans la littérature, on rencontre de plus en plus souvent l'opinion que la coque est composée de chitine ou bien de mucopolysaccharides ressemblant à la chitine. Mais ces affirmations ne sont soutenues par aucune donnée expérimentale.

Jeuniaux 1963, en discutant un grand nombre d'aspects concernant la présence de la chitine dans le règne animal, dit que les Thécamoebiens appartenant à la famille *Plagiopyxidae* contiennent environ 1.5% de "chitine liée" par une masse sèche. Pussard 1965 a fait des études histochimiques de la cuticule d'un autre représentant des Testacés — *Cocevia fonbrunei*. En dehors des travaux mentionnés, il n'y a pas de données concernant la composition chimique de la coque. La majorité des travaux faits sur ce groupe d'animaux sont des travaux écologiques et faunistiques.

Matériels et méthodes

Les études ont été faites sur la coque d'*Arcella discoïdes* Ehrbg., *Arcella rotundata* Play. Defflandre 1928 donne la description suivante de la coque d'*Arcella*.

Les Rhizopodes possédant des pseudopodes lobés sont entourés d'une cuticule transparente de chitine qui forme une maisonnette. La coque est composée de petits globes hexagonaux. Elle est d'habitude marron chez les adultes et incolore chez les jeunes. La cuticule a le plus souvent la forme d'une cloche ronde ou bien polygonale à sa base. La base est concave vers l'intérieur dans la direction de la bouche qui est centrale au fond. La bouche est presque toujours circulaire et très souvent entourée d'une couronne de trous plus petits en nombre et variables. Le cytoplasme

* Ce travail est une partie de la thèse de doctorat des sciences à la Faculté de Varsovie, que nous avons l'honneur de faire sous la Direction du Professeur Z. Raabe.

occupe la partie centrale de la coque et est attachée à celle-ci par un grand nombre de prolongations protoplasmiques — les épisodes. La coque d'*Arcella rotundata* Play. environ 60 μ de diamètre. Pour l'étude cyto- et biochimique on a entrepris une culture des deux espèces. Une bonne culture d'*Arcella discoides* Ehrbg. pouvait être obtenue dans le milieu suivant: 2g NaCl, 0.5 KH₂PO₄, 2 grammes de gommes arabique ont été dissous dans 500 ml d'eau bouillie, ensuite on a ajouté du foie de grenouille homogénéisé. On a dilué ce milieu dans la proportion de 1 : 200 avec de l'eau du robinet. *Arcella* a été cultivée dans des boîtes de Pétri et le milieu a été changé tous les 6 jours. On a obtenu de meilleurs résultats quand on a ajouté un peu de levure séchée dans chaque boîte. Le pH optimum du milieu était, de 7.1–7.4. On a maintenu les cultures à une température constante de 22°C.

On a cultivé d'*Arcella rotundata* Play. dans l'eau du robinet avec de la levure fraîche, qu'on ajoutait sous forme de suspension tous les 4 jours. On a changé l'eau tous les 8 jours. Les cultures étaient maintenues dans des boîtes de Pétri à la température de 22°C dans des conditions normales d'éclairage.

Grâce aux cultures, on a obtenu une grande quantité de matériel nécessaire pour les études suivantes:

Méthodes histochimiques

Les études histochimiques se sont concentrées sur trois sur groupes de composés chimiques organiques:

- A. les mucopolysaccharides neutres et acides,
- B. les lipides,
- C. les protéines (acides aminés proprement dits).

On a utilisé les méthodes de routine en cyto- et histochimie.

A. Les mucopolysaccharides

Fixation. Pour l'étude des MPS, on a fixé les coques dans une solution d'acridine à 80% d'éthanol ou dans du formol auquel on a ajouté du chlorure de cétylpyridine.

1. La réaction APS a été faite selon la méthode de quelques auteurs; Pearse 1960, Barka et Anderson 1965, Graumann et Neumann 1962.

L'acétylation des groupes OH des glycoles a été accomplie en mettant les coques dans la pyridine anhydre additionnée de CH₃COOH à 10% (Lillie 1951), ou on a bloqué les groupes aldéhydes avec du dimédon. Une partie de l'échantillon a été saponifiée après acétylation avec 0.1 N KOH pendant 45 min (Lison 1960).

La déacétylation des groupes terminaux NHCOCH₃ a été fait dans une solution alcool éthylique anhydre (70 ml) et à 28% NH₃ à 28% (20 ml).

2. La réaction avec le réactif Schiff après oxydation par l'acide chromique (Bauer) a été faite selon Breslau 1962.

3. La réaction de métachromasie a été faite avec une solution à 0.1% de bleu de toluidine selon Barka et Anderson 1965, les préparations avaient été déshydratées dans de l'alcool butylique tertiaire et montées dans du DPX.

4. La coloration par le bleu Astra a été faite selon Bloom et Kelly 1960.

5. La coloration par le bleu Alycyan a été faite selon Steedmann 1950.

6. On a utilisé la méthode de Halle modifiée par Pearse 1960.

7. La fluorescence. On a utilisé la méthode de Pickett et al. 1960.

8. La réaction avec une solution d'iode dans l'acide sulfurique à 1% selon Breslau 1962.

9. La coloration avec de l'iode après l'action du ZnCl₂ la réaction dite chlore-zinc-iod selon Breslau 1962.

B. Les lipides

Pour mettre en évidence les lipides dans les études cytochimiques les coques ont été fixées dans du formol neutralisé par CaCO_3 .

1. La coloration par le Noir Soudan B selon Manus a été faite suivant le procédé de Pearse 1960.

2. La coloration des lipides neutres et acides a été faite selon Cain 1947.

3. En plus de cela, on a essayé d'extraire les lipides par de l'alcool additionné d'acétone, d'éther ou de pyridine.

C. Les protéines

Les préparations ont été fixées différemment pour cette série d'expériences. Pour chaque réaction le fixateur sera indiqué.

1. La coloration des protéines par le bleu de bromophénol selon Mazia et al. 1953. Fixateur formol avec alcool éthylique ou formol avec chlorure de cétalpyridine.

2. La réaction de Millon a été faite selon Pearse 1960, modifiée par Bensley et Gersh. Fixateur: Formol avec CaCO_3 .

3. APFS (acide performique suivi du réactif de Schiff) cette réaction a faite selon Pearse 1960. Fixateur: formol ou chlorure de cétalpyridine ou formol avec alcool éthylique.

4. APFMB (acide performique, suivi du bleu de méthylène) cette réaction a aussi été faite selon Pearse, parallèlement à la précédente, en utilisant les mêmes fixateurs et le même acide.

5. DDD (2,2'-dihydroxy-6,6'-dinaphtylsulfure) — la réaction a été faite selon la méthode de Barrnett et Seligman 1952 en utilisant le procédé de Barka. Fixateur: 1% d'ATC (acide trichloracétique) dans de l'alcool éthylique à 80%.

6. En plus, on a fait la coloration différentielle selon Benson 1966 par le jaune de naphthol.

En dehors des méthodes basées sur des réactions colorées on a accompli la digestion enzymatique des coques. On a utilisé deux groupes d'enzymes:

I. Les enzymes agissant sur les polysaccharides: a. La diastase décomposant le glycogène, b. Le lysosyme agissant sur la liaison 1,4-glucosidique et scindant la N-acétylglucosamine.

II. Les enzymes protéolitiques: a. La pepsine, b. La trypsine, c. La pancréatine (un mélange des enzymes du pancréas).

Pour ces études, on n'a pas fixé les coques. La digestion par la diastase a été faite selon la méthode de Breslau 1962.

La digestion par le lysosyme a été faite (selon Jeuniaux 1963) pH 5.2 dans un tampon phosphate à 37°C et (selon Breslau 1962) pH 6.0-7.0 dans une solution de NaCl de force ionique 0.1 à 40°C.

La digestion par la pepsine ou la trypsine ont été faites selon Pearse 1957. La digestion par la pancréatine (Pancreatin May et Baker) a été faite dans un milieu alcalinisé (tampon phosphate).

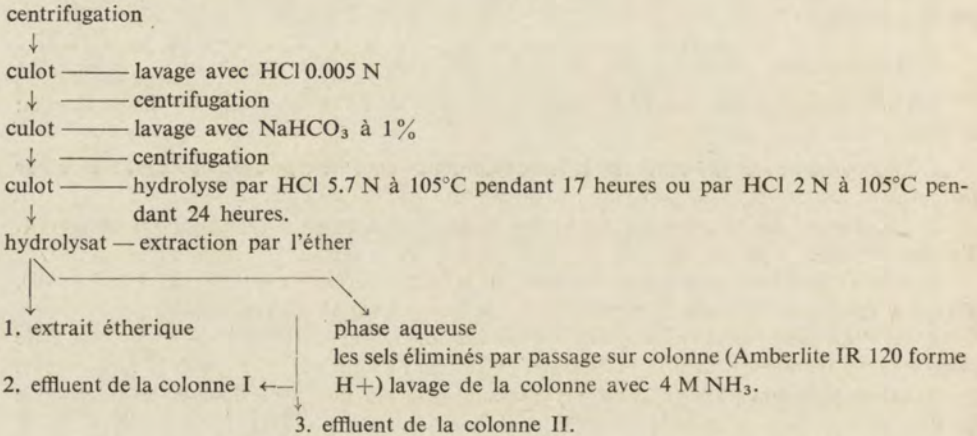
En dehors des méthodes cytochimiques citées ci-dessus, pour étudier la stabilité de la structure de la coque on a traité cette dernière avec les substances suivantes à froid ou à chaud: acide sulfurique à 10% ou concentré, HNO_3 à 10% ou concentré, HCl à 5% ou concentré, NaOH 0.5 N ou une solution saturée, acide acétique glacial ou à 1% ou à 10%, CCl_3COOH à 1% ou 30%. L'action d'une température plus élevée a été vérifiée en chauffant la coque dans de l'eau jusqu'à 100°C.

Méthodes biochimiques

On a élaboré un procédé pour déterminer simultanément la composition des acides aminés et la glucosamine selon les travaux de Trevelyan et Harrison 1952, de Rondle et Morgan 1955 concernant la levure et *Neurospora* et aussi selon les méthodes souvent utilisées en biochimie,

On a hydrolysé deux groupes de coques: 1. Les coques jeunes incolores ou jaunâtres obtenues des cultures et 2. Les coques âgées brun foncé obtenues sur la terrain. Dans les deux cas on a recueilli seulement les coques vides, en vérifiant sous la loupe binoculaire si la coque ne contient pas des restes de cytoplasme. Ensuite on les a lavées plusieurs fois dans de l'eau distillée. On a recueilli 2 500 coques du premier groupe (environ 5 mg) et 2 800 coques du deuxième (environ 15 mg).

Procédés de l'étude



1. Avec l'extrait étherique on a fait un chromatogramme sur une couche mince. Le matériel a été appliqué sur une plaque en verre 18×18 couverte de Silica gel G (Merck). Les chromatogrammes ont été développés avec du solvant benzène-pyridine — acide acétique (80 : 20 : 2, v/v/v) dans une direction et avec du chloroforme — alcool méthylique — acide acétique (95 : 5 : 1, v/v/v) dans une deuxième direction.

2. L'effluent I de la colonne: on a fait le test de Molish pour la recherche des sucres.

3. L'effluent II de la colonne a été appliqué sur papier Whatman No. 1 et développé avec du solvant n-butanol — acide acétique — eau (12 : 3 : 5, v/v/v) une, deux et trois fois. Les chromatogrammes ont été développés selon trois méthodes séparées:

a. La ninhydrine pour les acides aminés et ensuite fixés par une solution de Cu(NO₃)₂ dans l'acétone.

b. AgNO₃ dans l'acétone et ensuite de l'alcool alcalinisé pour révéler les aminées-sucres (la sensibilité de la méthode 1 γ) selon Smith 1958.

c. Le réactif Elson-Morgan pour les sucres aminés selon Neuberger et Marshall 1966.

Résultats

Les résultats cytochimiques ont été présentés dans le Tableau 1.

Le premier groupe des réactions sont des réactions mettant en évidence la présence des polysaccharides. On a pas obtenu de résultats évidents.

Actuellement la réaction utilisée le plus souvent en cytochimie pour mettre en évidence ces sucres est APS. On a appliqué quelques modifications de cette réaction. Dans aucun cas, on n'a obtenu de résultats nettement positifs, c'es-à-dire une co-

loration franchement rouge. Dans quelques cas, les coques étaient rosâtres ou rougeâtres.

Les résultats de la réaction APS, après acétylation des groupes aldéhydes et aussi les résultats après la saponification qui suit l'acétylation étaient tous négatifs. On a utilisé aussi la méthode de Bauer consistant en une oxydation par H_2CrO_4 des groupes terminaux CH_2OH dans le noyau du sucre. Dans ce cas, on a obtenu

Tableau I
Résultats des réactions cytochimique

Reactions	Réactions positives	Résultats
APS	Polysaccharides glycogène, MPS neutres, mucroprotéines, glycopro- téines, glycoprotéines, gly- colipides, sphingolipides, protéines (très faibles)	(+) faible
APS modif. de Bauer		+
Métachromasie	MPS acides, sphingolipides	—
Bleu d'alcyan	MPS acides	—
Bleu d'Astra	MPS acides	—
Réaction de Hale	MPS acides	+—
Fucine ammoniquée	chitine	—
Jode dans H_2SO_4 à 1%	chitine	—
Chlore zinc iode	chitine	—
	Lipides	
Bleu de NIL	Neutres et Acides	—
Noir soudan B	Neutres et Acides	—
	Protéines	
Bleu de Bromophénol	Protéines	+
Réaction de Millon	tyrosine	+—
Jaune de naphtol	protéines neutres	+
APFS	S-S	+
APF bleu de méthylène	S-S	+
DDD	S-S et SH	+

beaucoup plus de résultats positifs. Egalement, la réaction APS n'est pas positive après l'utilisation des agents déacétylant les radicaux aminés (test pour la chitine). Ainsi on peut dire que dans la coque il se trouve une petite quantité de substance APS positives. Quelques colorations mettant en évidence des mucopolysaccharides acides (métachromasie, bleu Alcian, bleu Astra) donnent des résultats négatifs. Ce sont des réactions typiques et assez spécifiques de ce groupe de composés. En se basant sur ce fait, on a établi que la coque d'*Arcella* n'est pas composée de substances renfermant des mucopolysaccharides acides.

Seule la coloration selon la méthode de Halle a donné une coloration bleue peu intense de la coque. La coloration par l'acridine orange a donné des résultats négatifs.

Les réactions cytochimiques non spécifiques pour la chitine telle que la coloration par une solution de Fuchsine alcaline dans l'ammoniaque, une solution d'iode dans l'acide sulfurique, ont donné des résultats négatifs. On a fait ces réactions témoins sur des cuticules de *Crustacés* et on a obtenu des résultats positifs.

Le second groupe comprend les réactions concernant la présence des lipides dans la coque d'*Arcella*.

Le troisième groupe concerne les réactions indiquant la présence des protéines. Ces réactions consistent en la liaison du colorant avec les radicaux des acides animés. La coloration par le bleu de bromophénol en présence des ions mercure est une méthode de routine utilisée pour indiquer la présence des protéines. Comme résultat à cette réaction, les coques se sont colorées d'un bleu pâle. La coloration jaune résultant de la réaction avec le jaune de naphthol indique la présence des protéines alcalines.

On a aussi obtenu des résultats positifs dans des réactions indiquant la présence des acides aminés avec les groupe SH et S-S. Par la méthode de Barrenett (DDD) on a découvert la présence des groupes S-S ainsi que des groupes SH, car les premières ont été transformées en SH sous l'action du TCA.

Selon la méthode de Pearse, APFS, on a établi la présence des groupes S-S. Dans des coques âgées, cette réaction est forte, dans les jeune, elle est négligeable. En se fondant sur ce groupe de réactions, on a établi que la coque contient des protéines avec des groupes SH et S-S.

L'action des enzymes sur les protéines est un autre groupe d'expériences (Tableau 2). Les enzymes tels que la diastase et le lysosyme qui décomposent les saccharides n'ont pas d'effet sur la coque.

Tableau 2
Résultats des actions des enzymes

Enzyme	Substrat	Résultats
Diastase	glycogène	—
Lysozyme	enveloppes bactériennes	—
	chitine	
Pepsine	protéine	après une action
Trypsine	protéine	prolongée
Pancréatine	protéine	—

Les enzymes protéolytiques provoquaient des changements insignifiants après une action prolongée. Il semble tout de même que ces enzymes ne provoquent pas de changements essentiels de structure.

Sur le chromatogramme en couche mince, on n'a pas identifié de DNP acides aminés, ce qui pourrait indiquer l'absence des acides aminés NH_2 — terminaux libres, qui pourraient réagir avec la FDNB. On n'a pas mis en évidence la glycine N-terminale, car son dérivé dinitrophénylique est décomposé pendant l'hydrolyse de 17 heures. La présence de la glycine aurait exigé une hydrolyse de 8 heures seulement sur une plus grande quantité de matériel.

Dans les coques jeunes et âgées, on n'a pas établi la présence de glucosamine par le réactif Nelson-Morgan, ni avec l' AgNO_3 . Sur la photographie (Pl. IB, ID, 18 19) on voit seulement la tache de glucosamine comme témoin. Cette tache est visible sur les photographies Planche I. Dans la substance étudiée, on n'a pas établi l'existence d'une tache semblable.

Aucune des méthodes utilisées n'a permis d'établir la présence de glucosamine dans la coque d'*Arcella*.

La coque d'*Arcella* est composée des acides aminés suivants: leucine, isoleucine, phénylalanine, valine, méthionine, (?) tyrosine, alanine, acide glutamique, glycine, sérine (?) acide aspartique (?) lysine, arginine (?), histidine (?), cystine. (Le point d'interrogation marque les acides aminés qui peuvent coexister sur la tache visible sur le chromatogramme). La tache localisée au dessus de l'alanine et marquée par un point d'interrogation sur la Photographie (Pl. IC) n'est pas la proline car après avoir été développée avec la ninhydrine elle n'est pas jaune.

