

D. M. 69

# REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

BIOL. INV. 93

## — SÉRIE DE ZOOLOGIE —

### COMITÉ DE RÉDACTION

Rédacteur en chef :

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

Rédacteur en chef adjoint :

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

Membres :

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

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

TOME 16

N° 4



### SOMMAIRE

Page

MIHAI BĂCESCU et TRAIAN ORGHIDAN, <i>Antromysis cubanica</i> n. sp. et <i>Spelaeomysis nunezi</i> n. sp., mysis cavernicoles nouvelles de Cuba . . . . .	225
VALERIA MACK-FIRA, Deux Turbellariés nouveaux de la Mer Noire . . . . .	233
PETRU BĂNĂRESCU, A review of the species of the subgenus <i>Onychostoma</i> s. str. with description of a new species (Pisces, Cyprinidae) . . . . .	241
EUGEN A. PORA et ANA MUNTA, L'influence du rapport K/Ca sur l'absorption intestinale du Potassium et du Calcium . .	249
C. SCHNELLER-PAVELESCU, ELENA CHERA and P. JITARIU, The evolutive interdependence of medullary blood cell series and its modifications due to the interaction of the biofield with the artificial electromagnetic field . . . . .	261
P. JITARIU, C. SCHNELLER-PAVELESCU and ELENA CHERA, Modifications of the peripheral leukogram by the interaction of the biofield and artificial electromagnetic field . . . . .	273
ELENA HEFCO, CSÖNGE BRANDSCH, GABRIELA LINK and P. JITARIU, Some aspects of tetraxin action on protein and nucleic acid metabolism in rats . . . . .	277
V. HEFCO and P. JITARIU, Glycemia level after hypothalamic radiofrequency current lesions . . . . .	287
P. RAICU, DOINA DUMA, MARIA KIRILLOVA and AL. TUTA, Chromosomal polymorphism in the water vole ( <i>Arvicola terrestris</i> L.) . . . . .	293

62. 1971. 1010  
110.0101  
MYSIDAE

ANTROMYSIS CUBANICA N.SP. ET SPELAEOOMYSIS  
NUNIEZI N.SP., MYSIS CAVERNICOLES NOUVELLES  
DE CUBA

PAR

MIHAI BĂCESCU et TRAIAN ORGHIDAN

The authors are describing two new, troglobian, blind, Cubanese species from the Juanelo Piedra cave, namely : *Antromysis cubanica* n. sp. and *Spelaeomysis nuniezi* n. sp. They suggest the delimitation within the *Antromysis* genus, of a special subgenus, the *Anophelina* one, to include also the *Antromysis anophelinae* W. Tatt. and then, they give some zoogeographical explanations as well.

On connaît à l'heure actuelle une dizaine d'espèces de Mysidacés cavernicoles, dont une moitié dans des milieux caractéristiques pour les troglobies (ou assimilés) d'Amérique centrale : trois, des grottes mexicaines : *Antromysis cenotensis* Creosor, *Spelaeomysis quinterensis* Villalobos 1951 et *Stygiomysis holthuisi* Gordon 1958 ; une de Costa Rica (*Antromysis anophelinae* W. Tattersal 1951) et la dernière, *Heteromysoides spongicola* Bacescu 1969, de Cuba.

Dans un pays aussi riche en grottes que Cuba, on ne connaît qu'une seule citation de mysis troglobie : Bolivar 1934 ; il s'agit là d'une mention générique et encore avec signe d'interrogation (*Antromysis?*), pour la grotte Quintanal.

Un des auteurs (Tr. Orghidan), accompagné du Dr Chr. Juberthie, Nicasio Viña et Carlos Fundora, a eu la chance de récolter dans un lac profond à eau oligosauvâtre de la grotte Juanello Piedra (Sud de la Havane, Cuba) à 2 km N de la mer des Caraïbes — parmi d'autres crustacés troglobies — deux espèces nouvelles de Mysidacés, que voici :

1. *Antromysis cubanica* n.sp.

(fig. 1)

Description (♀). Mysidacé de petite taille, trapu, à céphalothorax bien large et légèrement aplati dans la région dorso-ventrale; téguments particulièrement fins, transparents, non calcifiés.

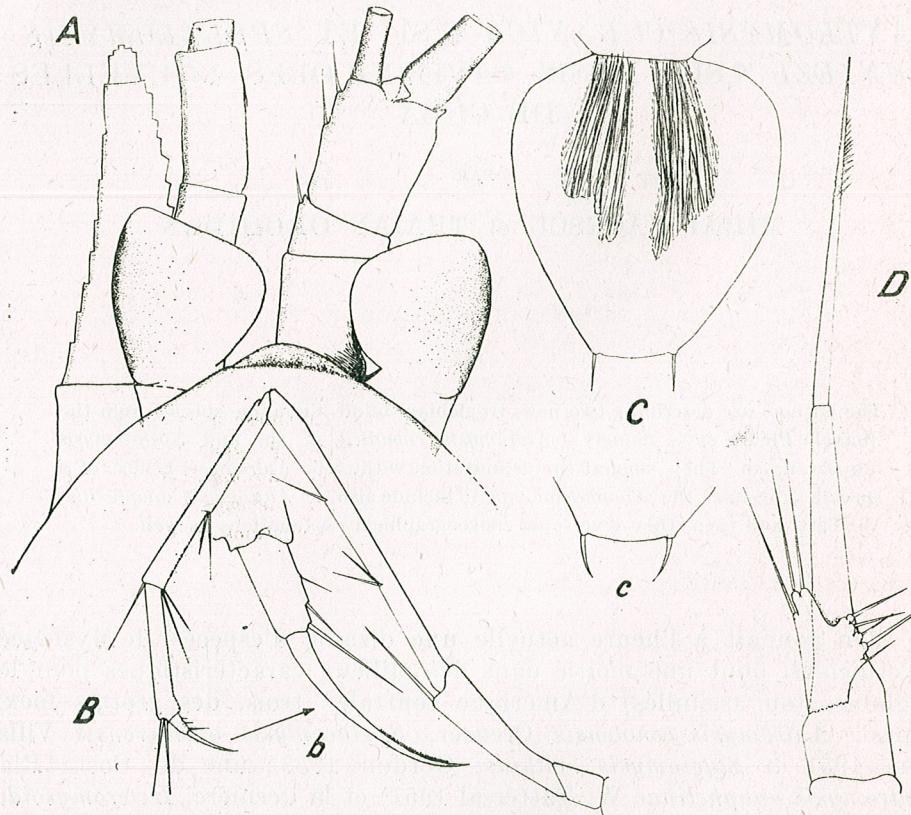


Fig. 1. — *Antromysis cubanica* n.sp. ♂ A, partie antérieure du céphalon ; B, péréiopode de la III<sup>ème</sup> paire ; b, sa griffe, grossie ; C, telson ; c, bout du telson d'un autre exemplaire ; D, pléopode ♀ de la II<sup>ème</sup> paire (orig.).

Bord frontal de la carapace arrondi; sulcus cervicalis très accusé, marquant le contour ovale d'un énorme estomac. Bord caudal largement excavé. Les yeux sont représentés par deux plaques bien séparées et totalement dépourvues de pigment. Elles sont ± triangulaires vues d'en haut (parce que leurs bords externes sont pliés latéralement) et plutôt circulaires, si on les regarde de profil.

Les bases des antennules, de l'antenne et le bout de l'écaillle de l'A 2, sont presque de la même longueur (fig. 1 A).

Labrum arrondi frontalement; les autres pièces buccales ne diffèrent pas trop de celles d'*A. cenotensis*. Entre les coxes du 2<sup>ème</sup> thoracopode (maxillipède II), une espèce de hyposphaenium globuleux lédunculé; les autres sternites sont lisses, sans apophyses.

Les péréiopodes grèles (fig. 1 B) à fortes griffes dactylaires (b); les exopodites 8 — articulés. Les coxes des péréiopodes sont bien éloignées, de façon qu'elles laissent à découvert une large zone de la face sternale du thorax.

Deux paires d'oostégites. Pléopodes réduits à de très courtes plaques bilobées (exopodites), n'atteignant pas le milieu des pléonites suivants.

Telson court, surplombant à peine les statocystes, vaguement hémisphérique (fig. 1 C), dépourvu de toute épine latérale et de lames distales. Les seuls phanères, les fines épinettes latérodistales, sont, le plus souvent, droites ou courbes (fig. 1 c).

L'endopodite de l'uropode plus court que l'exopodite et sans aucune épine.

— Le seul ♂ que nous possédions, un peu plus petit que les ♀ (3 mm), a les antennules un peu plus fortes, leurs bouts dépassant de peu l'apex de l'écaillle de l'A 2; A 2 est dépourvu d'un lobe mâle. Elle possède en échange, à la partie distale, inféro-intérieure, de son article terminal, une houppette de longues soies sensitives. Les pénis très courts.

Les pléopodes sont pareils à ceux de la ♀ — de courts exopodites uni-articulés — sauf celui de la IV<sup>ème</sup> paire dimorphique (fig. 1 D) avec l'endopodite clairement uni-articulé et l'exopodite bi-articulé, l'article distal finissant par une forte soie à lame; le tout ne dépasse pas le milieu du dernier pléonite. Ce pléopode rappelle surtout la forme du pléopode correspondant d'*Idiomysis inermis*. Taille : ♂ = 3 mm ; ♀, = 3,5 à 4 mm. Coloration : blanche transparente, contrastant nettement avec la grande tache brune de l'estomac.

Matériel : 1 ♂, 3 ♀ ♀ ovigères et 3 ♀ ♀ juv.

Type de l'espèce (holotype ♂ et allotype ♀) : collection des Crustacés du Musée « Gr. Antipa » N° 164 et 164 a; 5 paratypes, ibid., N° 165.

*Observations.* L'extrême transparence des téguments de l'*A. cubanica*, les statolithes — bien trop forts pour une espèce troglobie — ainsi que la finesse des péréiopodes nous laissent penser qu'elle mène une vie bathy-pélagique et a un régime insectivore. En effet 95% des individus examinés ont les énormes estomacs gonflés de restes chitineux de petits Arthropodes, provenant surtout de Microlépidoptères. En examinant le détritus obtenu au filet en promenant celui-ci tout près du fond, nous avons vu de très rares écaillles de Microlépidoptères, tandis que l'estomac d'*A. cubanica* en contient en grande quantité. Nous considérons, par conséquent, que l'animal préfère se nourrir avec les Microlépidoptères qui tombent sur la surface de l'eau; ce fait prête à l'estomac d'*A. cubanica* une coloration brun violacé, très voyante, contrastant avec la transparence du reste du corps; parfois le tube digestif tout entier a la même couleur et pour cause.

Ceci indique un mode de vie ravisseur chez *A. cubanica* et non limivore, comme c'est le cas pour l'espèce suivante.

La prolificité de l'espèce est bien faible, vu qu'elle ne porte pas plus de quatre (et parfois même trois) œufs ou embryons. Ceux-ci sont rangés dans un plan horizontal, deux en avant et deux dans la partie postérieure du marsupium, juste à la courbure de l'abdomen.

Le genre *Antromysis* est endémique pour l'Amérique tropicale atlantique. Jusqu'à présent on n'en connaît que deux espèces, l'*A. ceno-*  
*tensis* Creaser et l'*A. anophelinae* Tatt.

L'espèce que nous venons de décrire, *A. cubanica*, est étroitement apparentée à la première de ces espèces. Elle s'en distingue pourtant facilement par l'absence des lames sur l'apex, légèrement courbé, du telson et par l'endopodite uni-articulé du IV<sup>ème</sup> pléopode ♂. Voici d'ailleurs une clé pour l'identification des espèces d'*Antromysis*:

- 1 (2) Les plaques oculaires soudées et pigmentées tout autour ; carpo-propodus des péréiopodes, 3 articulés... *Antromysis* (sous-gen. *Anophelina*) *anophelinae* W. Tattersall. (Costa-Rica, coécotent dans les trous des crabes).
- 2 (1) Les plaques oculaires largement séparées, sans trace de pigment ; carpo-propodus bi-articulé... *Antromysis* (S.g. *Antromysis*) . . . . .
- 3 (4) Deux minuscules lames sur le bord, tronqué, du telson ; l'endopodite du IV<sup>ème</sup> pléopode ♂, bi-articulé . . . . . *A. coenotensis* (Grotte du Mexique).
- 4 (3) Sans lames sur le bord, légèrement convexe, du telson ; l'endopodite du IV<sup>ème</sup> pléopode ♂ uni-articulé . . . . . *A. cubanica* n. sp. (grotte de Cuba).