Si les acides aminés sur les chromatogrammes sont groupés selon l'intensité et les dimensions des taches, on obtiendra la suite suivante: 1. glycine (sérine, acide aspartique), 2. acide glutamique, 3. alanine, 4. leucine (isoleucine), 5. arginine (histidine), 6. valine (méthionine) 7. phénylalanine, 8. cystine, 9. tyrosine. L'intensité et la largeur des taches correspondent sur presque tous les chromatogrammes.

Partant de ce fait, on peut dire que la coque d'*Arcella* est probablement composée d'une protéine simple, hydrophobe contenant des groupes S-S et une grande quantité d'acides aminés alcalins.

Discussion

Les résultats des réactions cytochimiques qui ont été faites sur la coque d'*Arcella* n'indiquent pas la présence de mucopolysaccharide, c'est à dire de chitine. La chitine est considérée comme un mucopolysaccharide neutre et on ne connaît pas de réactions spécifiques qui permettraient d'indiquer sa présence. De nombreux auteurs donnent des informations contradictoires concernant sa réactivité avec la leucofuscsine (le réactif de Schiff) après l'oxydation par l'acide périodique.

D'après Pearse 1960 puisque la chitine est composée de N-acétylglucosamine (les groupes NH_2 du carbone 2 de la glucosamine sont acétylés) l'acide périodique n'a aucun effet sur ce composé. Pour obtenir une réaction APS positive, il faut accomplir une déacétylation. Par contre, Jeanloz 1950, Barka et Anderson 1965

disent que l'acide périodique oxyde aussi la glucosamine acétylée, on peut obtenir une réaction positive avec de la chitine.

Les résultats obtenus avant et après l'acétylation et ceux obtenus après avoir bloqué le groupe OH étaient trop faibles pour pouvoir en tirer des conclusions concernant la présence des mucopolysaccharides dans la coque. La réaction APS malgré son utilisation universelle en cytochimie pour l'identifier est une réaction non suffisamment spécifique qui donne aussi des résultats positifs avec beaucoup de composés et même d'autres groupes de composés organiques (Tableau 1).

Nicolet et Shiun 1939 et Barka et Anderson 1965 estiment que quelques acides aminés (par exemple sérine, thréonine, hydroxylisine, etc) réagissent avec l'acide périodique. Aussi il existe la possibilité a avoir une faible réaction positive avec le réactif Schiff. Il semble qu'on ait obtenu cette réaction pendant l'étude histochimique de la coque d'*Arcella*. Cela semble encore plus probable du fait que l'analyse chromatique de la coque a révéla l'existence des acides aminés qui possèdent une configuration des groupes hydroxyles qui pourraient être oxydés par l'acide périodique jusqu'aux aldéhydes.

Les réactions qui donnent un résultat nettement négatif n'ont pas besoin d'être discutées. Ce sont les réactions indiquant la présence de mucopolysaccharides acides. Seule l'une d'elles, la réaction de Halle, a donné un résultat faiblement positif. La coloration bleu est obtenue par la liaison de fer colloidal introduit dans le milieu de réaction avec le mucopolysaccharide acide. Ensuite on procède à la liaison avec le ferricyanate de potassium. Mais en présence d'ion fer dans le substrat le ferricyanate peut se lier avec lui donnat une couleur bleu. Il est aussi possible que le fer colloidal se dépose sur les coques et de cette façon donne lieu à une réaction non spécifique.

Penard 1902 et quelques autres auteurs suggèrent la présence ions fer dans les coques responsable de leur coloration. Dans ce travail on n'a pas étudié cet aspect mais dans les témoins (sans fer colloidal) on a aussi obtenu une insignifiante coloration après la réaction avec le ferricyanate de potassium.

Le dernier test cytochimique de ce groupe de composées était la digestion avec le lysosyme. C'est un enzyme hautement spécifique agissant principalement sur la liaison 1.4 entre l'acide muramique et l'N-acétylglucosamine. Selon Lenk et al. 1960, le lysosyme dépolymérise la chitine en chaînes contenant 3 ou 5 N-acétylglucosaminés. Berger et Weiser 1958 ont démontré que le lysosyme hydrolyse la chitine, or, il est apparu que l'enzyme n'a pas d'action sur la coque. L'activité de l'enzyme a été vérifiée sur une suspension bactérienne.

On pourrait supposer que la coque contient une petite quantité de sucres qu'on ne peut pas identifier avec ces méthodes. Supposons qu'elle soit composée de glycoprotéides. Hedley 1960 at 1964 estime que les protozoaires ne produisent pas de chitine pure et que sous le nom de pseudochitine se cache un glycoprotéide. Chez les Foraminifères, c'est la tectine qui est un glycoproteide composé de protéine,

mucopolysaccharides, lipides et ions fer. La présence des ions est essentielle pour la structure des glycoprotéides car elle possède une charge négative très prononcée. C'est pour cela que la présence possible des ions fer a dirigé les recherches dans cette direction. Pearse 1960 dit que les glycoprotéides sont APS-positifs. Puisque cette réaction n'a pas donné de réponse claire, on a fait l'analyse chromatographique des coques pour identifier la glucosamine, le composé essentiel de la réaction saccharidique des glycoprotéides. Les réactions chromatographiques ont donné des résultats négatifs. Selon Rondle et Morgan 1955 et Hackman 1964 et plusieurs autres auteurs, l'hydrolyse par HCl 5.7 N à 105°C pendant 17 heures est la plus efficace pour hydrolyser la chitine ou bien d'autres MPS jusqu'au glucosamine. Les révélateurs, utilisés permettent l'identification de quantités insignifiantes de cette substance. La méthode avec le AgNO₃ est spécialement sensible. Mais on n'a pas décélé des traces de sucre sur aucun des chromatogrammes. Cette réaction a été répétée en hydrolysant les coques dans des conditions plus délicates HCl 2 N. Dans ces conditions, on a pas obtenu de résultats positifs. Il semble donc que la coque d'*Arcella* ne contient pas de MPS.

Jeuniaux 1963 a recherché la chitine chez trois représentants des Rhizopodes. *Plagiopyxis* a une coque composée de grains de sable, collés avec une substance organique. Sa bouche en forme de fente est située à la partie extérieure de la coque. Jeuniaux a élaboré une méthode originale pour la détermination de la chitine. En utilisant cette méthode, il a établi que chez *Plagiopyxis* la chitine constitue 1.5% de la masse sèche. Selon Jeuniaux, la chitine qu'il a déterminée est une partie des glycoprotéides, (elle n'est pas digérée par la chitinase lorsque le traitement par NaOH ne précède pas l'action de l'enzyme). On ne peut pas vérifier sous le microscope si la coque de *Plagiopyxis* ne contient pas de cytoplasme, car elle est sombre et les grains de quartz ont un grand coefficient de réfraction. L'*Arcella* étudiée a une coque transparente et il est très facile de constater si le reste du cytoplasme se trouvait dedans. Il semble que la quantité de chitine chez *Plagiopyxis* citée par Jeuniaux 1.5% de la masse sèche est trop élevée. Par contre les coques d'*Allogrommia* déterminées par le même auteur contenaient seulement 0.26% de chitine dans la masse sèche de la coque et cependant la coque d'*Allogrommia* est composée exclusivement de substance organique contrairement à *Plagiopyxis*. Supposons, selon l'auteur que la coque de *Plagiopyxis* est composée de grains de sable collés avec précision sur une couche de glycoprotéides. Les glycoprotéides, ne contiennent que 4% de mucopolysaccharides. Après une simple opération arithmétique, nous pouvons constater que dans la coque étudiée par Jeuniaux 40% de la masse sèche constituent des glycoprotéides. Cela semble invraisemblable parcequ'elle constitue essentiellement de grains de sable. Les chiffres de Jeuniaux peuvent également s'expliquer par la présence dans la coque de champignons qui vivent souvent en symbiose avec *Plagiopyxis*, ou bien d'autres impuretés collées à la coque et contenant de la chitine.

Gocevia fonbrunei est un autre représentant des *Testacea* chez lequel on a découvert la présence de MPS acides. Pussard a fait des études cytochimiques détaillées

et il a obtenu des résultats indiquant clairement la présence des MPS acides. *Gocevia* a une "cuticule" très délicate qui adhère très étroitement au cytoplasme. Elle est appelée dans la littérature française "la cuticule" et non "la coque" ou bien la théque comme chez d'autres *Testacea*. Beaucoup d'auteurs placent cet ordre dans le groupe des *Thecamoebide* qui appartiennent aux *Amoebiens* et non aux *Testaces*. L'individu et l'enveloppe se divisent simultanément. L'enveloppe se comporte donc comme une paroi ou une membrane cellulaire ou non comme une coque. Puissard a aussi fait des études cytochimiques de la couche externe de *Thecamoeba* pour faire la comparaison. Sa composition chimique est semblable à celle de *Gocevia*. A cause de cela, on pense que les résultats obtenus par cet auteur ne sont pas en contradiction avec les nôtres mais sont la preuve de la différence et du haut degré de spécialisation des *Testacés* sensu stricto parmi les *Rhizopodes*. L'existence d'une couche amorphe couvrant les membranes des Amibes est connue depuis bien longtemps. Les polysaccharides de structure ont été identifiés chez d'autres Protozoaires où ils forment les parois des kystes des Amibes de l'intestin (Kofoid et al. 1931) Cheissin 1958 estime qu'il y a des mucopolysaccharides dans les parois des kystes de *Eimeria*. Il existe encore quelques données sur ce sujet, mais elles sont toutes fragmentaires et difficile à comparer car les auteurs ne donnent pas les méthodes selon lesquelles ils ont déterminé ces substances.

La littérature concernant les polysaccharides comme matériel énergétique et de réserve est plus détaillée. Charret 1965 en utilisant les méthodes histochimiques et le microscope électronique a établi que le "chromidium" chez *Arcella* est un reticulum endoplasmatique en forme compacte dans lequel se trouvent des grains de polysaccharides appelés par l'auteur "paraglycogène". Selon le même auteur, c'est un matériel de réserve. Si la coque d'*Arcella* étudiée contenait du cytoplasme, on aurait découvert la présence de sucres. Il s'ensuit que le matériel utilisé pour les études était pur (sans cytoplasme) ce qui est franchement important quand on détermine la composition des acides aminés des coques.

En somme on ne peut donc tirer la conclusion que la coque d'*Arcella* ne contient pas de polysaccharides.

L'utilisation de divers solvants (Tableau 3) permet d'établir que la structure étudiée est insoluble dans l'eau, dans les faibles acides minéraux et dans les acides la organiques.

La coloration jaune de la coque avec le jaune naphthol indique la présence d'acides aminés alcalins — lysine, arginine et histidine. La comparaison des résultats des colorations pour établir la présence des groupes SH ou bien S-S a permis la détection d'une présence probable des groupes S-S dans la structure étudiée. La coloration rose des préparations après la réaction avec DDD ou diortoanisidine indique la localisation relativement éloignée de groupes SH. Car, selon Barrnet et Seligman 1952 en cas d'un grand nombre de groupes SH et leur localisation favorable une double conjugaison a lieu (dicoupling) de la diortoanisidine, qui a pour résultat la coloration bleue de la préparation.

La méthode de l'APFS est basée sur l'oxydation sélective de la cystine jusqu'à l'acide cystéique par l'acide performique. C'est un test assez spécifique pour établir la présence des liaisons de soufre. Par contre, Pearse considère que la réaction positive peut aussi apparaître avec des lipides non saturés et avec des groupes aldéhydes. Pour éliminer la réaction avec les groupes aldéhydes, le réactif de Schiff peut être remplacé par le bleu de méthylène. Les deux réactions dans le matériel étudié ont été positives. Pendant la coloration par le bleu de méthylène, les jeunes coques se coloraient en bleu pâle, ce qui pourrait être une preuve de l'existence d'un petit nombre de groupes S-S. Les coques âgées donnaient une réaction plus prononcée, il est possible qu'elles contiennent plus de groupes S-S. Mais ni un groupe, ni l'autre n'avaient pas la coloration bleu sombre indiquée par Pearse.

Partant de ces résultats on pourrait supposer que la coque d'*Arcella* est composée de protéines. C'est une protéine appartenant au groupe des scléroprotéides, insen-

Tableau 3
Essai de dissolution de la coque

	A froid		A chaud
	faible	concentré	
HCl	—	+	+
HNO ₃	—	+	+
H ₂ SO ₄	—	+	+
NaOH	—	+	+
CH ₃ COOH *	—	—	
H ₂ O		—	—
Pyridine		—	
Chloroforme+Ethanol		—	

* La coque gonfle.

sible à l'action des enzymes protéolytiques, insoluble dans les acides faibles minéraux et organiques. Elle contient des acides aminés soufrés dont certains sont reliés par des ponts disulfures.

Nous supposons donc que cette protéine peut être classifiée dans la groupe des kératines. Pearse donne des réactions permettant la différenciation des protéines. La coloration par le Noir Soudan B, par le PTAH selon Mallory ou bien la digestion par la trypsine pourraient indiquer que c'est une protéine ayant des propriétés semblables à celles de la prokératine. La prokératine (de la kératine jeune) diffère de la kératine par un nombre plus petits de liaisons S-S, mais par contre, a un nombre significatif de groupes SH libres (Giroud et al. 1934). Les résultats des réactions APS et DDD de chez l'*Arcella* sont en accord avec cela. Certaines expériences permettent d'exclure probablement les autres scléroprotéides. Les déterminations chromatographiques ne permettent pas de détecter de protéine. L'absence de proline, le grand nombre des alcalins acides aminés et la présence de cystine excluent le

collagène. A part, cela le collagène est soluble dans l'acide acétique à 25%. Il se rétrécit considérablement dans l'eau chaude. Le matériel étudié ne remplit pas toutes ces conditions. Par contre, sa composition en acides aminés n'exclut pas l'appartenance aux kératines. La coloration difficile de la coque suggère que ce matériel est une protéine de structure du type kératine. Toutes les réactions cytochimiques déterminant la présence des protéines, faites sur la coque donnent une réaction très faible. Cela peut résulter d'un tassement compact de la structure grâce à des liaisons S-S ou hydrogène qui sont dans la kératine. Il est possible que ce soit justement la raison pour laquelle on n'a pas réussi à déterminer les acides aminés terminaux par la réaction avec le dinitrofluorobenzène pendant l'analyse chromatographique (si ce n'était pas la glycine). Sous l'influence d'agents tel que l'acide trichloracétique ou l'acide performique, la structure de la coque est détruite par l'oxydation ou par la réduction des liaisons aussi le colorant peut réagir avec elle. Un oxydant aussi puissant que l'acide périodique ne détruit pas la structure car il ne brise pas les liaisons ou ponts hydrogènes. C'est donc très probablement une kératine.

La difficulté de classification de la protéine identifiée sous ce groupe consiste aussi en ce qu'il n'y a pas de définition claire des kératines. La partie jouée par les acides aminés dans cette protéine dépend de sa provenance. La quantité de cystéine n'est pas caractéristique, elle peut être comprise entre 18%. Généralement dans les hydrolysats, on rencontre beaucoup d'acides monoaminés, ce qui est en accord avec les résultats obtenus.

La classification de la protéine produite par les Protozoaires dans le groupe des kératines peut élever des doutes sérieux. Car il est établi que c'est une protéine caractéristique des Vertébrés supérieurs. Lundgren et Ward 1963 estiment que la kératine est un système naturel des protéines fibrillaires avec des liaisons transversales de cystine qui sont la première barrière qui protège l'organisme contre l'influence de l'environnement chez les Vertébrés supérieurs. Par contre, des structures semblables chez les animaux inférieurs ne sont pas faites de kératine. Mais d'autres auteurs constatent que la kératine n'est pas typique aux animaux supérieurs. Rogers et Filskie 1963 supposent que les cils des Bactéries ont une structure moléculaire semblable aux fibres de la kératine. Mais d'autres auteurs constatent que la kératine n'est pas typique des animaux supérieurs. Rogers et Filskie 1963 supposent que les cils des Bactéries ont une structure moléculaire aux fibres de la kératine et qu'on peut les classer dans le même groupe. Mercer et Dixon 1967 estiment que l'enveloppe du kyste des métacercaria des *Trématodes* est composée entre autres d'une couche de kératine amorphe. Chez d'autres *Plathelminthes*, on a aussi trouvé la kératine. Brown 1950 l'a trouvée dans les rhabdites de *Planaria*, Crusz 1947 dans les crochets chez *Cysticercus*, Fauré-Fremiet et Baudouy 1938 dans le bysus de *Mytilus*.

Picken 1960 distingue seulement deux types de substance extracellulaires mécaniques: la chitine et la collagène. En cas d'élasticité de la structure, c'est le collagène et en cas de rigidité la chitine. La présence des protéines formant des structures

des soutien est universelle, chez les protozoaires. Ce sont des protéines fibrillaires formant des structures diverses chez les ciliés.

Nous croyons qu'il n'y a pas de raison d'exclure l'existence chez *Arcella* de substances semblables à la kératine. C'est probablement une protéine caractéristique de ces animaux. Une protéine composée d'acides aminés caractéristiques synthétisées d'après l'information génétique, la présence des groupes SH permet la formation des liaisons S-S qui les prédispose au rôle d'élément de soutien. Les traits physico-chimique d'une protéine ainsi formée peuvent la rapprocher de la kératine, comme la protéine du flagelle de la Bactérie qui n'est pourtant pas une keratine sensu stricto. Une protéine universelle qui aurait le rôle de protection ne peut pas exister dans toute le règne animal. Aussi sous la dénomination de collagène on comprendra des protéins diverses.