De par le fait qu'*A. anophelinae* vit moins enfoncee dans l'obscurité des grottes que les deux autres espèces, elle a les yeux pourvus de pigments et en partie fonctionnels. La présence d'une seule plaque oculaire, le carpopropodus des péréiopodes tri-articulés et la morphologie à part du IV<sup>ème</sup> pléopode ♂, justifient, à notre avis, la séparation d'un sous-genre autonome, *Anophelina*, dans le cadre du genre *Antromysis*.

Etant donné le cantonnement des trois espèces d'*Antromysis* autour de la mer des Caraïbes, on doit s'attendre à trouver ces espèces, ou de nouveaux représentants du genre, dans d'autres grottes des Antilles également.

## 2. *Spelaeomysis nuniezi*<sup>1)</sup> n.sp.

(fig. 2)

Description ♂, ♀. Corps plutôt isopodoïde : céphalothorax trapu et l'abdomen large et aplati du côté dorso-ventral. L'absence d'un *sulcus cervicalis*, l'abdomen au moins deux fois plus large que haut et les plis laté-

<sup>1)</sup> Dédicé au distingué explorateur des grottes de Cuba, A. Núñez-Jiménez, président de l'Académie cubaine.

raux de la carapace lisses, exceptionnellement étendus du côté ventral, prêtent à l'animal un habitus particulier.

Le bord frontal de la carapace arrondi et étroitement serré contre les plaques oculaires ; le bord caudal échancré laissant à découvert les deux derniers thoracomères. Cet espace est protégé par un large écusson

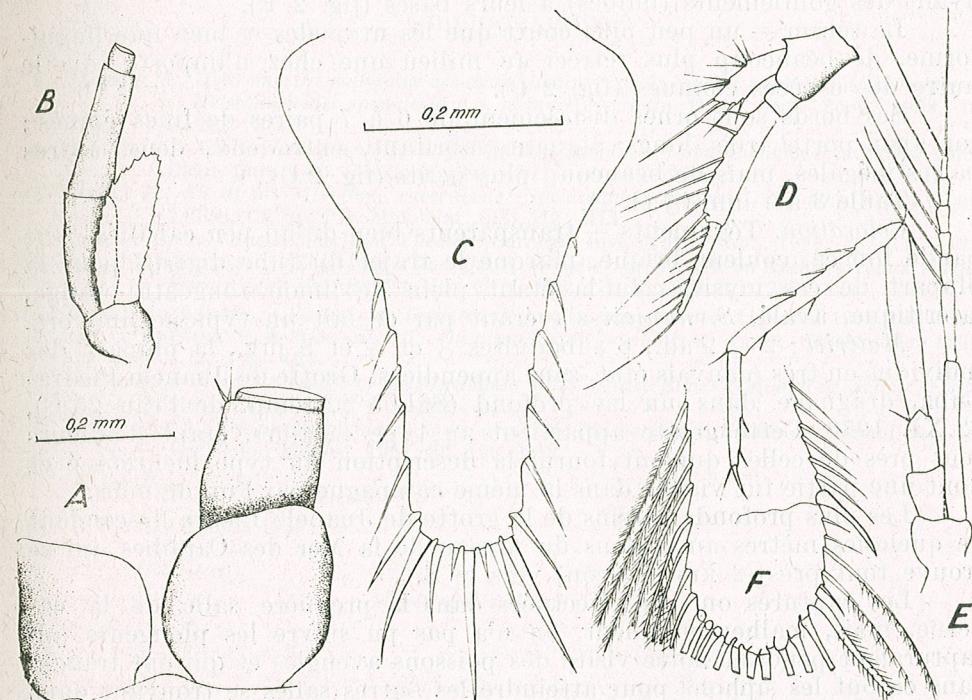


Fig. 2. — *Spelaeomysis nuniezi* n. sp. ♀ A, les yeux et l'article proximal de l'A 1; B, antenne; C, telson; D, II<sup>ème</sup> pléopode; E, IV<sup>ème</sup> péréiopode; F, partie distale de l'exopodite de l'uropode (orig.).

du pénultième périonite, surplombant l'échancrure postéro-dorsale de la carapace — trait caractéristique d'ailleurs pour le genre *Spelaeomysis*.

Les antennes ont la forme et les rapports typiques pour la *Sp. quinterensis*, si minutieusement décrite et figurée par Villalobus [9]; mais les flagelles sont absents ; l'écaillle A 2, ovale (fig. 2 B).

Les yeux sont des plaques plutôt quadrangulaires qu'arrondies, courbées de deux côtés contre la base de l'antennule ; par ce fait, vus frontalement, ils ressemblent à deux dents incisives d'homme. Ces yeux sont totalement dépourvus de pigment et les restes des omatides ne font pas du tout saillie même aux bords des plaques qui sont lisses. (fig. 2 A).

L'abdomen fortement aplati, rappelle l'abdomen d'un *Asellota*.

Labrum arrondi ; le premier maxillipède avec un dactylopodite foliacé, à peine plus étroit que le propodus. Les péréiopodes comme dans la fig. 2 E, donc à une phanerotaxie de beaucoup plus simple que chez *S. longipes* ou *S. quinterensis*. Les exopodites sont 5- ou 6-articulés.

Pléopodes caractéristiques au genre (fig. 2 D).

L'exopodite des uropodes, plus long et large que l'endopodite sans statocyste, a un seul piquant sur le bord extérieur, marquant une trace de suture à peine décelable. Le bord proximal et extérieur de l'exopodite a des soies dures, non plumées, tandis que le bord distal (par rapport au piquant) est garni de longues soies doublement plumées, les distales ayant des gonflements (bulbes) à leurs bases (fig. 2 F).

Le telson — un peu plus court que les uropodes — bien que lingui-forme, de beaucoup plus rétréci au milieu que chez n'importe quelle autre des espèces connues (fig. 2 C).

Ses bords sont ornés distalement de 6 à 7 paires de fines épines ; son apex porte trois longs piquants abritant, entre eux, deux autres paires inégales, mais de beaucoup plus petits (fig. 2 C).

Taille 3 à 4 mm (♂ et ♀).

*Coloration.* Téguments ± transparents bien qu'un peu calcifiés. Une bande foncée, couleur brique, marque le trajet du tube digestif pour la plupart de ces mysid, celui-là étant plein de limon rougeâtre-orange, latéritique, avalé, *S. nuniezi* s'avérant par ce fait un typique limivore.

*Matériel :* 2 ♀ ♀ ad., 6 subadultes ♂ et ♀ et 8 juv., la plupart des individus en très mauvais état, sans appendices. Grotte de Juanelo Piedra-Cuba, draguage dans un lac profond (Sal. 5%, temp. de l'eau 25°C), 22.XI. 1970. Cette grotte appartient au type « aston », étant d'ailleurs tout près de celles qui ont fourni la description du type mentionné et dont une partie fut visitée dans la même campagne par l'un de nous.

Les plus profonds bassins de la grotte de Juanelo Piedra descendant de quelques mètres au-dessous du niveau de la Mer des Caraïbes qui se trouve tout près (2 km environ) vers le S.

Les captures ont été effectuées dans la première salle de la grotte, mais, malheureusement, on n'a pas pu suivre les plongeurs qui capturaient pendant notre visite des poissons aveugles et qui ont franchi dans ce but les siphons pour atteindre les autres salles se trouvant dans une totale obscurité<sup>2)</sup>.

Outre les deux espèces nouvelles de Mysides que nous avons capturées, la même pêche nous a rapporté plusieurs dizaines d'un Amphipode totalement aveugles, quelques dizaines de *Troglocirolana* sp., *Troglocubanus* sp., Ostracodes, Copépodes, Hydracariens, Gastéropodes. Les plongeurs ont capturé plus d'une vingtaine de *Lucifuga subterraneus* et *Stygicola dentatus*.

Holotype (♀) N° 166 de la Collection du Musée « Gr. Antipa » 14 paratypes (des juv. subadultes), ibid., N° 167.

*Observations.* *Spelaeomysis nuniezi* a toutes les caractéristiques du genre, y compris l'écusson dorsal. La morphologie des appendices diffère un peu par rapport aux trois autres espèces connues et nous y reviendrons plus tard. Pour le moment, la forme et la phanérotaxie propre du telson suffisent pour distinguer l'espèce cubaine. *S. nuniezi* diffère encore de *S. quinterensis*, l'espèce la plus voisine, trouvée dans une grotte de Mexique, par sa petite taille (3 à 4 mm par rapport à 8—9) et par la forme foliacée du dactylopode du II<sup>ème</sup> maxillipède.

<sup>2)</sup> Voir la magnifique description de cette grotte dans : Antonio Núñez-Jiménez [6].

Du fait que *Spelaeomysis* a des représentants dans les grottes de l'Inde, de l'Italie, du Mexique et de Cuba, on peut déduire l'origine du genre dans l'ancienne mer Tethys, tandis que *Antromysis* paraît endémique surtout de la Mer des Caraïbes.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. BĂCESCU M., *Heteromysini nouveaux des eaux cubaines : trois espèces nouvelles de Heteromysis et Heteromysoïdes spongicola n.g. n. sp.* Rev. roum. Biol., Série Zool., 1968, **13**, 4, 221—237.
2. BOLIVAR y P. C., *Exploracion biologica de algunas cavernas de Cuba.* Ciencia. Rev. Hisp. Amer. Cient. pura y ap. (Mexico), 1943, **4**, 11—12, 301—304.
3. CAROLI E., *Su di un Misidaceo cavernicolo (Spelaeomysis bottazzii n.g.n.sp.).* Rend Acad. Lincei, Cl. Sc. Fis. Mat. Nat., **33**, 512—513.
4. CREASER E. P., *Crustaceans from Yucatan.* Carnegie Inst. Wash. Publ., 1936, **457**, 117—123.
5. GORDON ISABELLA, *On a Stygiomysis from the West Indies, with a note on Spelaeogriphus (Crust. Peracarida).* Bul. British Mus. (Nat. Hist.) Zool., 1960, **6**, 5, 285—324.
6. NÚÑEZ JIMÉNEZ A., *Clasificación Genética de Las Cuevas de Cuba.* Havana, 1967, 122—131.
7. PILLAI KRISHNA P. & MARIAMMA T., *On a new lepidomysid from India Crustacea.* 1964, **7**, 2, 113—124.
8. TATTERSALL W. M., *A review of the Mysidacea of the United States National Museum.* U.S.N. Mus. Bull., 1951, **201**, 229—234.
9. VILLALOBOS A., *Un nuevo misidáceo de las grutas de Quintero en el Estado de Tamaulipas.* An. Inst. Biol. Mexico, 1951, **22**, 190—218.

Reçu le 2 mars 1971

Musée d'Histoire Naturelle

« Gr. Antipa »  
et

Institut de Spéléologie « Emile Racovitză »

DEUX TURBELLARIÉS NOUVEAUX DE LA  
MER NOIRE

PAR

VALERIA MACK-FIRA

In the paper it is given the preliminary description of two new Turbellaria from the silty sand of the Romanian littoral of the Black Sea, namely : *Macrostomum peteraxi* n. sp. and *Torkarlingia euxinica* n. gen. n. sp. The first one is closely related with *Macrostomum rubrocinctum* Ax 1951 living in the Baltic (Kiel Bay and Swedish coast) and in the basin of the Black Sea (Mangalia Lake). The new genus *Torkarlingia* is very close to the Atlantic-Mediterranean genus *Nannorhynchides* Karling 1964.

L'étude des Turbellariés du littoral rocheux de la côte roumaine de la Mer Noire nous a permis d'établir la présence dans le bassin pontique de nombreuses espèces rares, peu ou pas connues, dont il sera question dans un futur travail.

Nous donnons ici la description préliminaire des deux Turbellariés nouveaux, collectés dans le sable vaseux de la région du phytal, 0,5—3 m de profondeur, à savoir : *Macrostomum peteraxi* n. sp. (Archoophora Macrostomida) et *Torkarlingia euxinica* n.g.n.sp. (Rhabdocoela Kalyptorhynchia).

***Macrostomum peteraxi* n.sp.**

(fig. 1—3)

*Stations.* Agigea, 2,5 m de profondeur, 7.IX.1965, 2 ex. ; 1 m de profondeur, 18.VIII. 1970, 2 ex.

Costinești, 0,5 m de profondeur : 10.IX.1965, 2 ex ; 21.IX.1966, 1 ex.

Vama Veche, 1 m de profondeur, 19.X.1968, 1 ex.

*Matériel.* Observations sur le vivant et à la glycérine, 3 exemplaires; 4 échantillons fixés au sublimé acétique.

Longueur des animaux vivants 1,5 mm.

Le corps grêle, incolore et transparent, à bords presque parallèles et à l'extrémité frontale arrondie, pourvue de poils tactiles, 8  $\mu$  de longueur, se dilate légèrement au niveau du pharynx pour se rétrécir de nouveau immédiatement en arrière de celui-ci. Postérieurement se détache une queue palettiforme, à bord trilobé, garni de longs poils tactiles, mesurant 30—40  $\mu$  sur le vivant.