La chitine est une substance non spécifique, pour sa synthèse comme pour la synthèse des autres polysaccharides. Il faut qu'il y ait des enzymes qui existent chez les Invertébrés, comme chez les Vertébrés et memes les Plantes. C'est pourquoi en parlant de la chitine ces *Coelenterata*, des Insectes ou bien des Champignons, on sait toujours que ce sont des chaînes de l'N-acétylglucosamine liées par la liaison 1-4. Par contre, en utilisant le terme kératine, on sait seulement que c'est une protéine avec certaines propriétés physiques et structurales sans composition stable d'acides aminés.

Nous considérons donc qu'il faut renoncer au terme pseudochitine pour déterminer la substance de la coque d'*Arcella*.

Résumé

Les résultats des études cytochimiques et chromatographiques on a montré que la coque d'*Arcella* contient les acides aminés suivants: glycine, acide glutamique, alanine, leucine, arginine, valine, phenylalanine, cystine et tyrosine. Aucune des méthodes utilisées n'a permis d'établir la présence de mucopolysaccharides dans la coque. En se basant sur ces études, nous supposons qu'elle est construite de protéines appartenant au groupe des kératines.

Nous considérons donc qu'il faut renoncer au terme pseudochitine pour déterminer la substance de la coque d'*Arcella*.

STRESZCZENIE

W wyniku badań cytochemicznych i chromatograficznych ustalono, że skorupka *Arcella* zawiera następujące aminokwasy: glicynę, kwas glutaminowy, leucynę, argininę, walinę, fenyloalaninę, cystynę i tyrozynę. Nie wykryto w niej obecności polysacharydów stosując wyżej wymienione metody, a również działając na nią enzymami. Na podstawie przedstawionych badań przypuszcza się, że skorupka *Arcella* zbudowana jest z białka należącego do grupy keratyny. Należałoby więc zrezygnować z powszechnie używanego w piśmiennictwie naukowym terminu pseudochityna na określenie materiału ją budującego.

BIBLIOGRAPHIE

- Averintzev S. 1906: Die Struktur und die chemische Zusammensetzung der Gehäuse bei den Süßwasserhizopoden. Arch. Protistenk., 8, 36-59.
- Barka T. and Anderson P. J. 1965: Histochemistry. Hoeber and Rown, New York.
- Barnett R. J. and Seligman A. M. 1952: Histochemical demonstration of protein bound sulfhydryl groups. Science, 116, 323-327.
- Benson D. G. Jr. 1966: Azur A-Schiff, Alcian blue HIO₄-Schiff, Naftol yellow S. A sequential staining method for paraffin sections. Stain tech., 91, 155-158.
- Berger L. R. and Weiser S. W. 1958: The β -glucosaminidase activity of egg-white lysosyme. Biochim. biophys. Acta, 26, 517-521.
- Bloom G. and Kelly J. W. 1960: The copper phthalocynine dye "Astrablau" and its staining properties especially the staining of mast cells. Histochemie, 2, 48-57.
- Breslau A. M., 1962: Polysaccharides in Microorganism. In: "Handbuch der Histochemie", vol. II Polysaccharide. Ed. Graumann W., Neumann.
- Brown C. H. 1950: Keratins in Invertebrates. Nature, 166, 439-440.
- Cain A. J. 1947: The use of Nile Blue in the examination of lipoids. Quart. Jl micros. Sci., 88, 383-385.
- Crusz H. 1947: The early development of the rostellum of *Cysticercus fasciolaris* Rud., and the chemical nature of its hooks. J. Parasitol., 33, 87-98.
- Charret R. 1965: Polysaccharides dans les Thécamoebiens étude en microscopie électronique. Progress in Protozoology, Abstr. Second int. Conf. Protozool., London 1965, Excerpta med. int. Congr. ser. No 91.
- Cheissin E. 1958: Cytochemische Untersuchungen verschiedener Stadien des Lebenszyklus der Kaninchencoccidien. Arch. Protistenk., 102, 265-290.
- Deflandre G. 1928: Le genre *Arcella* Ehr. Arch. Protistenk., 64, 152-267.
- Fauré-Fremiet E. et Baudouy C. 1938: Sur l'ovokeratine de selaciens. Bull. Soc. Chim. biol., 20, 14-23.
- Giroud A., Bullion H. et Lebland C. P. 1934: Les types deux fondamentaleu de keratisation. Bull. Hist. appl., 11, 129-144.
- Graumann W. und Neumann K. 1962: Handbuch der Histochemie. Gustaw Fischer. Studgart.
- Hackmann R. H. 1964: Chemistry of the insect cuticule. In: M. Rockstein. The Physiology of Insecta. AP.
- Hedley R. H. 1960: The iron-containing shell of *Gromia oviformis*. Quart. Jl. microsc. Sci., 101, 279-285.
- Hedley R. H. 1964: Biology of foraminifera. Intern. Rev. exp. Zool., 1, 1-45.
- Jeanloz R. 1950: Hotchkiss reaction and structur of polysaccharides. Science, 111, 289-290.
- Jeuniaux C. 1963: Chitine et chitinolyse. Liège. Université de Liège.
- Kofoid G. A. McNeil E. and Kopac M. 1931: The chemical nature of the cyst wall in human intestinal protozoa. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 29, 100-102.
- Lenk H. P., Wenzel M. und Schultze E. 1960: Darstellung von Oligosacchariden des Gluckosamins und Acetylglukosamins und deren Spaltung durch Lysozyme. Naturwissenschaften, 22, 516.
- Lillie R. D. 1951: Histochemical comparison of the Casella, Bauer and periodic acid oxidation-Schiff leucofuchsin technics. Stain tech., 26, 123-125.
- Lison L. 1960: Histochemie et Cytochimie Animal. Principes et methodes. Paris, Gauthier Villars.
- Lundgren H. P. and Ward W. H. 1963: The Keratins in Ultrastructure of Protein Fibers. ed Borasky A. P. New York.
- Mazia D., Brewer Ph. A. and Alfert M. 1953: The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromphenol. blue. Biol. Bull., 104, 57-67.
- Mercer E. H. and Dixon K. E. 1967: The fine structure of the cytogetic cells of the cercaria of *Fasciola hepatica* L. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 77, 331-334.
- Nuberger A. and Marshall R. D. 1966: Methods for the qualitative and quantitative analysis of the component sugars. Dans: "Glycoproteins". ed. Gottschalk T. V. Elsevier New York.

- Nicolet B. H. and Shiun L. A. 1939: The action of periodic acid on α -alcohols. J. Am. chem. Soc., 61, 1615-1617.
- Pearse E. A. 1960: Histochemistry — theoretical and applied. London J. A. Churchil LTD.
- Penard E. 1902: Faune rhizopodique du Bassin du Léman. Kündig Genève.
- Picken L. 1960: The organization of Cells and Other Organisms. Clarendon Press. Oxford.
- Pickett J. P., Bishop C. M., Chick E. W. and Baker R. D. 1960: A simple fluorescent stain for fungi. Am. J. clin. Path., 34, 197-202.
- Pussard M. 1965: Cuticule et caryocinèse de *Gocevia fonbrunei* n. sp. (*Cochliopodidae-Testacealobosa*). Arch. Zool. exp. gen., 105, 101-110.
- Rogers G. E. and Filskie B. K. 1963: Some aspect of the ultrastructure of α -keratin, bacterial flagella and feather keratin. Dans: "Ultrastructure of Protein Fibers". ed. Borasky A. P. New York.
- Rondle G. J. and Morgan W. T. J. 1955: The determination of glucosamine and galactosamine. Biochem. J., 61, 586-589.
- Smith I. 1958: Chromatographic Techniques. Smith Ivor. London.
- Steedmann H. F. 1950: Alcian blue 8 GS. A new stein for mucin. Quart. Jl. microsc. Sci., 91, 477-479.
- Trevelyan W. E. and Harrison J. S. 1952: Studies on the yeast metabolism. I. Fraction and microdetermination of cell carbohydrate. Biochem. J., 50, 298-303.

EXPLICATION DE PLANCHE I

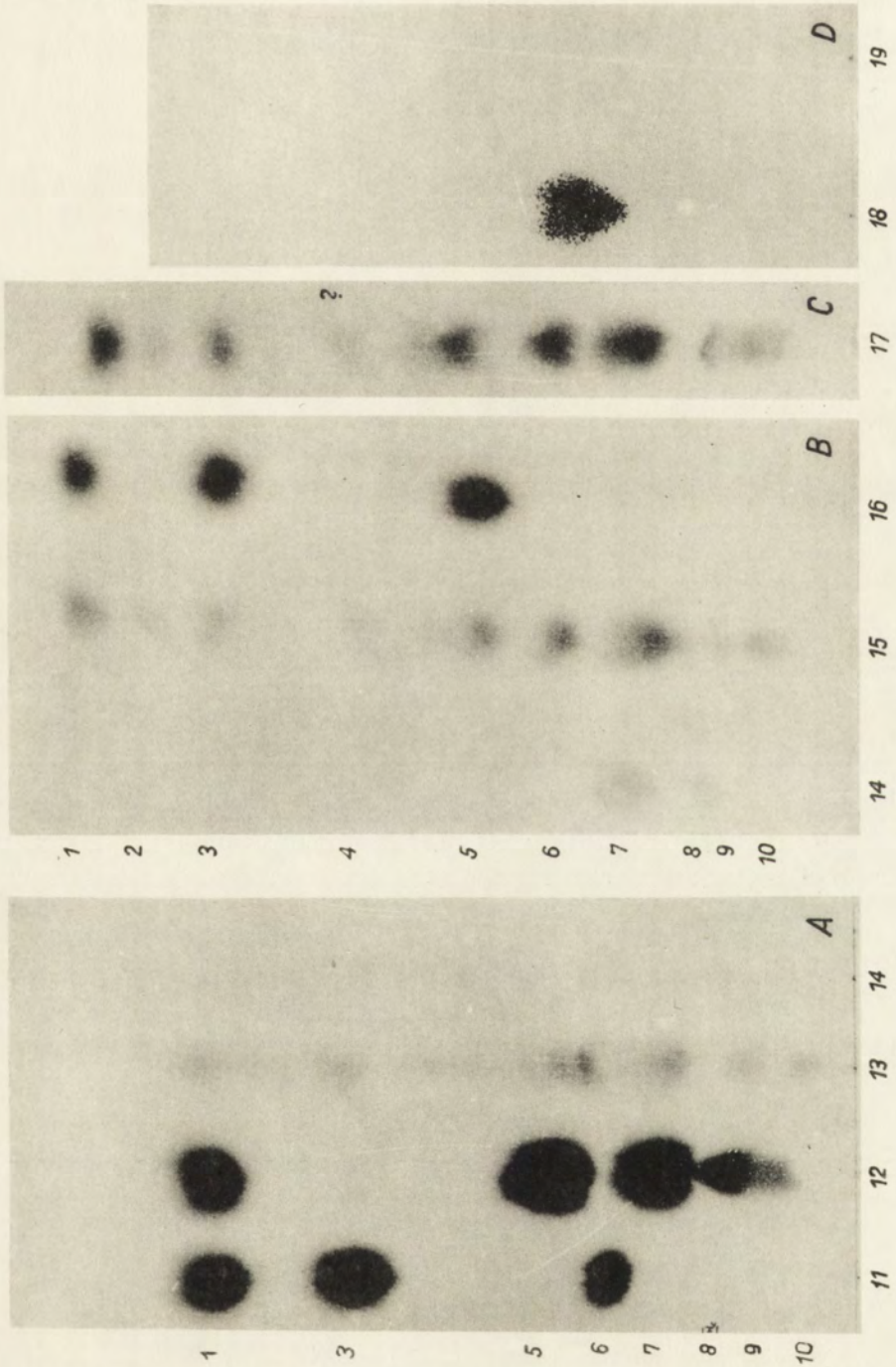
Les chromatograms

A: Le chromatogramme d'hydrolizat des coques agées (HCl 5.7N, ninhydrine)

B: Le chromatogramme d'hydrolizat des coques agées (HCl 2N ninhydrine)

C: Le chromatogramme d'hydrolizat des coques jeunes (HCl 2N, ninhydrine)

D: Le chromatogramme d'hydrolizat des coques developpe par AgNO_3 1. leucine, 2. phenylalanine, 3. valine, 4. tyrosine, 5. alanine, 6. acide glutamique, 7. glycine, serine, acide aspartique, 8. lysine, 9. acide amines basiques, 10. cysteine, 11. leucine, valine, acide glutamique, 12. leucine, alanine, glycine, lysine+acides amines basiques, 13. hydrolizat, 14. glucosamine, 15. hydrolizat, 16. leucine, methionine alanine, 17. hydrolizat, 18. glucosamine, 19. hydrolizat



J. Moraczewski

auctor phot.

Jerzy MORACZEWSKI

Structure et formation de la coque d'*Arcella**Struktura i wytwarzanie skorupki *Arcella*

La coque d'*Arcella* constitue un squelette entièrement extérieur à ce protozoaire.

Le genre *Arcella* fut décrit en 1838, par Ehrenberg, qui a remarqué sa coque, mais la structure de celle-ci ne fut décrite que par Wallich 1864. "C'est un réseau régulier, formant des espaces hexagonaux". Hertwig et Lesser 1874, et ensuite Bütschli 1875 constatent que la coque d'*Arcella* est formée de deux couches: l'une interne, mince et sans structure, l'autre externe, composée de prismes remplis de liquide. Dans les années suivantes, Bütschli 1880 communique que ces prismes sont les homologues des plaques observées chez les *Euglyphes*.

Gruber 1881 et, après lui, Pénard 1890 déclarent que la coque n'est pas composée de prismes, mais de plaques collées par une substance chitineuse.

D'après Rhumbler 1896, chaque prisme est constitué de petites gouttes sphériques (Phäasomen), dont la cohésion est assurée par une substance organique.

En 1902, Pénard communique que la coque d'une jeune *Arcella* est formée de boules à parois minces, qui, juxtaposées, forment un réseau hexagonal. Sur la face interne de ce réseau, se dépose, pendant le développement de l'individu, une substance organique, la chitine, substance contenant beaucoup de fer.

Chez les formes âgées, la moitié de l'intérieur de chaque maille de réseau est remplie de cette substance, le reste de l'espace est rempli d'eau. Au fur et à mesure que l'individu se développe, les alvéoles s'organisent en prismes. Awerinzew 1906 arrive à la conclusion que la couche externe de la coque est formée d'éléments sphériques, qui, à la suite d'une juxtaposition étroite, prennent une forme hexagonale.

Cushman et Henderson 1906 considéraient que la coque d'*Arcella* était formée d'une seule couche d'alvéoles hexagonaux uniquement associés au niveau de leurs angles.

* Ce travail est une partie de la thèse de doctorat ès sciences que l'auteur a eu l'honneur de faire sous la direction du prof. dr. Z. Raabe.

Swarczewsky 1908 pensait qu'une couche mince, sans structure, se forme d'abord, et qu'ensuite des prismes se déposent à l'extérieur de cette couche. La substance constituant le prisme serait excrétée par le plasme sous forme de gouttes qui traverseraient la mince couche basale de la coque.

Dangeard 1910, également, supposait que les deux couches ne se formaient pas simultanément. Cependant, il rejete l'hypothèse du passage des gouttes par la couche basale et croyant que le protoplasme a une structure alvéolée, il conclut que la couche des prismes doit se trouver à l'intérieur de la coque.

Khainsky 1911 affirme que toute la couche superficielle du plasme chez la jeune *Arcella*, est constituée d'alvéoles et que sa couche externe forme la coque.

Dans la monographie du genre *Arcella*, Deflandre 1928 analyse les travaux cités ci-dessus et donne quelques observations personnelles. Dans la majorité des espèces d'*Arcella*, observées par lui-même, il décrit une structure de réseaux hexagonaux. Cependant chez certaines espèces, il constate que la coque est constituée de granules serrés faisant nettement saillie vers l'extérieur. Ensuite, Deflandre constate que la couche colorée, non structurée, des coques âgées est située en fait à l'intérieur.

Au cours des quarante années suivantes, on ne s'est occupé ni de la structure, ni de la composition chimique de la coque d'*Arcella*, tous les travaux traitant de ces protozoaires ayant pour but leur écologie.

En 1963, Cambar et al, partant d'études à microscopie électronique, ont constaté que la coque contient un réseau d'alvéoles dodécagonaux, à mailles membranées, chaque alvéole sert de forme au prisme de nature organo-siliceuse.

Charret et Vivier 1964 présentent la photographie d'une coupe tangentielle observée au microscope électronique. Elle diffère un peu de l'image obtenue par les auteurs précédents, mais la description, par contre, est presque identique. Dans son travail suivant, Charret 1967 présente deux micrographes de la structure de la coque. L'auteur ne présente aucune interprétation de ces micrographies, qui selon nous, ne confirment pas l'interprétation de Cambar et de ses collaborateurs.

Matériel et méthodes

Afin d'analyser la structure de la coque d'*Arcella*, nous avons effectué des recherches à l'aide des microscopes électronique et optique. Ces recherches ont été menées sur les coques des espèces suivantes *Arcella discoïdes* Ehrbg., *A. rotundata* Play, *A. gibbosa* Def.

Les coques sont observées au microscope et sont soumises à l'action de différents dissolvants organiques et non organiques.

Pour l'étude ultrastructurale, les coques d'*Arcella* ont été incluses dans l'Epon 812, d'après la méthodologie généralement admise. Les coupes ont été observées aux microscopes JEM-2 et Elmiskop I.

Résultats

Les observations de la structure des coques, des espèces d'*Arcella* mentionnées, ont d'abord été effectuées au microscope optique.

Les coques d'*Arcella* ont une fine structure, visible seulement à l'objectif 90×. Cette structure rappelle un nid d'abeille (Pl. I 1-2). La coque serait constituée d'un assemblage de plaques hexagonales régulièrement disposées. Cette structure basale de la coque a été nommée "réseau" et ce terme sera employé tout au long de ce travail.