L'épithélium haut de 5  $\mu$ , ayant un revêtement ciliaire de 4  $\mu$ , porte des rhabdites, 8—11  $\mu$  de longueur, isolées ou groupées par paquets.

Les glandes à rhammides, fortement développées, sont situées en arrière du pharynx. Elles vont postérieurement jusqu'à la limite antérieure du deuxième tiers du corps. Les rangées de leur sécrétion, à aspect de batonnets presque de mêmes dimensions que les rhabdites dermales, se dirigent en avant, et, en perçant le cerveau, débouchent à l'extrémité frontale de l'animal.

Les deux yeux noirs reniformes, placés contre le cerveau, sont très rapprochés entre eux. La distance qui les sépare du bord frontal du corps représente la septième partie de la longueur totale de l'animal.

L'orifice buccal, ayant l'aspect d'une fente allongée en direction antéro-postérieure, dépasse rostrolement les yeux. Le pharynx puissant et long conduit dans un intestin à lumière ciliée, dans laquelle nous avons constaté toujours des Diatomés. À la limite entre le pharynx et l'intestin on remarque deux couronnes de glandes œsophagiennes, fortement réfringentes sur le vivant.

Les testicules se trouvent placés dans la moitié antérieure de l'animal. L'appareil copulateur mâle est situé à la partie basale de la queue où l'on trouve également l'orifice génital mâle. Un ductus intervesicularis fait la jonction entre les deux vésicules, séminale et prostatique. Les paquets allongés de sécrétion granulaire occupent la portion proximale du stylet copulateur. Celui-ci est un tube cuticulaire, 27—30  $\mu$  de longueur, élargi en entonnoir dans sa moitié supérieure. Distalement il se rétrécit, se courbe sous un angle droit et se termine en pointe tronquée. L'ouverture proximale du stylet copulateur mesure 12,5  $\mu$  de diamètre.

Les ovaires s'étendent latéralement dans le tiers moyen de l'animal. Dans les oviductes nous avons trouvé 1 à 3 œufs. Le pore génital femelle est situé à la limite postérieure du deuxième tiers du corps, à 200  $\mu$  distance de l'orifice génital mâle.

*Discussion.* L'espèce dont nous donnons ici la description préliminaire est très proche de *Macrostomum rubrocinctum*, décrite par P. Ax [1] du Golfe de Kiel (Baltique), retrouvée deux ans après par E. Westblad [7] sur la côte suédoise et récemment par nous (fig. 4—5) dans le lac Mangalia (côte roumaine de la Mer Noire), à 12 % salinité [6].

La forme que nous présentons ci-dessus diffère de cette espèce par une série de caractères, dont les principaux sont les suivants : 1) position

et distance entre les deux yeux; 2) forme et longueur du pharynx; 3) sveltesse du corps à bords presque parallèles; 4) queue à contour trilobé constant, tant en repos (fig. 1) qu'en marche (fig. 3); 5) absence de toute trace de pigment rouge à l'extrémité céphalique; 6) forme et dimensions du stylet copulateur: longueur totale 55  $\mu$ , ouverture proximale 30  $\mu$  de diamètre et terminé en pointe aiguë chez *Macrostomum rubrocinctum* Ax 1951; 27—30  $\mu$  de longueur, ouverture proximale 12,5  $\mu$  de diamètre et terminé en pointe tronquée chez notre espèce.

C'est pourquoi nous considérons que les spécimens collectés par nous dans la Mer Noire appartiennent à une espèce indépendante, très apparentée à *Macrostomum rubrocinctum* Ax 1951 de la Baie de Kiel, *Macrostomum peteraxi* n. sp., que nous dédions à Monsieur le Professeur Peter Ax (Göttingen), en témoignage de notre haute considération.

*Observations écologiques.* Nous avons trouvé cette espèce uniquement dans le sable et jamais dans le phytal.

#### *Torkarlingia euxinica* n.g.n.sp.

(fig. 6—7)

*Stations.* Costinești, 0,5 m de profondeur: 10.IX.1965, 2 ex.; 21. IX.1969, 2 ex.

Agigea, 1—3 m de profondeur: 15—20.VIII. et 1.X.1970. Nombreux spécimens.

*Matériel.* Observations sur le vivant et à la glycérine, 4 exemplaires. 15 spécimens fixés au sublimé acétique.

Longueur des animaux vivants 1,5 mm.

Le corps svelte, incolore et cylindrique, se rétrécit légèrement aux deux extrémités. Les mouvements sont lents. Pendant la locomotion l'extrémité céphalique paraît explorer le substrat. La grande transparence rend visible chez les individus vivants l'organisation interne dans tous ses détails. À l'extrémité caudale, les glandes adhésives sont peu développées.

Des courtes rhabdites, arrondies aux deux bouts, sont densement et également distribuées sur toute la surface du corps, et jamais par groupes.

La trompe petite représente 1/20 de la longueur totale de l'animal. Le cône proboscidien est pourvu de longues papilles de sécrétion et il est entouré à sa base d'une ceinture d'ampoules glandulaires allongées et fortement réfringentes sur le vivant.

À une certaine distance en arrière du proboscis se trouvent placés deux yeux noirs à coupes pigmentaires cordiformes. L'espace entre eux est supérieur à celui qui les sépare des bords latéraux du corps.

Le pharynx est situé à la limite entre le premier et le deuxième tiers de l'animal. La gaine pharyngienne se prolonge par un cône buccal relativement long, se dirigeant obliquement en avant vers la bouche, placée de côté ventral, à la limite entre les deux premiers quarts du corps.