La régularité de cette structure est en fait imparfaite. Il s'avère notamment, que seule une partie des éléments de la coque forme des hexagones dont un faible pourcentage sont réguliers.

Structure de la jeune coque (Pl. I 1). Après la division, les jeunes *Arcella* ont une coque incolore adhérant presque complètement au plasme. Leur structure est déjà visible. Les coques sont très délicates, elles se cassent sous faible pression, (les jeunes *Arcella* sont détruites par simple montage entre lame et lamelle). Les "fibres" du réseau sont fines, réfractent faiblement la lumière, ne sont bien visibles qu'avec l'emploi du contraste de phase. Les mailles du réseau sont de dimensions variables, hexagonales et pentagonales. Dans les coins des mailles, à l'endroit où trois "fibres" convergent, on voit nettement des points noirs, qui donnent l'impression d'épaississement.

Comme nous l'avons mentionné, ces coques sont facilement détruites. Quand on presse légèrement sur la lamelle d'une préparation, le plasme, sous la faible pression, casse la coque. Le réseau se déchire alors comme du papier; il n'y a pas de cassure régulière, la déchirure ne se produisant pas le long des "fibres". La photographie présente la coque délicatement écrasée (Pl. I 3). On voit clairement que les "fibres" du réseau se déchirent à différentes places et ne dépassent pas le bord de la déchirure. Nous n'avons jamais observé de plaques ou de prismes isolés des mailles du réseau.

Les coques à ce stade de développement sont très molles et se déforment facilement. Nous avons observé qu'aux endroits de la fixation des épipodes, lors des mouvements du protozoaire, la coque subit une nette concavité ce qui apparaît le plus souvent chez l'*Arcella rotundata* Play. Les coques écrasées ont été montées entre lame et lamelle. Les résultats sont présentés sur le Pl. II 5. Pendant ces mouvements, la coque se plisse et ondule, comme un tissu souple glissant sur une surface raboteuse, sans se déformer toutefois. L'aspect du réseau n'est pas changé par le plissement et le redressement de la coque.

Structure de la coque âgée (Pl. I 2). Nous avons considéré comme âgées les coques vides que l'on trouve dans une culture; elles ont une couleur jaune-ou brun jaune. Leur structure est nette. Les "fibres" du réseau sont épaisses. Les coques sont rigides et dures. Afin de les écraser, il faut fortement appuyer sur la lamelle couvrante. Il est difficile de les couper, elles s'effritent sous le couteau. Nous n'avons

jamais noté que des prismes s'isolaient du réseau quand on cassait la coque, généralement celle-ci se fendait dans la longueur (Pl. I 4) ou, comme chez les jeunes coques, en travers des "fibres". On voit alors nettement les fibres cassées faisant saillie le long de la fissure.

Partant d'observations multiples, effectuées sur des individus élevés au laboratoire ou recueillis sur le terrain, nous avons constaté qu'au cours du vieillissement des coques, il se produit certains processus qui changent leur structure et leurs caractéristiques. Il faut souligner que les processus de ce genre ne se produisent que sur des coques habituées par un protozoaire. Les jeunes coques, dont on a isolé le protozoaire, ne subissent aucun changement. Le vieillissement consiste avant tout en un durcissement de la structure et assez souvent en des déformations. Le durcissement peut résulter d'un dépôt de matériel le long des "fibres" (Pl. II 6), et par cela même provoquer leur épaissement, ou d'un dépôt de matériel à l'intérieur ou à la surface des alvéoles.

La face dorsale convexe possède une structure plus régulière que celle du réseau que l'on vient de décrire. L'*Arcella rotundata* Play possède une face dorsale plus convexe à structure presque idéalement hexagonale. La face ventrale est plate et possède une structure différente. La photographie Pl. II 7-9 représente la partie centrale de la face dorsale, typique de la coque d'*Arcella discoïdes* Ehrbg. Elle est très régulière. La limite entre la face dorsale et la face ventrale, est bien visible sur la photographie (Pl. II 8). Cette limite est caractérisée par une structure composée de petites mailles de forme arrondie. La face ventrale possède aussi une structure en réseau, mais les mailles sont irrégulières et en général ovales. Sur la photographie, on peut voir par une ouverture la face dorsale de la coque et remarquer une très nette différence entre sa structure et celle de la face ventrale. Sur des préparations pour microscope optique, on observe une répartition serrée des alvéoles dont leur hauteur est inégale. On a l'impression que certaines alvéoles font saillie à l'intérieur de la coque.

L'étude ultrastructurale de la coque d'*Arcella* a présenté de nombreuses difficultés. La coque d'*Arcella*, et spécialement la coque âgée, est dure et difficilement pénétrable par les résines, ce qui provoque un effritement du matériel lors de la coupe, même lorsque l'inclusion est faite en épon.

La face dorsale d'*Arcella discoïdes* Ehrbg. est formée d'alvéoles étroitement adhérentes. Les parois interne et externe des alvéoles ont presque la même épaisseur. L'épaisseur de la coque mesurée sur ultrasection atteint environ 0.7 μ . Les alvéoles paraissent s'être vidés, ce qui d'ailleurs a provoqué leur aplatissement. La face ventrale est plus fine, la paroi externe des alvéoles a subi des déformations plus grandes ce qui prouverait que cette paroi est plus molle que celle de la face dorsale. La répartition des parois transversales étant moins dense, les alvéoles sont plus grandes. L'épaisseur de la paroi est sensiblement la même que celle de la paroi de la face dorsale.

Le matériel constituant la paroi donne l'impression d'être homogène.

Les coques d'*Arcella rotundata* Play sont déformées. La contraction a entraîné une forte ondulation (Pl. III 10-11). Il semble que les parois externe et interne de la coque sont presque parallèles. Leurs affaissements visibles sur les micrographies résultent probablement de l'action du fixateur. Les espaces interalvéolaires apparaissent triangulaires. Les alvéoles sphériques, vu leur forme, ne sont tangentielles que par leur équateur, et c'est ainsi qu'entre trois alvéoles adjacentes se forme un espace triangulaire visible sur une coupe transversale. En coupe tangentielle proche de la surface (Pl. IV 13-14), la coque laisse apparaître également des espaces triangulaires de ce genre; qui semblent être vides. Ces espaces sont aussi visibles au microscope optique, sous forme de points sombres.

Il semble que l'intérieur de l'alvéole soit en général vide, quoique dans certain, on ait pu constater la présence de petites quantités de matériel, réparties près de leurs parois. L'affaissement des alvéoles pendant leur fixation prouve qu'ils ne sont pas remplis d'une substance épaisse et dure, mais d'une substance homogène qui ne se colore pas, qui peut être tout simplement de l'eau. Dans les coques âgées, fortement colorées, d'*Arcella gibbosa*, on a constaté que les alvéoles sont remplis d'une substance granuleuse (Pl. IV 14).

Discussion des résultats

La structure analysée est caractéristique par la présence des espaces entre les alvéoles. Il semble que leur présence et leurs dimensions dépendent de la courbure de la coque. Ces espaces apparaissent très distinctement chez l'*Arcella rotundata* Play, dont la courbure de la face dorsale a une forme semi-sphérique. Etant donné l'arc prononcé de la coque, les alvéoles doivent être plus largement répartis, sinon leur forme devrait être celle d'un calice se rétrécissant la base.

Au microscope optique, nous n'avons noté ces espaces que dans les jeunes coques de l'*Arcella discoïdes* Ehrbg, dont la courbure de la face dorsale est de 50% plus faible. Les micrographies ont montré que ces espaces n'apparaissent que très rarement dans les coques âgées.

Ce genre d'espaces n'a pas été mis en évidence sur la face ventrale, n'étant probablement pas nécessaires pour compenser la courbure de cette partie de la coque. On suppose également que ces espaces sont diminués ou éliminés au cours du vieillissement de la coque et que c'est une des raisons qui fait qu'elle perd son élasticité. Charret et Vivier 1964, ainsi que Cambar et al. 1963 ont constaté la présence des espaces mentionnés dans le réseau de la coque. Cambar suppose qu'ils traversent de part en part la coque formant ainsi des ouvertures. Il est probable que ce soit une caractéristique de l'espèce *Arcella haemisphaerica* Def., examinée par cet auteur. Dans les individus que nous avons examinés, nous n'avons jamais remarqué ces ouvertures. On ne les voit pas non plus, sur les photographies publiées par Charret et Vivier 1964 et Charret 1967. On peut supposer que, dans les

jeunes coques, quand les alvéoles ne sont pas encore aplaties, il peut y avoir un espace interalvéolaire libre. Cependant, au fur et à mesure de l'aplatissement de ces structures, ces espaces libres sont éliminés.

Comme Cambar et al. 1963 nous avons adapté la technique d'ombrage à nos préparations. La surface des alvéoles, pendant l'ombrage dans le vide, s'affaisse, comme sous l'influence des fixateurs. L'or se dépose nettement le long des membranes transversales de l'alvéole, c'est-à-dire le long des "fibres du réseau". Dans les coins entre les alvéoles, on peut remarquer des renforcements, ce ne sont pourtant pas des ouvertures. Nous pensons, que la préparation des coques par des techniques au cours desquelles se manifeste un assèchement et une déformation assez intenses, amène beaucoup plus d'arte-facts, que par la technique classique des coupes. Un autre éventualité de l'apparition des "foramines" décrites par Cambar, est la contraction des alvéoles pendant le séchage. Ils s'éloignent alors, les uns des autres, surtout au niveau des coins, ou ils sont probablement le plus faiblement adhérents.

La présence d'une autre couche externe, tel est le deuxième problème discutable. En mentionnant l'existence de cette couche, nous nous basons uniquement sur certaines suppositions, car nous n'avons pas de preuves directes. L'existence, chez de très jeunes individus, d'une surface extérieure lisse de la coque vue au microscope photonique (sur des coques non fixées), est l'indice qui pourrait suggérer l'existence de cette couche. Si cette membrane n'existait pas, les alvéoles seraient convexes. La présence d'une membrane de ce genre faciliterait l'agencement des alvéoles pendant la formation de la coque. Ce problème sera discuté plus loin. Les coupes examinées au microscope électronique suggèrent également cette présence, car on observe une membrane recouvrant les espaces inter-alvéolaires. La majorité de ces espaces est dépourvue d'une membrane de ce genre sur la face interne de la coque. L'existence d'une telle membrane a été suggérée auparavant par bien des auteurs (revue des publications). Mais des recherches récentes n'ont toujours pas permis de la confirmer ou de l'infirmer. Nous pensons que l'opinion de Dangeard 1910 était juste et qu'une paroi mince, sans structure se trouve à l'extérieur de la coque.

Formation de la coque

La formation des enveloppes et la synthèse de leur matériel intéressent les chercheurs depuis des années.

Les substances qui se trouvent à l'extérieur de la cellule peuvent être complètement synthétisées à l'intérieur de celle-ci et "excrétées" ensuite, ou alors seuls les précurseurs sont formés dans la cellule, et la synthèse de la structure à l'extérieur. Comme limite à la première hypothèse, on peut envisager le volume des éléments devant sortir de la cellule.

Etant données les liens dynamiques entre la cellule et sa coque, on ne peut considérer cette dernière comme étant typiquement extracellulaire. On ne peut appeler matériel extracellulaire une substance produite par la cellule qui ne passe dans le

milieu extérieur que lors de la mort ou de la destruction de celle-ci. Nous considérons qu'une substance extracellulaire est en partie ou en totalité synthétisée dans la cellule et excrétée sans dommage pour cette dernière. N'est-ce donc pas dans cette définition ce que l'on nomme "fibres extracellulaires", mais ce qu'il est convenu d'appeler substance basale.

La coque d'*Arcella* étant constituée de substances dures, ou rigides, nous avons donc éliminé des analyses biochimiques plusieurs substances comme les mucoprotéines et les mucines.

Hartworth 1946 pense que toutes les structures extracellulaire sont des complexes de mucopolysaccharides et des protéines. Ces complexes sont des glycoprotéines formant la plus grande partie de la substance basale du tissu conjonctif. La structure des molécules de ces combinaisons et la construction moléculaire des complexes, ont été examinées à fond par Jackson 1964. Les caractéristiques physiques générales des glycoprotéines indiquent que leurs fonctions sont liées au transport des ions plutôt que par exemple au renforcement des parois des vaisseaux sanguins Jackson 1964, "coat" sur la surface d'*Ameoba* (Chapman-Andersen 1963).

Les protéines et les polysaccharides peuvent s'agencer en fibres. Rudall 1955 pense que le matériel fibreux, extracellulaire chez les animaux, ne peut être composé que de chitine et de collagène. La chitine est synthétisée par un grand nombre d'invertébrés. En plus des Arthropodes, dont la chitine est l'élément principal du squelette, on peut la trouver chez les représentants de presque toutes les classes des invertébrés. Par contre les vertébrés, en principe, ne produisent pas de chitine. C'est le collagène qui est synthétisé le plus souvent. Le collagène en tant que tel, ne forme pas de structure rigide et dure, il est élastique et extensible. Il peut subir un durcissement avec de la chitine ou des mucopolysaccharides acides.

Pussard 1965 a découvert une enveloppe à base de glycoprotéines chez certains *Gocevia* ou *Thecamoeba*, chez le *Gromia* apparaît une enveloppe de glycoprotéines rigide (Hedley 1964).

En plus de la réponse négative, obtenue par l'analyse chimique (Moraczewski 1969), nous croyons que l'ultrastructure de la coque décrite ci-dessus, exclut la possibilité d'une présence de collagène dans cette coque.

La coque d'*Arcella* possède un réseau à structure spatiale hexagonal, ou structure en nid d'abeille. La structure en nid d'abeille est très répandue. Elle présente deux qualités: elle permet notamment l'emplacement le plus économique d'un grand nombre d'éléments et est très résistante. Le plus simple moyen de formation d'une telle structure est réalisé par la membrane péritrophique des insectes. Chaque lamelle du réseau fibreux hexagonal est formé de protofibrilles chitineuses. Le réseau se forme grâce à l'agencement des fibres sur la surface de l'épithélium dont les cellules sont réparties d'une manière hexagonale (Mercer et Day 1951). Le réseau serait un "moulage" formé sur la matrice des cellules. Les structures hexagonales que l'on peut découvrir uniquement à l'aide du microscope électronique, c'est-à-dire

au niveau des molécules, peuvent être formées ou par coordonnement des fibres (Picken 1960), ce qui produit alors un réseau, ou par la création d'un réseau hexagonal apparent, comme dans la paroi de *Spirillum*, grâce à la répartition des molécules dans des complexes lipoprotéineux (Kaveneau 1965). Ces structures se forment souvent grâce à l'emplacement serré des molécules globulaires, comme par exemple dans les parois de beaucoup d'autres bactéries et virus. (Salt on 1960). Ces structures peuvent être aussi formées par un empaiquetage serré d'autres éléments de la structure.

Il paraît également probable qu'une telle structure peut être formée par une répartition compacte d'alvéoles membraneux. Il a été depuis longtemps suggéré dans des publications, que la coque d'*Arcella* était formée d'alvéoles. La structure alvéolaire de la coque, confirmée par nos recherches, ne permet de retenir qu'une seule hypothèse quant à sa formation.

Examinons encore d'autres possibilités de la formation de structures extracellulaires. Trager 1964 a suggéré la possibilité de manifestations d'organelles spéciales, sécrétant des substances construisant la coque. Les organelles de ce genre, dénommées mucocystes, se manifestent chez les *Tétrahymena* (Zebrun et al. 1967). Leur fonctionnement est simple dans le cas de l'existence d'une enveloppe homogène dépourvue de structure spéciale. Dans le cas d'*Arcella*, les enveloppes devraient être réparties de manière à répondre à la structure de la coque, ce qui compliquerait la construction du protozaire. Ni Charret (1967), ni nous-mêmes, n'avons constaté la présence d'organelles de ce type.

Nous pensons que le processus de la formation de la coque par le secrètement de la substance au niveau d'organelles spécialisées, devrait durer assez longtemps. Par contre Dangeard 1910 et Khainsky 1911 communiquent que la formation d'une coque dure à peine une heure.

Nous avons déjà mentionné que seul Khainsky 1911 a réussi à suivre le processus de la formation de la coque. Il était partisan de la théorie alvéolaire du plasmé, et, sous l'influence de cette théorie, il maintenait que la cellule d'*Arcella* toute entière est construite d'alvéoles. Il suffit donc que la tension superficielle soit modifiée, pour que les alvéoles, réparties sur la couche extérieure du plasmé, prennent la forme hexagonale et ensuite en se durcissant forment la coque.

Au cours des dernières années, on a consacré beaucoup d'attention à la formation de la coque par les Diatomées. Elles forment une paroi cellulaire de modèle très compliqué, composée d'une couche externe organique, une couche centrale siliceuse et une couche interne également organique. (Reinmann et al. 1965). Pendant la division, la nouvelle coque des Diatomées est formée à l'intérieur du protoplasme. Les structures siliceuses sont étroitement enveloppées d'une membrane composée de trois couches. Le modèle de la coque est formé, selon ces auteurs, grâce à l'empreinte du modèle du plasmé sur l'acide siliceux à demi mou, qui se trouve entre les membranes. Ceci explique la formation des modèles du type des moulages, par contre, on ne connaît absolument pas le moyen de formation de la

coque des Diatomées, construite d'éléments spatiaux ressemblant aux alvéoles d'*Arcella*.

Les structures rigides extracellulaires sont très répandues chez les plantes. On y compte la paroi de la cellule. Cette paroi a une structure fibreuse, les fibres de la cellulose s'entrecroisent, mais ne forment pas de structure spéciale. La formation de la paroi par la cellule végétale a été examinée de près. A ce processus participent les organelles cellulaires: les membranes de l'appareil de Golgi et du ER. Comme pendant la formation de la paroi de la cyste chez les métacercaires (Mercer et Dixon 1967).

On peut donc supposer que le ER tant lisse que rugueux prenant part à la création des enveloppes cellulaires dans l'*Arcella*, il est fortement développé.

Les parois de la cellule végétale, ainsi que la substance extracellulaire du tissu conjonctif contiennent des fibres. La synthèse de ces fibres se produit en dehors de la cellule. La cellule végétale produit d'abord la lamelle centrale et ensuite à la surface de celle-ci la paroi primaire qui est composée, pour 98%, de substance amorphe, et dans laquelle on observe le processus de formation des fibres. La formation des fibres dans le tissu conjonctif a également lieu dans la substance amorphe basale. Dans ces deux cas, le lieu de synthèse du matériel fibreux est séparé du milieu extérieur. Selon Dorfmann et Schiller 1961, la synthèse des fibres se produit de telle façon que les précurseurs passent à travers la membrane cellulaire et, grâce à l'enzyme que celle-ci contient, subissent un arrangement primaire. La fibrilisation se produit ensuite, soit dans la paroi, soit dans la substance basale. Picken 1960 pense que le processus de la fibrilisation est spontané, qu'aucune enzyme n'y participe et qu'il fait suite à un agencement antérieur du matériel en profibrilles. D'autres auteurs pensent qu'il existe une enzyme indispensable à la fibrilisation, sécrétée hors de la cellule, en même temps que les précurseurs.

Il nous semble que ce modèle de formation de la coque, ne peut être réalisé par l'*Arcella*. Premièrement, parce que la coque étant située directement sur la surface du protozoaire au contact du milieu, selon ce modèle, il devrait tout d'abord se former une sorte de "membrane basale". Si le rôle de membrane basale était rempli par la membrane cellulaire, la synthèse du matériel de la coque devrait alors se produire dans la cellule, il ne s'agirait alors pas d'un matériel extracellulaire. Deuxièmement, parce que la coque est formée d'éléments alvéolaires. Il nous semble que leur formation, en dehors de la cellule, est difficilement admissible.

Ayant éliminé les possibilités ci-dessus mentionnées de la formation de la coque, nous supposons que celle-ci se forme à l'intérieur de la cellule (Moraczewski 1969, 1970).

Hypothèse de la formation de la coque (Fig. 1)

La première étape de la formation de la coque consisterait en la création d'un grand nombre d'alvéoles dans le plasme. Le plasme d'*Arcella* contient beaucoup de matériel nécessaire à l'édification des alvéoles. Il contient surtout un ER très

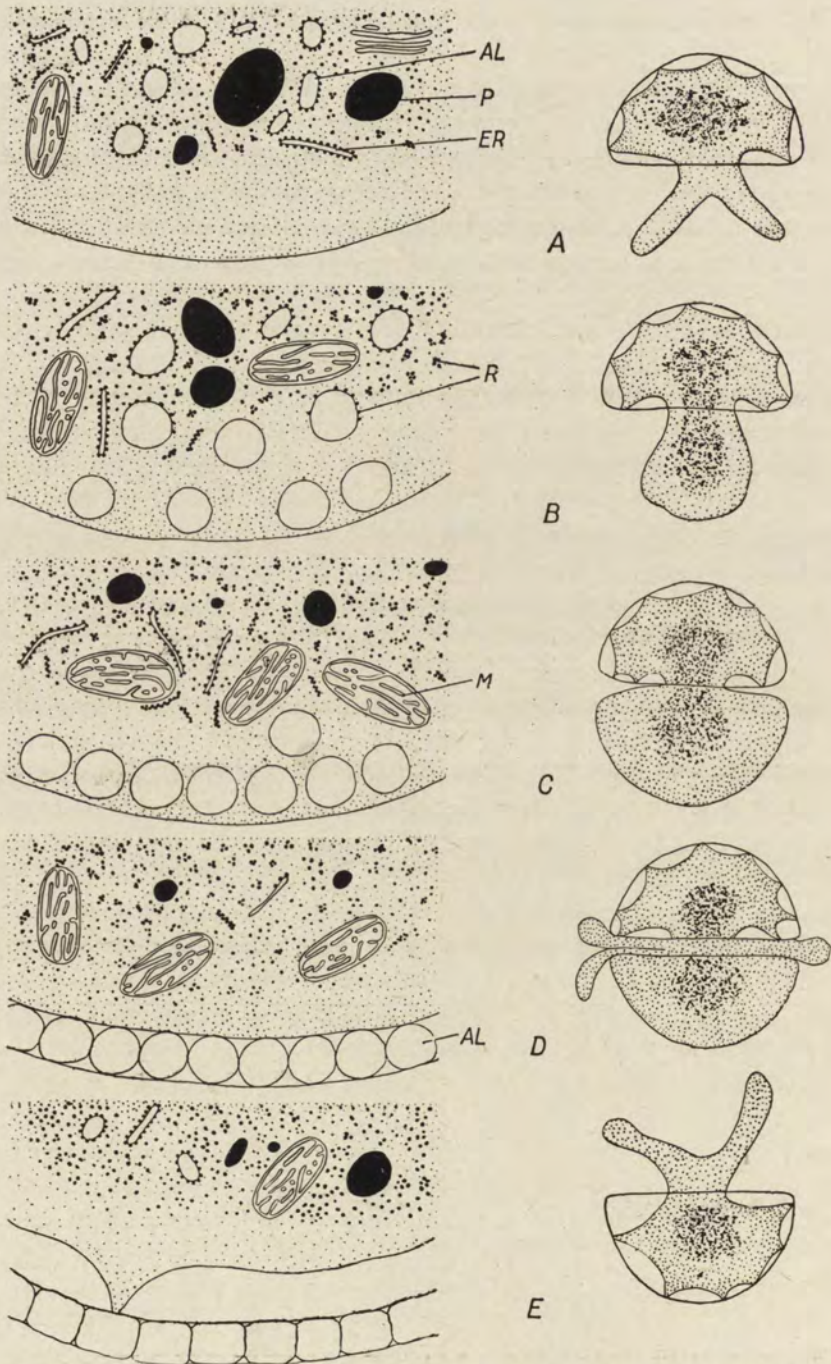


Fig. 1. Le schéma de la hypothèse de la formation de coque d'*Arcella* (explication en texte). A-E — les étapes successifs, AL — alvéoles, ER — chromidium (ergostoplasme), M — mitochondrie, P — paralygogen, R — ribosomes

développé. Ce fait est lié à la grande intensité de la synthèse des protéines, mais peut, en même temps, constituer le matériel nécessaire à la formation des alvéoles. Ensuite les cisternes ER, futurs alvéoles, perdraient leurs ribosomes et se rassembleraient sous la membrane cellulaire, grâce aux changements de viscosité du plasma, au cours de la période de division, lors du bourgeonnement. Les alvéoles contiennent probablement des précurseurs de protéines structurales de la coque. Grâce à la contraction du bourgeon, à la périphérie duquel sont situés les alvéoles, celles-ci se juxtaposent étroitement se touchant au niveau de leur équateur. Des espaces libres se forment donc entre ces alvéoles, et au fur et à mesure de la compression de ces derniers, les espaces diminuent. La force, qui provoque cette compression, pourrait avoir une double origine: une pression du plasma sur les alvéoles vers la membrane, ou une contraction de tout le bourgeon.

La deuxième étape de la formation de la coque serait sa séparation du cytoplasme et plus exactement, son excretion de la cellule. On suppose que cela se produit au moment de la division. Quand la cellule d'*Arcella* se divise après le bourgeonnement, le nouvel individu produit sous l'ancienne membrane, une nouvelle membrane cytoplasmique (Fig. 1 D). Nous supposons que ce processus, de la formation de la membrane, englobe toute la surface de l'individu fils. De cette façon, les alvéoles se trouvent entre deux membranes dont la première (la plus âgée) est fortement adhérente à ces alvéoles. Pendant un certain temps, l'amibe adhère donc étroitement à la coque qu'elle vient de produire.

La troisième période, c'est la "maturation de la coque". Nous supposons que ce processus compliqué est lié à deux phénomènes. Premièrement: à la fibrilisation déjà mentionnée des protéines (ou de leurs précurseurs), protéines qui se trouvent à l'intérieur des alvéoles; deuxièmement: à la participation active du ER sécrétant probablement des protéines (ou leurs précurseurs) en dehors de la cellule, qui pourraient prendre part au durcissement de la coque, car la maturation de celle-ci se résume en un durcissement. Ayant atteint ce stade, le cytoplasme se rétracte et s'éloigne des parois de la coque, ne restant rattaché à celle-ci que par des épipodes. C'est alors que se termine le processus de la construction, avec la participation active du protozoaire, car la distance entre la coque et le cytoplasme, comme nous le supposons, rend impossible le dépôt de protéines sur sa surface.

Le vieillissement de la coque et la formation des prismes, dans les alvéoles de certaines espèces, résultent du dépôt des produits du métabolisme et de l'absorption de certaines substances du milieu. L'*Arcella* vivant dans les eaux eu- ou dystrophiques qui contiennent de grandes quantités de composés organiques et minéraux, il paraît très probable que ces dernières puissent se déposer à l'intérieur de la coque.

Il apparaît avant tout, que le modèle que nous venons de décrire, de la formation de la structure du type en nid d'abeille, composée d'alvéoles est des plus probables. La formation de ces alvéoles et leur origine peuvent susciter de grandes réserves. Nous ne disposons pas de photographies prises au microscope électronique, qui pourraient le prouver d'une façon irréfutable. Sur la photographie (Pl. III 11) une

alvéole entourée de plasmе est visible, mais ce n'est qu'un cas rare. Un certain nombre d'auteurs ont effectué des recherches sur la sécrétion des protéines dans les cellules sécrétrices. Schmalbeck et Rohr 1967 ont suivi ce processus chez les souris, en se servant du H^3 leucine. Les protéines extracellulaires, donc aussi les protéines de structures extracellulaires, sont produites dans les cisternes ER. Il est probable qu'ensuite, ces cisternes perdent leurs ribosomes et deviennent des alvéoles du réticulum lisse. Ensuite, elles migrent sous la surface de la cellule.

Le paraglycogène auquel Charret 1967 attribue la fonction de matériel de réserve, peut être entouré de membranes lisses, à la proximité desquelles se trouvent des mitochondries en grandes quantités. Il est probable que le paraglycogène participe à la synthèse des protéines en fournissant la quantité nécessaire d'énergie. Bradfield 1951 a constaté que pendant la synthèse de la kératine, le glycogène est consommé à une grande rapidité. Les chromidies des individus, après la division, ne contiennent que très peu de grains de paraglycogène, alors qu'avant la division le paraglycogène remplissait les chromidies.

Il faudrait reconsidérer une fois de plus, le rôle des chromidies. Charret 1967, comme Peshkov et Akinshina 1963 qui ont effectué des recherches sur l'ultrastructure des *Chlamydomorphys*, considère que la synthèse des protéines est localisée dans les chromidies. Partant des analyses que nous venons de présenter, on peut supposer que les chromidies sont responsables de la synthèse des protéines dans la construction de la coque. Sur les photographies de microscopie électronique (Pl. V 15), on voit un grand nombre de cisternes, de membranes et de ribosomes libres, dans les chromidies d'*Arcella rotundata* Play. Sur les coupes d'*Arcella discoides* Ehrbg., la structure du plasmе est légèrement différente. Les chromidies étaient plus dispersées, contenaient bien moins d'alvéoles et de grains de paraglycogène. C'était des coupes d'individus dont le plasmе n'adhérait pas à la coque. On pourrait croire qu'au cours de cette période, dans les chromidies, commence l'emmagasinage des protéines et du matériel énergétique, nécessaire à la formation de l'alvéole et à la division de l'individu.

La protéine qui forme la coque d'*Arcella* appartient au groupe des kératines (Moraczewski 1969, 1970). La kératine est une protéine fibreuse qui a plusieurs formes. Elle peut apparaître sous forme de micro- ou macrofibrille, elle peut également être agencée sous forme de lamelles composées de microfibrilles (Picken 1960), elle peut aussi être amorphe (γ -kératine). La kératine n'est pas synthétisée sous sa forme définitive. Tout d'abord, la prékératine est produite, elle a une spiralisation qui n'est pas très nette — hélix. Elle a une grande quantité de groupes SH libres. Ensuite, grâce à la création des liaisons S-S, elle subit la spiralisation et le durcissement. (Giroud et al. 1934). La kératine définitive a une structure typique α -hélix. Dans certains cas, les profibrilles de la kératine ont un diamètre de 60 Å, sont incluses dans la matrice de γ -kératine (Filskie et al. 1961). Dans certaines structures (plume d'oiseau) la γ -kératine amorphe prévaut nettement l' α -kératine fibrillaire.

Nous croyons que l'on peut rattacher le processus du durcissement de la coque à la "kératinisation" de sa structure. Les réactions cytochimiques démontrent que dans les coques âgées, il y a plus de groupes S-S que dans les jeunes, ou prévalent les groupes SH. En partant des photographies de microscopie électronique, on ne peut pas dire si la protéine a une structure qui ressemble à l' α -kétaines, ou à celle des autres sortes de kératine.

Mercer et Dixon 1967 ont constaté dans les cellules de la métacercarie, la présence de précurseurs de la kératine, sous la forme de baguettes de quelques microns, ayant une structure caractéristique. Ces produits n'ont pas été observés dans le plasme d'*Arcella*, quoique les photographies de certains alvéoles ER et tout particulièrement, la structure présentée sur la photographie No. 7, du travail de Charret 1967, rappellent clairement les premiers stades du développement des précurseurs de la kératine.

En résumant, la coque d'*Arcella* a une structure alvéolaire, elle est produite à l'intérieur de la cellule et seul le processus de son durcissement se place en dehors du plasme. Elle est construite de protéines, du type des kératines, dont les précurseurs sont synthétisés dans les chromidies.

Nous croyons que la protéine de ce type est assez fréquente dans les structures de soutien des autres protozoaires, car il n'y a pas de substances plus ou moins primitives et c'est pourquoi la kératine, qui est une sorte de protéine, ne peut pas être typique pour les vertébrés supérieurs.

Résumé

La coque d'*Arcella* constitue un squelette à l'extérieur du protozoaire. La structure fine de cette coque rappelle une structure en nids d'abeille. Les jeunes Arcelles ont une coque incolore adhérant presque entièrement au cytoplasme, au contraire celles des Arcelles âgées sont colorées en jaune ou brun-jaune et sont rigides. La coque est formée d'alvéoles juxtaposés très compactes. Les parois de ces alvéoles sont constituées d'un matériel dense aux électrons. L'étude approfondie du cytoplasme a montré que d'ergastoplasme forme la "chromidium".

En s'appuyant sur ces observations nous pouvons formuler une nouvelle hypothèse sur la formation de la coque. On pense qu'elle prend naissance à l'intérieur du cytoplasme et serait donc un produit intracellulaire.

STRESZCZENIE

Stwierdzono, że skorupka *Arcella* utworzona jest z alweoli ściśle do siebie przylegających i tworzących strukturę plastra miodu. Ścianki alweoli zbudowane są z materiału silnie osmofilnego, elektronowo gęstego. Stwierdzono, że skorupki *Arcella* starzejąc się tracą elastyczność i stają się

sztwyne oraz kruche. Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano hipotezę powstania skorupki. Przypuszcza się, że skorupka *Arcella* powstaje wewnątrz cytoplazmy z pęcherzyków endoplazmatycznego retikulum, które zbierają się pod błoną pączkującej komórki, ulegają ściśnięciu (wytwarzając strukturę plastra miodu), po czym zostają oddzielone od komórki nową błoną.

Można więc uważać, że skorupka *Arcella* nie jest utworem pochodzenia ekstracellularnego.