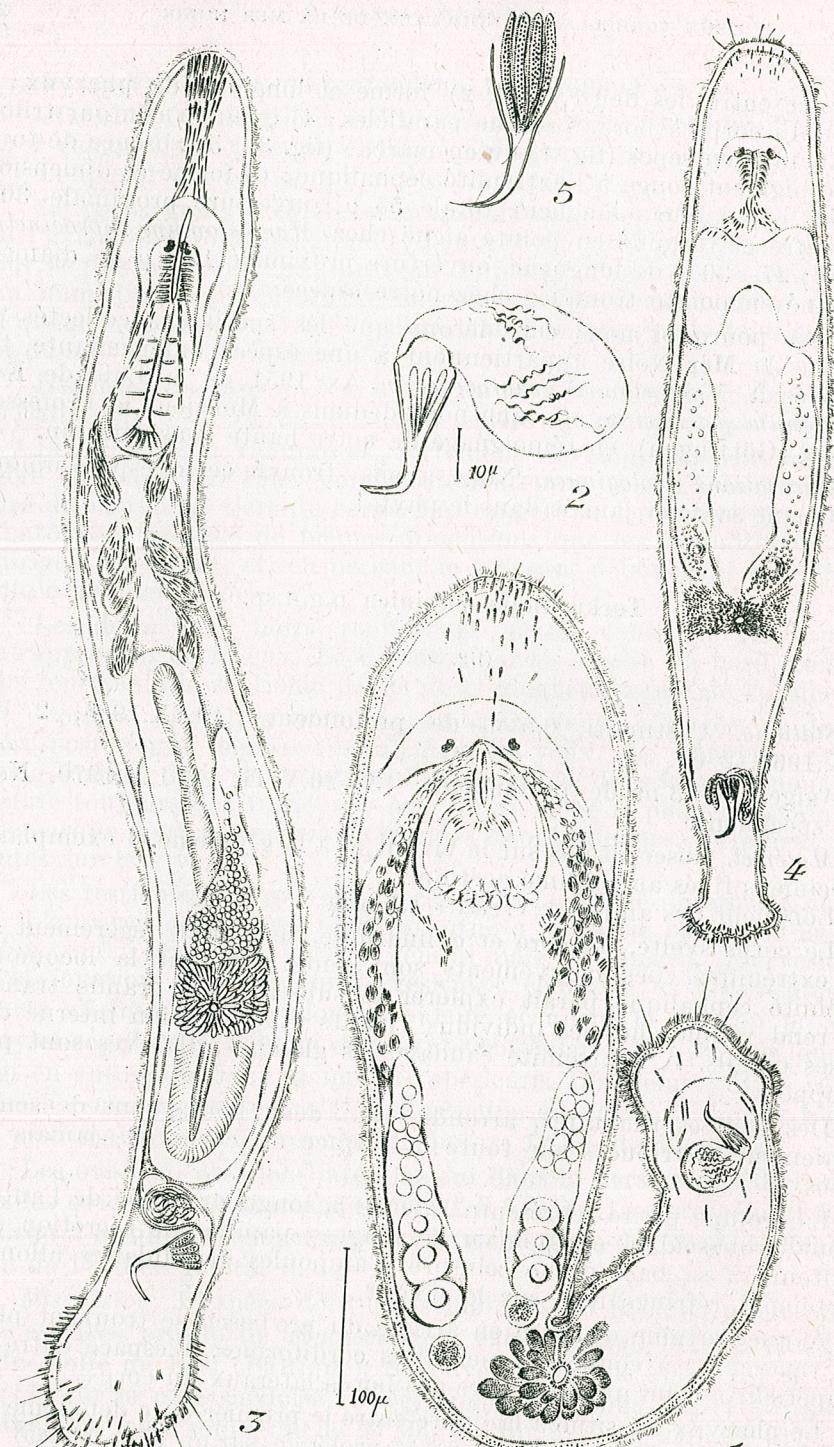


Fig. 1-5

*Appareil génital mâle.* Une paire de testicules sacculiformes occupent les parties latérales du cinquième moyen de l'animal. De leur extrémité caudale effilée partent les deux canaux déférents qui débouchent dans la vésicule séminale externe impaire sphérique, à parois épaisses. Celle-ci mesure sur le vivant  $62\ \mu$  de diamètre et se trouve placée approximativement au commencement de la moitié postérieure du corps. La vésicule séminale communique avec la vésicule prostatique allongée, à  $48\ \mu$  diamètre de largeur,  $71\ \mu$  de longueur. La sécrétion granulaire garde une position périphérique par rapport au conduit ejaculateur. Elle traverse la vesicula granularum pour pénétrer, indépendamment du conduit prostatique, dans le stylet copulateur.

C'est ainsi que les deux sécretions, spermatique et granulaire, quoiqu'en utilisant le même organe pour leur évacuation, entre séparément dans le stylet copulateur. Celui-ci est un tube cuticulaire,  $120\ \mu$  de longueur sur le vivant, qui s'amaïnit graduellement, mais assez peu, vers l'extrémité distale, pour se terminer tronqué et légèrement courbé. Au niveau de son ouverture proximale, le stylet présente deux épaississements cuticulaires annulaires bien distincts.

*Appareil génital femelle.* Les deux germovitellogènes vont dorsalement dans l'animal, en dépassant antérieurement le pharynx et postérieurement l'orifice génital, situé approximativement au commencement du dernier sixième du corps.

Les ovaires se trouvent placés dans le dernier quart de l'animal, d'un côté et de l'autre du stylet copulateur. Ils occupent dans la gonade femelle une position caudale subterminale.

Les vitellogènes sont longs et ramifiés.

La bourse copulatrice sacculiforme est située en arrière du pore génital. Elle comporte une vésicule principale communiquant d'une part avec les deux oviductes par l'intermédiaire des *ducti spermatici* et d'autre part avec la vagina interna qui conduit dans l'atrium génital. Une vésicule accessoire (« Nebenblase » des auteurs allemands) se rejoints à la bourse par un conduit fortement réfringent sur le vivant. La vesicula resorbiens, à position dorsale et caudale par rapport à la bourse, possède une structure spongieuse.

*Discussion.* Par les dimensions de la trompe, les gonades paires, la position subterminale caudale dans les germovitellogènes des ovaires, par la présence d'une vésicule séminale externe impaire et d'une vagina interna, par la possession d'un stylet cuticulaire et la position de l'orifice génital, nos exemplaires provenant de la Mer Noire s'approchent des espèces du genre *Nannorhynchides* Karling 1964 [2] [3], sans pouvoir être cependant assimilés à aucune d'entre elles.

---

Fig. 1-3. — *Macrostomum peteraxi* n. sp. 1, organisation générale, sur le vivant, vue ventrale ; 2, stylet copulateur, sur le vivant (tous les deux à tube à dessiner) ; 3, organisation générale, sur le vivant (à main levée).

Fig. 4-5. — *Macrostomum rubrocinctum* Ax 1951. 4, organisation générale sur le vivant, vue ventrale ; 5, stylet copulateur (à main levée).

D'autre part, la position des testicules et la structure de l'organe copulateur mâle, dépourvu de tout cirre, principal ou accessoire, sans discuter également la présence chez nos spécimens des ampoules glandulaires à la base du cône proboscidien, absentes chez *Nannorhynchides* selon la définition donnée par T. Karling [3] pour ce genre (M. Brunet, I.c., p. 191, pl. XXIII, fig. 1 et 2, a constaté la présence de telles formations chez son espèce *Nannorhynchides bividus*), sont des caractères qui éloignent notre forme même du genre *Nannorhynchides* Karling 1964.