BIBLIOGRAPHIE

- Awerinzew S. 1906: Die Struktur und die chemische Zusammensetzung der Gehäuse bei den Süßwasserrhizopoden. Arch. Protistenk., 8, 36–59.
- Bradfield J. R. G. 1951: Glycogen of vertebrate epithelium. Nature, 167, 40–41.
- Bütschli O. 1875: Zur Kenntnis der Fortpflanzung bei *Arcella*. Arch. mikrosk. Anat. EntwMech., 11, 73–85.
- Bütschli O. 1880–82: Protozoa. in Bronns-Klassen und Ordnungen des Tierreichs Bd. I *Sarcodina*. Leipzig VAG.
- Cambar R., Le Blanc L., Mercier M. et Thomas R. 1963: Contribution à l'étude d'ultrastructures superficielles de protistes: Constitution de la thèque de quelques Rhizopodes Testacés. III. Europ. reg. conf. El. Micr. vol., B, 181–183.
- Cambar R., Thomas R. et Le Blanc M. 1963: Recherches sur la constitution de la thèque des *Arcelles*, observations au microscope électronique. C. R. Acad. Sci., 256., 1364–1367.
- Chapman-Andersen C. 1963: Studies on pinocytosis in amoebae. C. R. Trav. Lab. Carlsberg, 33, 73–210.
- Charret R. 1967: Caractères cytologiques du thécamoebien *Arcella polypora*. Protistologia, 3, 73–78.
- Charret R. et Vivier E. 1964: Ultrastructure de *Arcella polypora Rhizopoda Testacea*. III Europ. reg. conf. El. Micr. vol. B, 187–188.
- Cushman W. T. and Henderson J. P. 1906: A preliminary study of the fine structure of *Arcella*. Amer. Nat., 40, 171–17.
- Dangeard P. A. 1910: Etudes sur le développement et la structure des organismes inférieurs. Le Botaniste, ser., 11, 18–34.
- Deflandre G. 1928: Le genre *Arcella* Ehrbg. Arch. Protistenk., 64, 152–267.
- Dorfmann A., Schiller S. 1961: Mucopolysacharides of Connective Tissue in Biological Structure and Function. vol. 1, ed. Goodwin T. W. New York, Academic Press.
- Ehrenberg C. G. 1838: Die Infusorien als vollkommene Organismen. Berlin.
- Filskie B. K., Rogers G. E. 1961: The fine structure of α -keratin. J. molec. Biol., 3, 784.
- Frey-Wyssling A., Mühlethaler K. 1965: Ultrastructural plant cytology. London, Academic Press.
- Giroud A., Bullion H. et Leblanc C. P. 1934: Les deux types fondamentaux de kératisation. Bull. Histol. appl. Physiol. Path., 11, 129–144.
- Gruber A. 1881: Die Teilung der monothalamen *Rhizopoda*, Z. wiss. Zool., 36, 28–46.
- Harworth W. N. 1946: Bakerian lecture. The structure, function and synthesis of polysacharides, Proc. R. Soc. A., 186, 1–20.
- Hedley R. H. 1964: Biology of *Foraminifera*. Intern Rev. Experim. Zool., 1, 1.
- Hedley R. H. et Bertaud W. S. 1962: Electron microscopic observations of *Gromia oviformis*. J. Protozool., 9, 79–83.
- Hertwig R. et Lesser E. 1874: Über Rhizopoden und denselben nahstehenden Organismen, Arch. mikrosk. Anat Entw. Mech., 10 suppl. 110–125.
- Jackson S. F. 1964: Connective Tissue Cells, In: The Cell, vol. 6, ed. Brachet J. Mirsky A. E. Academic Press.
- Kavanau J. L. 1965: Structure and function in biological membranes. Holden-Day, Amsterdam.
- Khainsky A. 1911: Untersuchungen über *Arcellen*. Arch. Protistank., 21, 165–179.
- Mercer E. H., Day M. F. 1951: The fine structure of the peritrophic membranes of certain insects. Biol. Bull. mar. biol. Wood's Hole, 103, 384–389.
- Mercer E. H. et Dixon K. E. 1967: The fine structure of the cystogenetic cells of the cercaria of *Fasciola hepatica* Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 77, 331–334.
- Moraczewski J. 1969: Composition chimique, structure et formation de la coque d'*Arcella*. Progress in Protozoology, Abstr. Third int. Congr. Protozool. Leningrad 1969, Nauka, 32.

- Moraczewski J. 1970: La composition chimique de la coque de *Arcella discoides* Ehrbg. Acta Protozool., 8, 407-422.
- Penard E. 1890: Etudes sur les rhizopodes d'eau douce. Mem. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève, 31, 2-24.
- Penard E. 1902: Faune rhizopodique du Bassin du Léman. Genève. Kündig.
- Peshkov M. A., Akinshina G. T. 1963: Citologičeskie issledovanja kornenožki *Chlamydrophris major*. Citologia, 5, 554-565.
- Picken L. 1960: The organization of cells and other organisms. Clarendon Press, Oxford.
- Pussard M. 1965: Cuticule et caryocinèse de *Gocovia fonbrunci* n. sp. (*Cochliopodidae-Testacealobosa* Arch. Zool. exp. gén., 105, 101-110.
- Reinmann B. E., Lewin J. C. et Volcani B. E. 1965: Studies on the biochemistry and fine structure of silica shell formation in diatoms. J. Cell. biol., 24, 39-55.
- Rhumbler L. 1896: Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden. Z. wiss. Zool., 61, 118-126.
- Rudall K. M. 1955: The distribution of kollagen and chittin. Symp. Soc. exp. Biol., 9, 49-57.
- Salton M. R. J. 1960: Microbial Cell Walls. New York, Academic Press.
- Schmalbeck J. und Rohr H. 1967: Die Mukopolysaccharid-Synthese in ihrer Beziehung zur Eiweiss-Synthese in der Brunnerschen Drüse der Maus. Z. Zellforsch., mikrosk. Anat., 80, 329-337.
- Swarzewsky B. 1908: Über die Fortpflanzungsercheinungen bei *Arcella vulgaris*. Arch. Protistenk., 12, 83-97.
- Trager W. 1964: The cytoplasm of Protozoa, In: The Cell. vol. 6. ed. Brachet J., Mirsky A., New York, Academic Press.
- Wallich G. 1864: On structural variation among the Difflugians Rhizopods, Ann. Mag. nat. Hist., 13, 53-57.
- Zebrun W., Corliss J. O., Lom J. 1967: Electron microscopical observations on the mucocyst of the Ciliata *Tetrahymena rostrata*. Trans. Am. microsc. Soc., 86, 28-32.

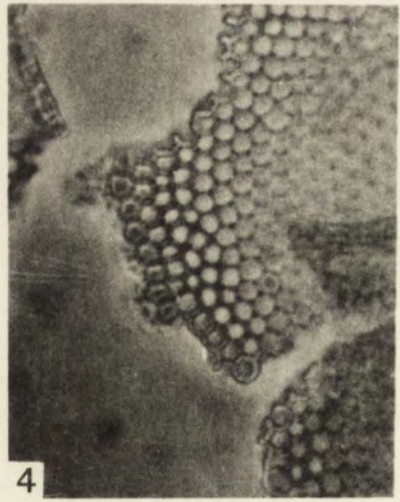
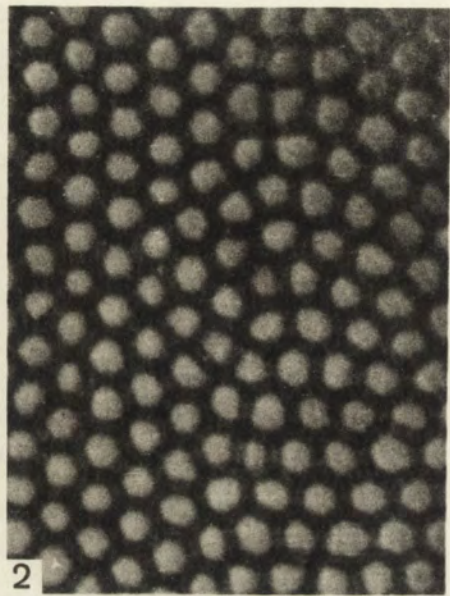
EXPLICATION DES PLANCHES I-V

La coque d'*Arcella* en microscope optique

- 1: La coque jeune
- 2: La coque âgée
- 3: La fissure de la coque jeune
- 4: La fissure de la coque âgée
- 5: La jeune coque glissée sous la lamelle
- 6: Le dépôt sur la coque âgée
- 7: Face dorsale de la coque
- 8: Angle de la coque
- 9: Face ventrale de la coque

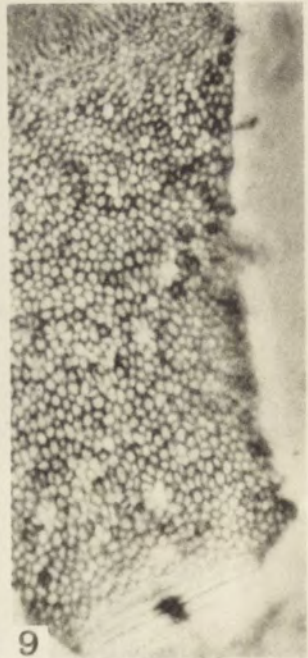
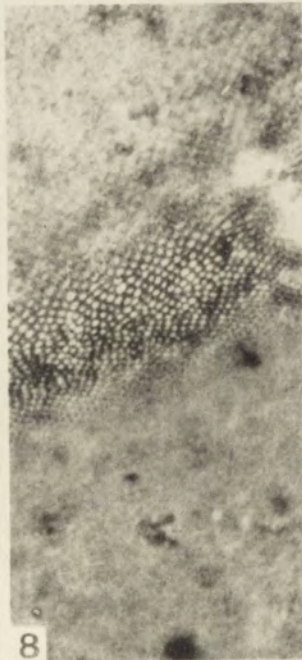
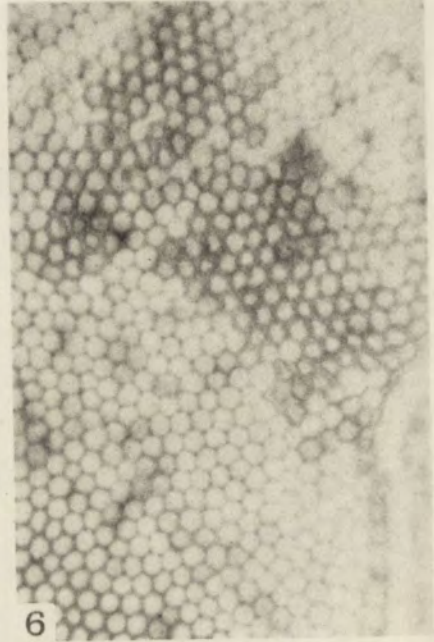
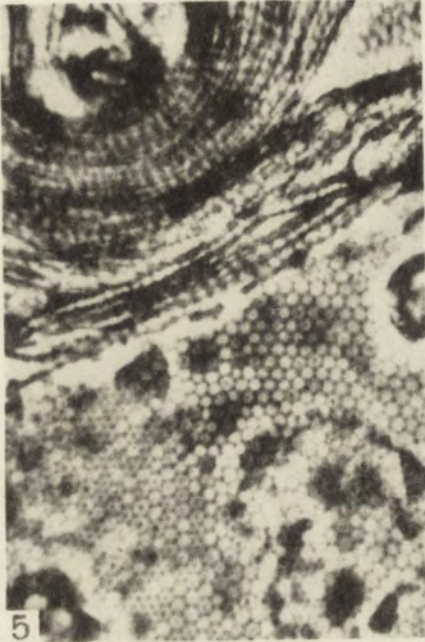
Ultrastructure de la coque d'*Arcella*

- 10: Les alvéoles de la coque d'*Arcella rotundata* 21 000 ×
- 11: Les alvéoles entourés par le cytoplasme 10 000 ×
- 12: Les alvéoles de la coque d'*Arcella gibbosa* 9 000 ×
13. Coupe transversal de la coque d'*Arcella rotundata* 60 000 ×
- 14: Coupe verticale de la coque d'*Arcella gibbosa* 10 000 ×
- 15: Le cytoplasme d'*Arcella rotundata* ER — chromidium (ergastoplasme), M — mitochondrie, P — paraglycogen, R — ribosomes



J. Moraczewski

auctor phot.



J. Moraczewski

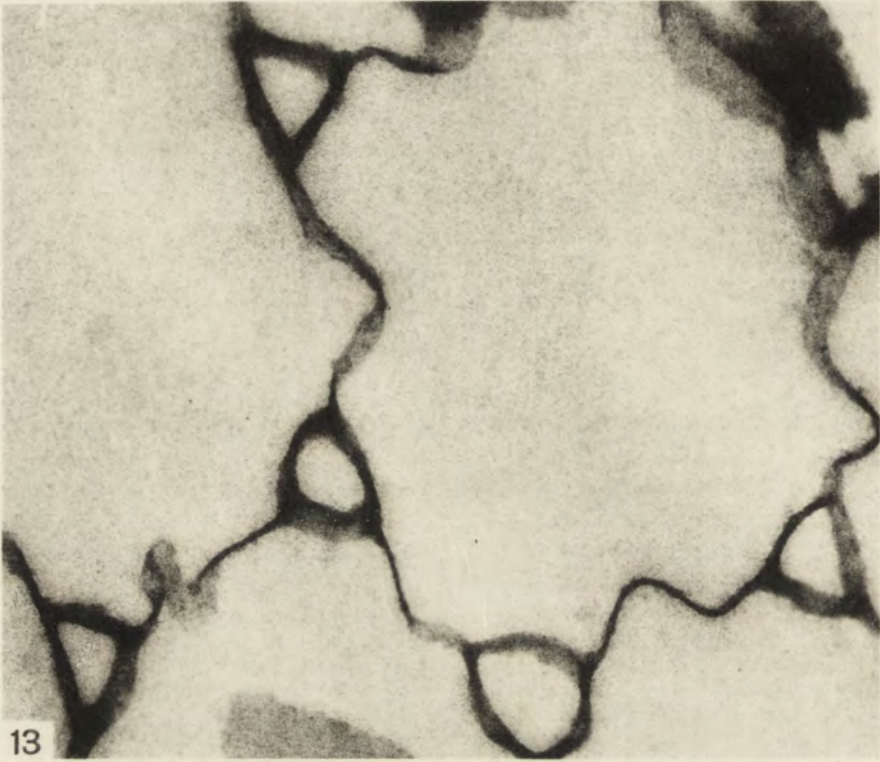
auctor phot.



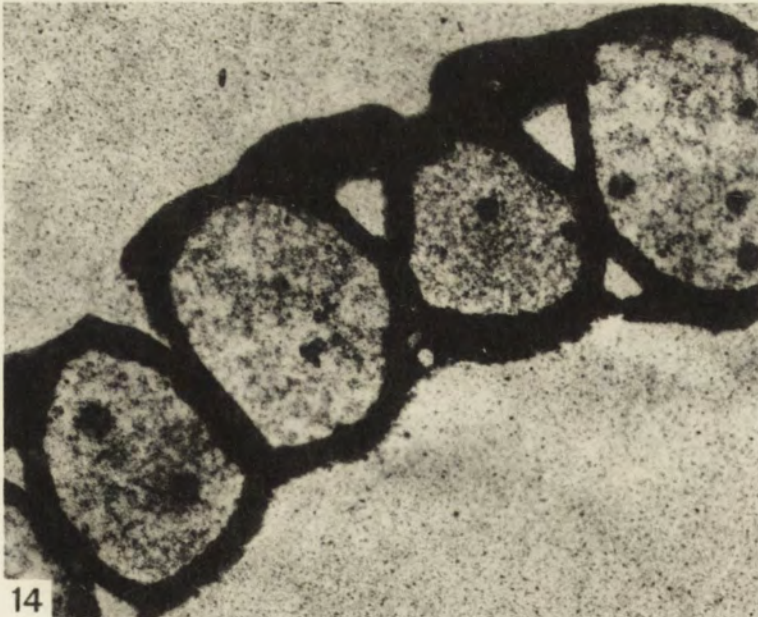
J. Moraczewski



auctor phot.



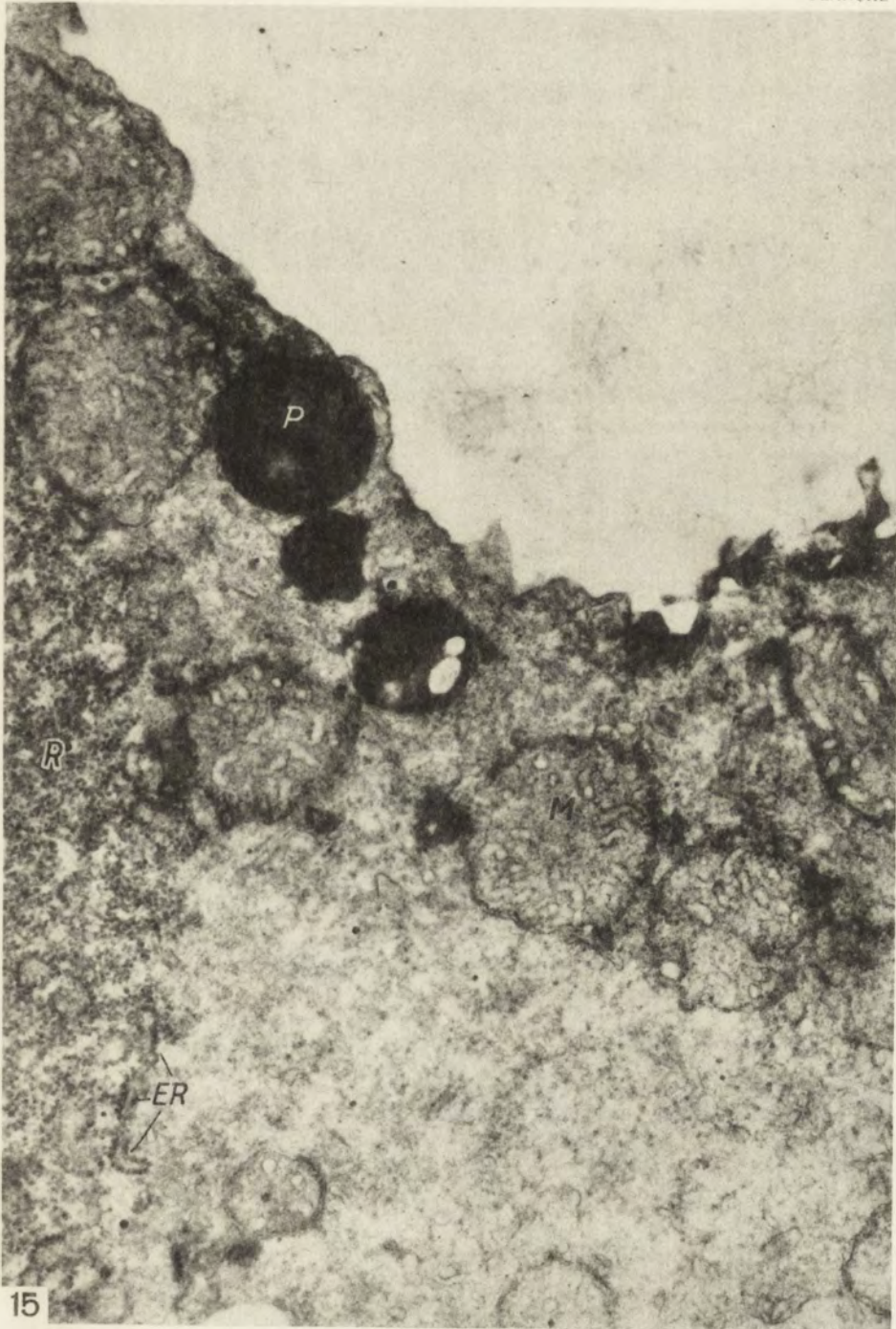
13



14

J. Moraczewski

auctor phot



15

J. Moraczewski

auctor phot.

Department of Cell Biology, M. Nencki Institute of Experimental Biology,
Polish Academy of Science, Warszawa 22, Pasteura 3, Poland

Leszek KUŹNICKI and Jerzy SIKORA

Cytoplasmic streaming within *Paramecium aurelia*

I. Movements of crystals after immobilization by antiserum

Prąd cytoplazmatyczny u *Paramecium aurelia*

I. Ruchy kryształów po immobilizacji surowicą odpornościową

Circulatory streaming of the cytoplasm within the cell is one of major categories of movement in protozoa. Phenomenon, usually called "cyclosis", has been observed in a number of ciliates but was mainly studied in *Paramecium*. According to Koenuma 1963, Jahn and Bovee 1964, 1967, 1969 cyclosis in ciliated protozoa exemplified one type of active-shearing mechanism. The evidence for this explanation were the quantitative studies on velocity distribution of protoplasmic streaming across *Paramecium* body, judged by movement of cytoplasmic inclusions.

The velocity distribution of cyclosis obtained by Koenuma 1963 in *P. caudatum* and by Jahn and Bovee 1967 in *P. multimicronucleatum* have much the same sigmoid profiles that of the ligated *Nitella* cell (Kamiya and Kuroda 1956). According to Kamiya and Kuroda 1956, endoplasm of *Nitella*, lacking itself any motive force, is driven by the shifting force generated at the gel-sol interface.

The first, and as yet most detailed measurement of cyclosis rate in six different transverse section of *P. caudatum* was obtained from one-second microphotographic records of streaming of endoplasmic granules. In order to arrest the swimming, paramecia were exposed to the vapours of izopropyl alcohol for 30 min or more before recording.

By means of these method Koenuma 1963 has noticed the following data:

1. A thin layer of subpellicular ectoplasm is in gel state and therefore does not move at all.
2. The movement of cytoplasm is most rapid (approx. 3 μ /sec) at the interface between stationary subpellicular gel and endoplasmic sol. Velocity of cyclosis decreases gradually with an increase in distance from ectoplasmic gel.
3. Cyclosis occupies almost the whole space of endoplasm. Only granules close to the long axis of the *Paramecium* body, where parallel streams of opposite course meet, show zero velocity.

4. The maximum velocities of protoplasmic streaming were the same in every part of *Paramecium* body.

Admittedly, previous quantitative studies of cytoplasmic flow of cyclosis in *Paramecium* are preliminary and limited by unsatisfied methods. Izopropyl alcohol deforms the shape of the cell and causes other pathological changes in motionless specimens. The validity of calculation of the velocity distribution across the course of cyclosis from one-second photomicrographic records is highly dubious. During one-second exposure, the paths covered by granules are extremely short. In consequence, photomicrographs of cyclosis in ciliated protozoa never have been published.

The authors believe that the method applied in the present study overcomes all previous technical difficulties as it renders possible:

1. Recording the paths of endoplasmic streaming during cyclosis.
2. Recording of traces of separate crystals carried by cytoplasmic flow.

On this ground authors collected evidence which differs fundamentally from the former studies.

Material and methods

The material for experiments was *Paramecium aurelia*, stock 51 K (free of "kappa") syngen 4. Cultures were grown at 27°C on lettuce infusion or on lettuce infusion enriched by 0.0625% w/v glycerol (Sikora unpublished), both inoculated by *Aerobacter aerogenes*. Paramecia for experiments were harvested by centrifugation (max. $g \times 750$) not longer than 2 min. Afterwards densified cells were rinsed 2-3 times in phosphate-citrate buffer (Dryl 1959) at pH 6.3. The same buffer in experimental medium was applied as diluent of antiserum in all experiments performed.

Experimental procedure was began 1-1.5 hr after paramecia have been centrifugated. Experiments were performed in the following way: Paramecia of 51 A serotype were mixed with diluted homologous antiserum in concentration sufficient to immobilize them in 30 min on microscopic slides at $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Specimens of diverse serotypes (51B and 51D) were the controls. Their behavior was the indicator to appreciate the possible harmful influence of surrounding medium.

Immobilized animals in 2-3 hr do not exhibit visible morphological changes of the cell shape (Pl. I 1). Contractile vacuoles were active and no vacuolization of cytoplasm was noticed. Paramecia treated by homologous antiserum before complete immobilization did not show any visible cyclotic movement of cytoplasmic granules and crystals. The beginning of movement of cytoplasmic streaming and crystals was nearly simultaneous with complete immobilization of *Paramecium*. By complete immobilization it was understood the entire arrest of forward movement and highly retarded movement of "vibration" type (Kuźnicki and Sikora 1966).

The streaming of cytoplasm indicated by movement of numerous small granules and crystals for more than two hours has been watched under various light microscope techniques.

To obtain the photographic records of cyclosis and movement of single crystals, the interference-polarizing microscope MPI-5 made by PZO (Poland) was used. Moving crystals under polarizing light have traced their paths on the film (Pl. I 2-6). Another cell inclusions and structures under polarizing light were not visible. The movement of crystals was recorded by means of several values of exposure time (from 5 sec up to 2 min).

The advantage of the applied technique was the possibility of recording the movement of indicators (crystals) and determination of cell regions where the cytoplasm does move. For photographic recording the specimens containing small number of crystals were chosen. By this way it was possible during 5-15 sec exposure time, to record the path of single crystal.

Results

Performed analysis indicated a different velocity of movement of crystals. Some of them remained motionless while others moving with a high speed at the same time (Pl. II 7-10). There is no doubt about motionless state of those crystals because no evidence of movement could be obtained even during 80 sec exposure. Use of longer exposure time does not give an answer, whether all crystals move or not, but it shows the space which is occupied by moveable crystals within *Paramecium* (Pl. II 11).

It was impossible to demonstrate a difference in number of crystals within *Paramecium* by use of partially polarized light (Pl. III 12, 15). The best results either for visual observation or photography have been obtained by use of completely polarized light. For the photographic recording it was necessary to choose the specimen with a small number of crystals (Pl. III 13, 14), while for visual observation (Pl. III 16, 17) the occurrence of greater number of crystals proved to be more convenient.

A number of visual observations and careful examining of photographic records have shown a strictly determined pattern of crystals movement within *Paramecium*. There are sufficient reasons to believe that crystals move in determined regions of a cell. However it should be pointed out, that different patterns (they look like different) could be observed (Pl. IV 18-21). It was established that those different patterns were given by the cell in a different position to the observer or to the camera. To prove this statement and elucidate the real paths and direction of moving crystals, the spatial model of *Paramecium* cell was built (Pl. IV 22-25) by the authors. The schematic outline of paths covered by crystals was built in too. Visual observation of the same cell at various positions was the basis for shape of model and paths of moving crystals. The position of *Paramecium* was determined mainly by the position of cytostome. In the position "0" (Pl. IV 18) and its corresponding position of model (Pl. IV 22) the cytostome is situated on the ventral side of cell and was facing the observer. By turning of 90° to the right along longitudinal axis, the position "90" of the cell was obtained (Pl. IV 19, 23). In the position "0" and "90" the streaming of crystals was clockwise. By the next turn to the right of one more 90° the position "180" was obtained (Pl. IV 20, 24). In this position the cell was facing the observer by the aboral surface. By following turn to the right the "270" position was obtained (Pl. IV 21 and 25). In the positions "180" and "270" anticlockwise streamings of crystals were noticed. It should be pointed out that the proposed scheme of orientation of the *Paramecium* cell has an approxim-

ate character. Nevertheless the position of the cell could be sufficiently distinguished.

The only conclusion could be made up: there is one streaming of crystals within *Paramecium aurelia* with a constant direction of move.

Crystals move passively with different velocity in the same region of the cell (Pl. V 26-31).

There was no evidence that crystals situated more closely to the ecto-endoplasm interface move faster than those situated deeper in endoplasm (Pl. V 29). It was even noticed that two nearly identical in size crystals alongsited, one situated deeper moved very quickly while another one situated closer to ectoplasm was completely motionless at the same time (Pl. V 30).

Crystals can move parallelly within cytoplasmic streaming with related velocities (Pl. VI 32-35) or with various velocities (Pl. V 29, 30).

In various regions of the *Paramecium* cell different velocities of crystals were noticed. Usually at the anterior end of the body, where "track" along which crystals travel is narrowest the movement was quickest. But at the posterior end where the cross section is wide movement was relatively slower.

Roughly calculated velocities of crystal movement have been 1 μ /sec to 4.4 μ /sec at the anterior part of body. Mean velocity corresponds with a rough measurement of one cycle of moving crystal along cyclosis path.

After a long lasting antiserum treatment of *Paramecium* (180 min or more) the movement of crystals decreases parallel to increased gathering of crystals at the posterior part of a cell. Moreover some irregularity of cyclosis appear, usually at the anterior part of the body (Pl. VII 36-39). Those phenomena should be considered as pathological since they are usually followed by death of cell.

Concluding remarks

By means of long time exposure microphotography under polarizing microscope it was possible to examine the cycloctic movement of cytoplasm by use of crystals generally present within *P. aurelia* as markers. The movement of crystals could be considered as a determinant or function of the real movement of the cytoplasm because it was carefully examined by means of other light microscopy techniques, that crystals move simultaneously with other visible granules present in cytoplasm.

It follows from the data presented in this paper that:

1. The rate of cytoplasmic streaming within *P. aurelia* varied considerably with the functional behaviour of the cell.

In specimens swimming freely in a buffer solution, it was not possible to distinguish whether cyclosis occurs or not. After treatment by homologous antiserum, swimming of *Paramecium* become retarded and finally was stopped completely. At least 15 min before complete immobilization it was possible to notice with cer-

tainty that animals do not show a visible movement of cytoplasm. The start of visible movement of cytoplasm in regular course was nearly simultaneous with a complete immobilization.

2. Cyclósis never occupies the whole space of *P. aurelia* endoplasm. The streaming of cytoplasm flows over the determined regions of the cell, while the extensive spaces of endoplasm remains stationary.

The fact that crystals and granules flow along a definite course provides no evidence for existence of permanent tube guiding of the moving cytoplasm. Exposing of paramecia in excess of 180 min in homologous antiserum may show distinct changes of cyclósis pattern but tracks along which crystals travel-still occur. Therefore it is assumed, not a definite tube but only the differentiated region exist, where the cytoplasm moves in a cyclic course. This differentiated region can be displaced without changes in the direction of cytoplasmic streaming. These displacements appear as the first visual signs of pathological changes in the cell.

3. Judging by movement of separate crystals along full cyclic course, the cytoplasmic streaming shows a significant differences in velocity.

The rate of flow decreased in the posterior end of the cell, and increased in the anterior part, except the top area where the tracks of moving cytoplasm sharply turn off. The difference in velocity of cyclósis corresponds with cross section of the cytoplasmic stream. The fastest rate of movement was noticed in narrow area and slowest one in widest area.

4. No relationship was found between the maximum of velocity of cyclósis and the distance from the ectoplasmic gel.

The differentiated regions of moving cytoplasm is surrounded all over by gel. Therefore, the idea that in *Paramecium* the force maintaining cyclósis is only generated at the interface the ectoplasm and endoplasm, found no support.

The experiments presented in this paper an objection might be made whether immobilization evoked by specific antiserum may substantially alter the form and functional parameters of "normal" cyclósis in *P. aurelia*.

Detailed description of cyclósis in *P. aurelia* at "normal" conditions, as well as after treatment by homologous antiserum, never have been published. Beale 1954, 1964, Beale and Kacser 1957 only mentioned that the cytoplasm of immobilized paramecia by homologous antiserum showed circulating activity even after all ciliary movement has ceased. Nevertheless, the essential arguments may be put forward, that the immobilization evoked by homologous antiserum is much less harmful than immobilization action of izopropyl alcohol used by Hosoi 1937 and Koenuma 1963.

It has been shown, with the aid of fluorescent antibodies (Beale and Kacser 1957), and with ferritin-labelled antibodies (Mott 1965), that there is no penetration of antibodies into the cytoplasm. The absorbed globulin of the antibody was revealed as a thick fuzz on pellicle and cilia, over the entire surface of the *Paramecium*, with the exception of the gullet. Homologous antiserum caused immobilization

in consequence of sticking together of adjacent cilia covered by γ -globulin. Hence the immobilization reaction is one involving exclusively superficial action between antigen and antibody.

Our observations confirm the above mentioned views. Immobilized specimens did not show any significant changes of their body shape and in rate of contractile vacuoles during 120–180 min after homologous antiserum treatment.

For that reason, authors assume that the functional behavior of cyclosis in motionless paramecia immobilized by homologous antiserum is closely corresponding to cycloctic movement in stationary (“thigmotactic”) specimens living in culture medium or other “normal” conditions. This assumption requires of course, further experimental confirmation.

Summary

In *Paramecium aurelia*, immobilized by homologous antiserum, long time exposure microphotographs of crystals under polarizing microscopy, revealed that: 1. The rate of cyclosis varied considerably with functional behavior of the cell. 2. The streaming of cytoplasm flows over the determined regions of the *Paramecium* body, while the extensive spaces of the endoplasm remain stationary. 3. Along cyclic course, the cytoplasm moves with different velocity. 4. There is no relationship between velocity of crystals and their distance from the ectoplasmic gel.

In conclusion, no support is given to the view that in *Paramecium* the force maintaining cyclosis is generated at the ectoplasm-endoplasm interface only.

STRESZCZENIE

Osobniki *Paramecium aurelia* immobilizowane homologiczną surowicą zostały wykorzystane do ilościowej analizy prądu cytoplazmatycznego („cyklozy”) w obrębie komórki. Wskaźnikami ruchu były kryształy — integralne składniki cytoplazmy orzęsków. Rejestracja fotograficzna w mikroskopie polaryzacyjnym dróg zakreślanych przez kryształy przy wydłużonym czasie ekspozycji, pozwoliła stwierdzić że: 1. Szybkość ruchu okrężnego cytoplazmy zmienia się wyraźnie w zależności od behavioru funkcjonalnego komórki. 2. Strumień cytoplazmy płynie tylko przez określone regiony ciała *Paramecium*, gdy jednocześnie rozległe obszary cytoplazmy pozostają nieruchome. 3. Wzdłuż drogi obiegu cyklicznego, cytoplazma wykazuje różną szybkość. 4. Nie stwierdzono, aby istniała zależność między szybkością z jaką przesuwiają się kryształy unoszone przez prąd cytoplazmatyczny, a ich odległością od żelu ektoplazmatycznego.

Powszechnie przyjęty pogląd, że siły napędowe cyklozy powstają jedynie na styku ektoplazmatycznego żelu i endoplazmatycznego solu nie znalazły potwierdzenia w wynikach niniejszej pracy.

REFERENCES

- Beale G. H. 1954: The genetics of *Paramecium aurelia*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
Beale G. H. 1964: The genetic control of cell surfaces. In: Recent Progress in Surface Sci., Academic Press INC., New York, 2, 261–351.

- Beale G. H. and Kascser H. 1957: Studies on the antigens of *Paramecium aurelia* with the aid of fluorescent antibodies. J. gen. Microbiol., 17, 68-74.
- Dryl S. 1959: Antigenic transformation in *Paramecium aurelia* after homologous antiserum treatment during autogamy and conjugation. J. Protozool., 6 (suppl.) Abstr. 96.
- Hosoi T. 1937: Protoplasmic streaming in isolated pieces of *Paramecium*. J. Fac. Sci. Tokyo, Univ. 4, 299-305.
- Jahn T. L. and Bovee E. C. 1964: Protoplasmic movements and locomotion of protozoa. In: Physiology and Biochemistry of *Protozoa* (S. H. Hutner) Academic Press, New York, III, 62-129.
- Jahn T. L. and Bovee E. C. 1967: Motile behavior of protozoa. In: Research in Protozoology (T. T. Chen) Pergamon Press, New York, I, 41-200.
- Jahn T. L. and Bovee E. C. 1969: Protoplasmic movements within cells. Physiol. Rev., 49, 793-862.
- Kamiya N. and Kuroda K. 1956: Velocity distribution of the protoplasmic streaming in *Nitella* cells. Bot. Mag. Tokyo, 69, 544-554.
- Koenuma A. 1963: The velocity distribution of the cyclosis in *Paramecium caudatum*. Annotes zool. jap., 36, 66-71.
- Kuźnicki L. and Sikora J. 1966: Inversion of spiralling of *Paramecium aurelia* after homologous antiserum treatment. Acta Protozool., IV, 263-268.
- Mott M. R. 1965: Electron microscope studies on the immobilization antigens of *Paramecium aurelia*. J. gen. Microbiol., 41, 251-261.