C'est pourquoi nous établissons pour nos individus collectés dans le bassin pontique une espèce et un genre nouveau, *Torkarlingia euxinica* n.g.n.sp., que nous rangeons près du genre *Nannorhynchides*.

Le genre *Torkarlingia* n.g., que nous dédions à Monsieur le Professeur Tor Gustav Karling de Stockholm en témoignage de notre profonde reconnaissance et haute considération, doit recevoir la diagnose suivante :

Pharynx rosulatus situé dans la moitié antérieure du corps. Trompe petite pourvue d'une ceinture de papilles glandulaires à la base du cône proboscidien. Gonades paires. Testicules en arrière du pharynx. Stylet copulateur dépourvu de cirre. Ovaies à position caudale. Orifice génital dans le tiers postérieur de l'animal. Marin.

Type du genre : *Torkarlingia euxinica* n. sp.

*Observations écologiques.* Cette espèce nous l'avons collectée uniquement dans le sable vaseux. Elle est assez bien représentée sur nos côtes, sans pouvoir cependant être considérée parmi les espèces communes, comme par exemple *Monocelis longiceps* ou bien *Polycystis naegeli*, cette dernière phytophile par excellence [5] [6].

#### CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Les deux espèces que nous présentons dans ce travail, *Macrostomum peteraxi* n. sp. et *Torkarlingia euxinica* n.g.n.sp., appartiennent à la microfaune des interstices de la région littorale de la Mer Noire. Nous les avons toujours collectées dans le sable vaseux du phytal et jamais parmi les algues mêmes.

Tant qu'on peut juger d'après nos connaissances actuelles, si des recherches futures ne démontrent pas sa présence dans d'autres bassins marins aussi, *Torkarlingia euxinica* paraît être un endémisme pontique, provenu d'immigrants atlanto-méditerranéens, pénétrés au Quaternaire dans la Mer Noire par le Bosphore.

Nous sommes enclins à admettre cette origine zoogéographique pour notre nouveau genre parce qu'il est très apparenté au genre atlanto-méditerranéen *Nannorhynchides* Karling 1964.

En ce qui concerne l'origine zoogéographique de *Macrostomum peteraxi* n. sp. il est plus difficile de faire des présomptions quoiqu'il soit très proche de *Macrostomum rubrocinctum* Ax 1951, vivant dans la Baltique [1] et dans le bassin pontique [6].

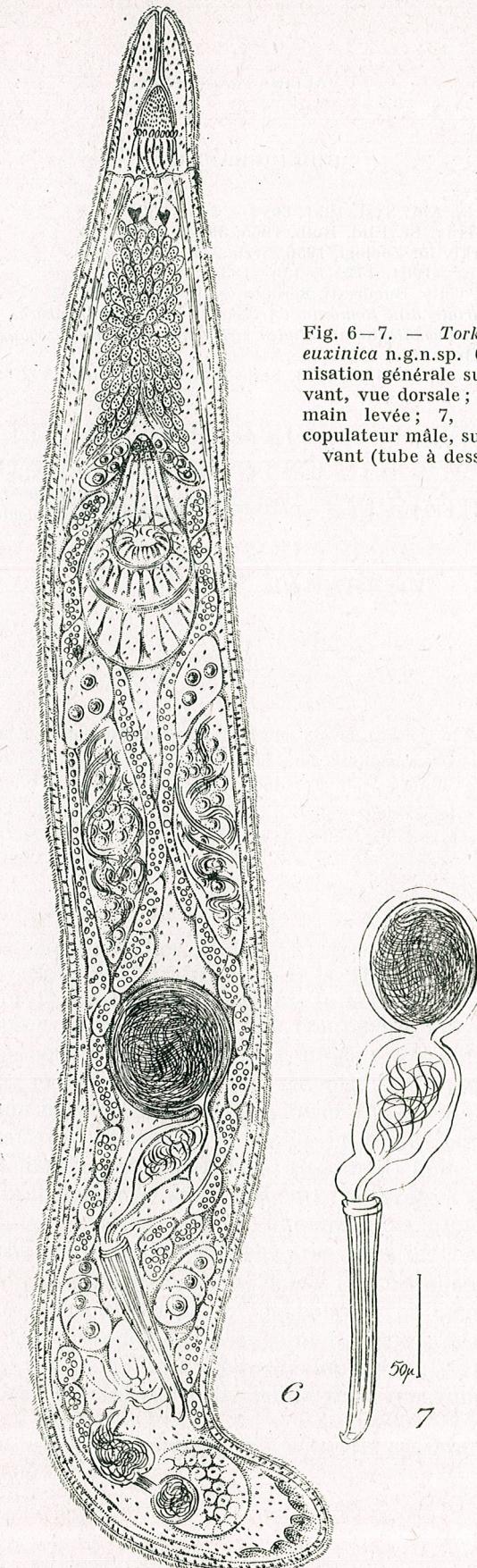


Fig. 6—7. — *Torkarlingia euxinica* n.g.n.sp. 6, organisation générale sur le vivant, vue dorsale ; dessin à main levée ; 7, l'organe copulateur mâle, sur le vivant (tube à dessiner).

## BIBLIOGRAPHIE

1. AX P., Zool. Jahrb., Abt. Syst., 1951, **80**, 3/4, 219–232.
2. BRUNET M., Rec. Trav. St. End. Bull., 1965, **39**, 55, 127–218.
3. KARLING T. G., Arkiv för Zoologi, 1956, Serie 2, **9**, 7, 187–279.
4. — Zool. Anz., 1964, **172**, 3, 159–183.
5. MACK-FIRA V., An. Univ. Bucureşti, Seria Șt. Nat., Biol., 1968, **17**, 27–33.
6. — Turbellaria din România (Archoophora, Prolecithophora, Proseriata, Rhabdo-coela, Lechitopheliata). Studiu sistematic, ecologic și zoogeografic. (Teză de doctorat), Bucureşti, 1970.
7. WESTBLAD E., Arkiv för Zoologi, 1953, Serie 2, **4**, 23, 391–408.