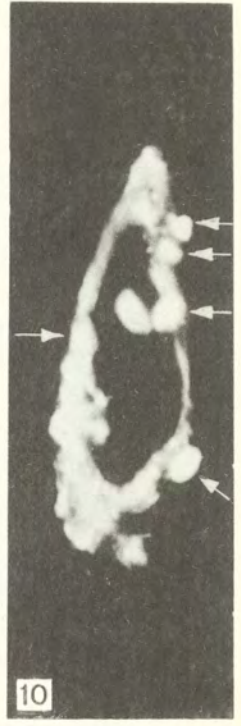
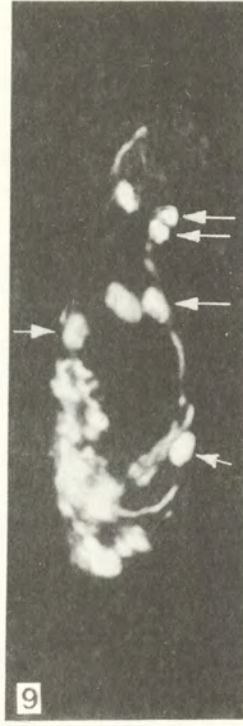
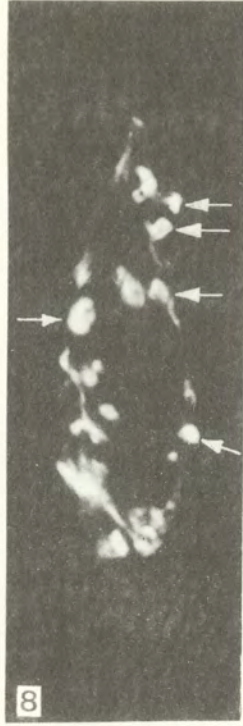
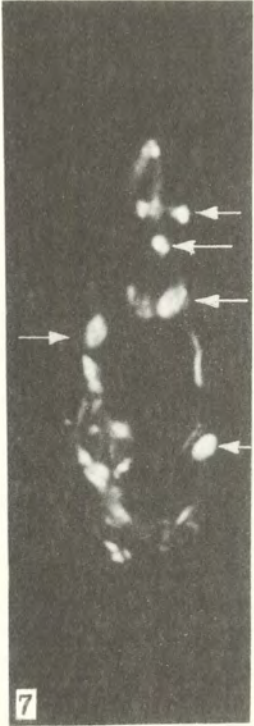
EXPLANATION OF PLATES I-VII

- 1: Outline of immobilized *Paramecium aurelia*, 60 min after treatment by antiserum under homogeneous background obtained by interference-polarizing microscope, 2 sec exposure time (Magnification 400 ×)
- 2-6: The same specimen under fully polarized light at: 5, 10, 15, 30 and 60 sec exposure time according to numbers of photographs
- 7-10: Positions of motionless crystals (indicated by arrows) and traces of moving crystals within *P. aurelia* cell. Exposure time: 5, 10, 15 and 30 sec taken at 10 sec intervals between successive pictures, (200 ×)
- 11: Shape of area which was occupied by moving crystals within *P. aurelia* cell. Exposure time 2 min (400 ×)
- 12-14: Outline of *P. aurelia* under partially polarized light (200 ×), (12 — 3 sec exposure time) and traces of small number of crystals under fully polarized light were shown (13 — 30 sec and 14 — 60 sec exposure time)
- 15-17: Outline of *P. aurelia* under partially polarized light (200 ×), (15 — 3 sec exposure time) and traces of large number of crystals were shown (16 — 30 sec and 17 — 60 sec exposure time)
- 18-25: Different views of cyclosis pattern within *P. aurelia* in relation to specimens position to observer. The direction of cytoplasmic streaming in immobilized paramecia and model was indicated by arrows: 18-21: photomicrographs (400 ×)
- 22-25: spatial model *P. aurelia* with cytoplasmic streaming within
- 26-31: Examples of single crystal paths of movement showing different velocity (400 ×): 26-4.4 μ/sec, 5 sec exp. time, 27-1.2 μ/sec, 10 sec exp. time, 28-3.1 μ/sec, 10 sec exp. time, 29-1.0 and 1.5 μ/sec, 8 sec exp. time, 30-0 and 2.6 μ/sec, 12 sec exp. time, 31-2.2 μ/sec, 12 sec exp. time
- 32-35: Examples of traces of the paths of two or more crystals (arrows) moving simultaneously at the different depth from the ectoplasm within the cytoplasm streaming. Exposure times were from 5 to 15 sec, (400 ×)
- 36-39: Irregularity of the patterns of cyclosis within *P. aurelia* cell after 3 hr exposure to the antiserum, comprising of small circle paths at the anterior and gathering of motionless crystals at the posterior part of the cell



L. Kuźnicki et J. Sikora

auctores phot.



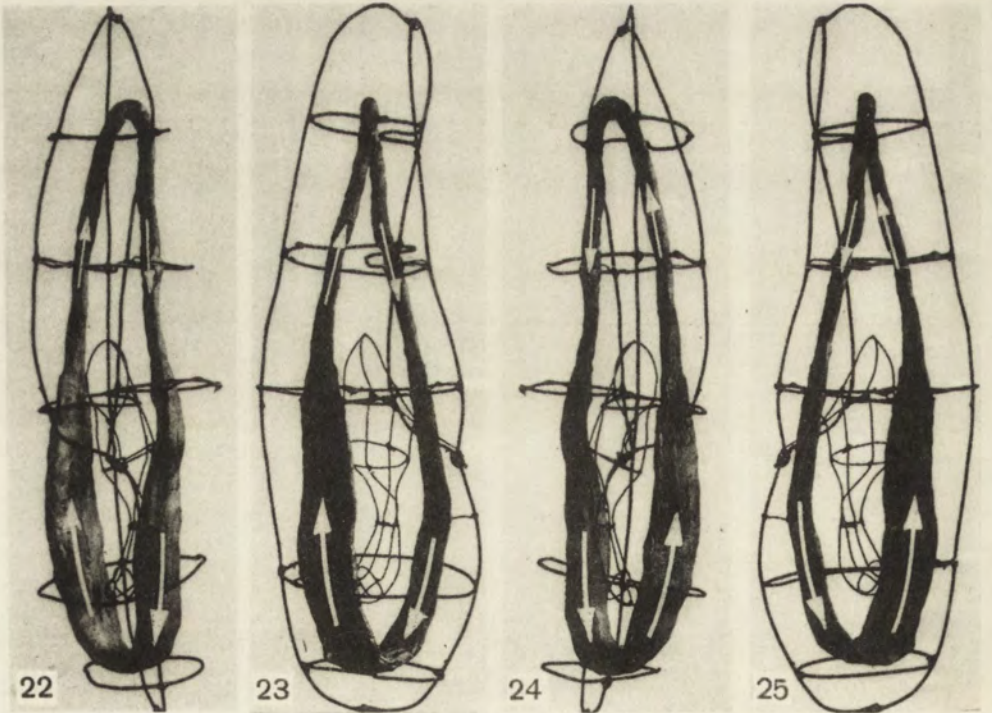
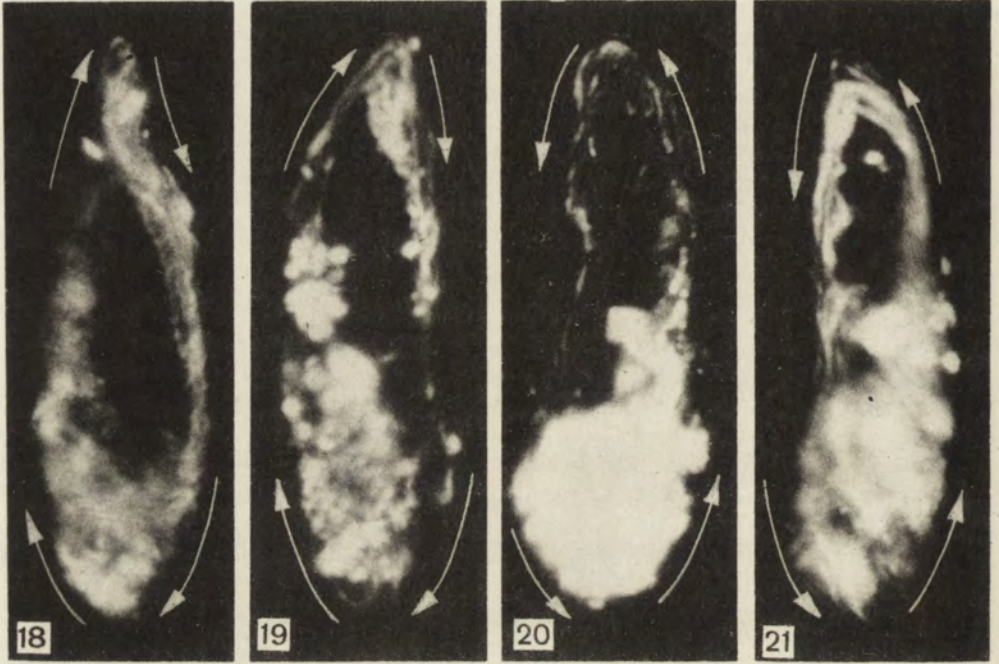
L. Kuźnicki et J. Sikora

auctores phot.



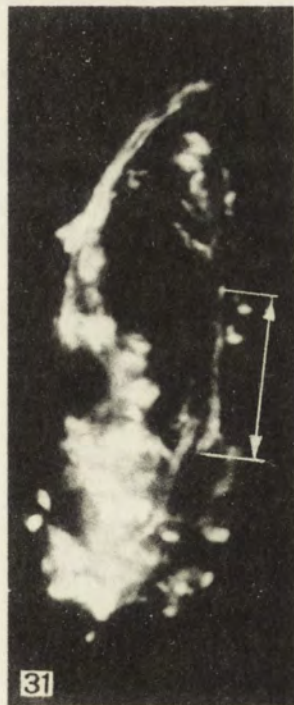
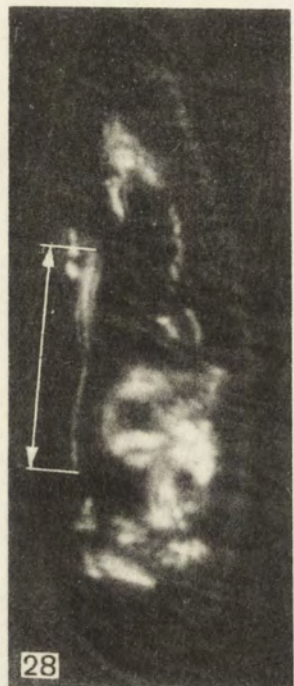
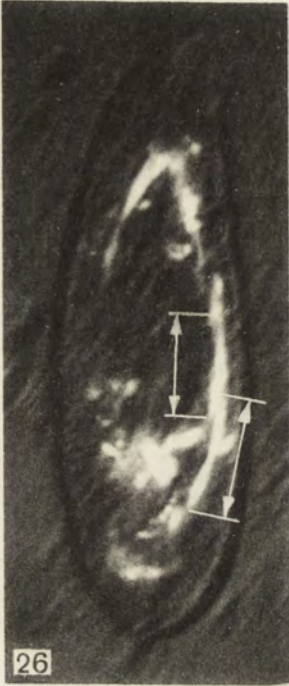
L. Kuźnicki et J. Sikora

auctores phot.



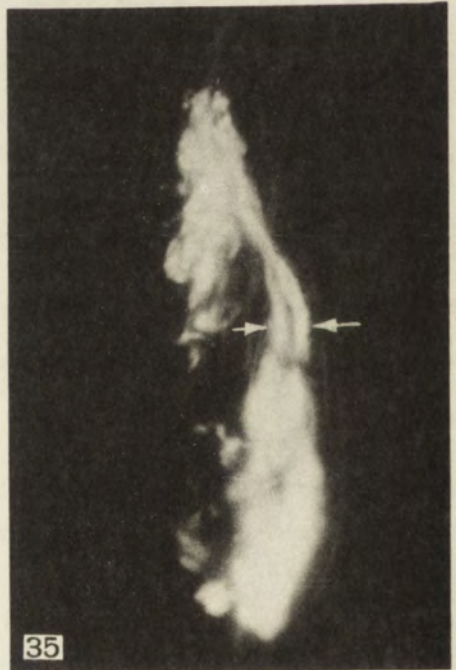
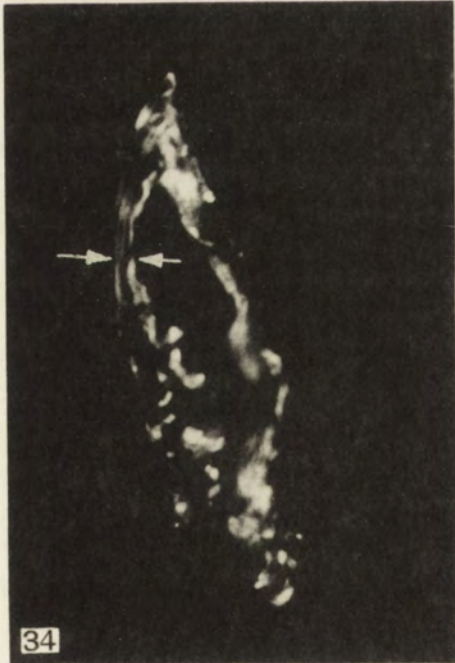
L. Kuźnicki et J. Sikora

auctores phot.



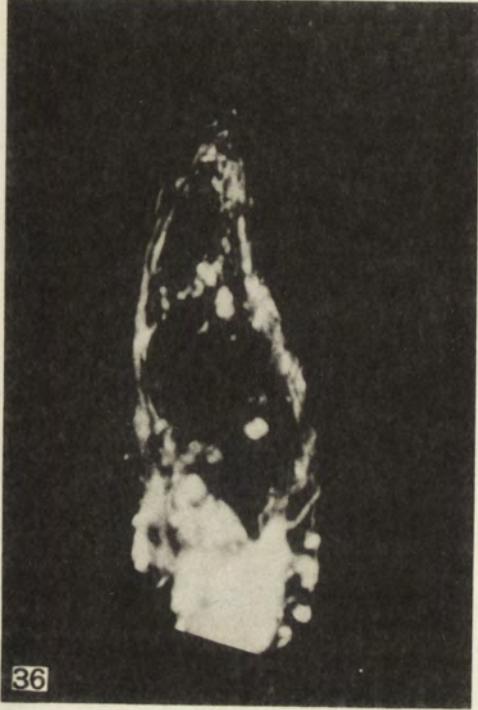
L. Kuźnicki et J. Sikora

auctores phot.



L. Kuźnicki et J. Sikora

auctores phot.



L. Kuźnicki et J. Sikora

auctores phot.

Fasciculi praeparati:

Z. Raabe: The morphogenetic principles of Sewertzoff, their extension and application to *Protozoa* [O zasadach morfogenetycznych Sewertzoffa, ich rozszerzeniu i zastosowaniu do *Protozoa* — M. Wolska: Studies on the family *Blepharocorythidae* Hsiung. V. A review of genera and descriptions of species [Badania nad rodziną *Blepharocorythidae* Hsiung. V. Przegląd rodzajów i opisy gatunków] — P. R. Earl: *Hegneriella dobelli* gen. n., sp. n., (*Opalinidae*) from *Bufo valliceps* and some remarks on the systematic position of the *Opalinidae* [*Hegneriella dobelli* gen. n., sp. n., (*Opalinidae*) du *Bufo valliceps* et quelques remarques sur la position systématique des *Opalinidae* — M. Sołtyńska: Morphology and fine structure of *Chilodonella cucullulus* (O. F. M.). Cortex and cytopharyngeal apparatus [Morfologia i ultrastruktura *Chilodonella cucullulus* (O. F. M.). Korteks i aparat cytofaryngealny] — J. Kaczanowska: Studies on topography of the cortical organelles of *Chilodonella cucullulus* (O. F. M.). IV. Morphogenetic movements, regional multiplication of kinetosomes and cytokinesis in normal dividers, and after phenethyl alcohol treatment [Studia nad topografią organelli kortykalnych *Chilodonella cucullulus* (O. F. M.). IV. Ruchy morfogenetyczne, lokalne namnażanie się kinetosomów i cytokineza u podziałowców normalnych i po działaniu alkoholu fenetylowego] — A. Kaczanowski: *Opalina ranarum* Purkinje et Valentin: meiosis and dimorphism of nuclear behavior during meiosis [*Opalina ranarum* Purkinje et Valentin: meioza i dymorfizm zachowania się jąder w czasie meiozy] — J. D. Lutton and B. W. McCashland: The effect of isoriboflavin and cyanide on growth and respiration in *Tetrahymena pyriformis* [L'effect de l'isoriboflavine et de la cyanide sur l'accroissement et la respiration dans *Tetrahymena pyriformis*] — S. L. Kazubski: Some aspects of applying the photo method for investigating the morphology of ciliates [Niektóre aspekty zastosowania metody fotograficznej do badań nad morfologią orzęsków]

SUBSCRIPTION

price is \$ 12 for one volume consisting of four parts appearing quarterly

Place your order with your bookseller or directly with:

Export and Import Enterprise „RUCH”

Warszawa, Wronia 23, Poland

Cable: Exprimruch, Warszawa

Bank Account: Bank Handlowy S.A. Warszawa

In the East-European countries the subscription orders are to be placed with the local agencies for press distribution.

Państwowe Wydawnictwo Naukowe
(PWN — Polish Scientific Publishers)
Warszawa

Fasciculi:

27. H. Girgla: Cortical anatomy and morphogenesis in *Homalozoon vermiculare* (Stokes) [Anatomie corticale et morphogénèse chez *Homalozoon vermiculare* (Stokes)] 355
28. A. Czapik: Les observations sur *Platyophrya spumacola* Kahl [Obserwacje nad *Platyophrya spumacola* Kahl] 363
29. K. Golińska: Comparative studies on the morphology of *Dileptus anatinus* sp. n. (*Holotricha, Gymnostomata*) [Porównawcze badania nad morfologią *Dileptus anatinus* sp. n. (*Holotricha, Gymnostomata*)] 367
30. Ф. Г. Агамалиев: Новые данные по фауне псаммофильных инфузории западного побережья Каспийского моря [Complements to the fauna of psammophilic ciliates of the Western coast of the Caspian Sea] 379
31. J. Moraczewski: La composition chimique de la coque d'*Arcella discoïdes* Ehrbg. [Skład chemiczny skorupki *Arcella discoïdes* Ehrbg.] 407
32. J. Moraczewski: Structure et formation de la coque d'*Arcella* [Struktura i wytwarzanie skorupki *Arcella*] 423
33. L. Kuźnicki and J. Sikora: Cytoplasmic streaming within *Paramecium aurelia*. I. Movements of crystals after immobilization by antiserum [Prąd cytoplazmatyczny u *Paramecium aurelia*. I. Ruchy kryształów po immobilizacji surowicą odpornościową] . . . 439

With this issue the Volume VIII is complete