Reçu le 5 février 1971

Faculté de Biologie  
Laboratoire de Zoologie (Invertébrés)

A REVIEW OF THE SPECIES OF THE SUBGENUS  
*ONYCHOSTOMA* S. STR. WITH DESCRIPTION OF A NEW  
SPECIES (PISCES, CYPRINIDAE)

BY

PETRU BĂNĂRESCU

The subgenus *Onychostoma* s. str. includes eleven species, of which one, *O. leptura*, is intermediate between this subgenus and *Scaphesteles*. *O. laticeps* Günther is a synonym of *O. sima* (Sauvage & Dabry), *Varicorhinus szechwanensis* Chang a synonym of *O. angustistomata* (Fang.). A new species from the Democratic Republic of Viet-Nam: *O. vietnamensis* is described which is closer to *O. gerlachi* from the Hsikiang drainage.

*Onychostoma* Günther, 1896 [2] (type: *O. laticeps* Günther = *Barbus simus* Sauvage & Dabry, 1874) is the right generic name for a group of 14 or 15 East Asian medium- to large sized Barbin minnows, included by many authors within the composite *Varicorhinus*. These species are characterized by the peculiar inferior and almost transverse shape of the mouth; the upper lip is thin, smooth and separated from the snout by a deep but narrow groove; the lower lip is completely fused to the jaw, except laterally; the edge of the lower jaw is sharp, trenchant, horny; the groove delimiting the preorbital (lacrimal) bone reaches to the corner of the mouth, it becomes very close to the groove delimiting the upper lip and parting in two branches, one reaching almost below the middle of the eye, the other delimiting the free part of the lower lip (Fig. 1).

Nichols [5] restricts *Onychostoma* to the species without barbels, ascribing those with two pairs of barbels to the composite *Varicorhinus*. I think that the presence or absence of barbels is a minor character, the barbels being comparatively well developed only in *O. angustistomata*; they are short in other species, while most specimens of *O. sima* lack

barbels, but a few have a small or rudimentary maxillary (never rostral) barbels. The presence of an ossified and serrated last simple dorsal ray (as against a slender one) is a more important character, yet in one species, *O. leptura* the degree of ossification of this ray undergoes great individual and age variations.

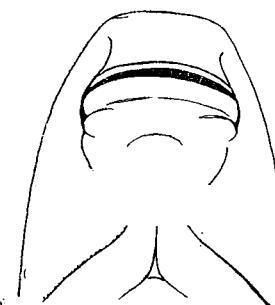


Fig. 1. — *Onychostoma leptura*, ventral view of mouth (original).

Nichols' *Varicorhinus* includes, besides 5 species of *Onychostoma*, representatives of four other genera: *Sinilabeo* (= *Altigena*), being the closest East Asian relative of the true African *Varicorhinus*, the monotypic *Rectoris* and *Parasinilabeo* and one species, *kreyenbergi*, actually belonging to *Acrossocheilus*. Lin's [4] "*Varicorhinus*" corresponds exactly to *Onychostoma*.

The closest relative of *Onychostoma* seems to be the West-Asian group of so-called *Varicorhinus*, separated recently by Karaman [3] as *Capoeta*.

I divide *Onychostoma* in two subgenera: *Onychostoma* s. str., including the species in which the last simple dorsal ray is ossified and *Scaphestes* Oshima, 1919, including the species in which this ray is slender. *O. leptura* is intermediate between both subgenera, being closer to the former.

This paper deals only with *Onychostoma* s. str.; a revision of the subgenus *Scaphestes* is forthcoming.

#### MATERIAL

63 specimens were examined; they belong to the following collections: American Museum of Natural History, New York (A.M.N.H.); Academy of Natural Sciences in Philadelphia (A.N.S.P.); British Museum, Natural History (B.M.N.H.), Field Museum of Natural History, Chicago (F.M.N.H.), Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris (M.N.H.N.), Naturhistorisches Museum, Wien (N.M.W.), United States National Museum, Washington (U.S.N.M.).

The number of anal rays being constant (A 2/5) is not indicated. Also many body proportions are more or less constant or are subject to strong allometry (head, snout, eye); of real value are only the body great-

est depth, length of the caudal peduncle and the least depth (all three expressed here in % of standard length).

#### SYSTEMATIC ACCOUNT

##### *Onychostoma sima* (Sauvage & Dabry, 1874)

Fig. 2, 3.

Synonyms: *Barbus (Systemus) simus* Sauvage & Dabry, 1874 (China); *Onychostoma laticeps* Günther, 1896 (Kansu, upper Hwang-ho drainage); *O. laticeps fontouensis* Tchang, 1930 (upper Yangtze); *Barbus gerlachi* (not of Peters), Rendahl, 1932 (upper Yangtze); *Varic. gerlachi* (not of Peters), Chang, 1944 (upper Yangtze).

Specimens examined: holotype of *B. simus*, M.N.H.N. 7952, "China" (probably Yangtze), 142.0 mm st. length; paratype of *O. l. fontouensis*, M.N.H.N. 34—17, Szechwan, upper Yangtze, 184.0 mm; M.N.H.N. 34—16, Szechwan, 262.0 mm; B.M.N.H. 1969. 4.5:105, Szechwan, 432.0 mm; U.S.N.M. 89164 (2 spec.), Suifu, Szechwan, 183.5—187.0 mm; U.S.N.M. 91774, Szechwan, 144.0 mm; F.M.N.H. 51118 (4 spec.), Suifu, Szechwan, 136.0—203.0 mm; F.M.N.H. 43771 (2 spec.), Tu Chandzu, Szechwan, 102.8—110.0 mm; A.M.N.H. 15286, Ya Wu, Szechwan, 144.0 mm.

D III 8; L. lat. (45)  $47 \frac{8-9}{4-5} 48$  (49); Sp. br. 31—37.

Body depth 26.8—31.2% (34.3% in the holotype of *O. laticeps*, according to Günther, 2); caudal peduncle 20.4—23.4%; least depth 10.0—13.0%. Usually no barbels, but in some specimens there are rudimentary or reduced maxillary barbels. Head and snout very blunt, dorsal profile strongly arched.

The holotype of *B. simus* (Fig. 2) proved to be the same species as *O. laticeps*; it has a somewhat lower body than most other specimens (depth 27.6%), L. lat. 46—47 (not 40, as indicated by Nichols!). The upper Yangtze specimens recorded by Rendahl [8] and Chang [1] as *Barbus*, respectively *Varicorhinus gerlachi* actually are *O. sima*, according to the number of scales and body proportions indicated by both authors.

Range: upper Hwang-ho and upper Yangtze drainages. There may be subspecific differences between *sima* (= *fontouensis*) from the Yangtze and *laticeps* from the Hwang-ho; the latter apparently has a deeper body, but it is known by a single specimen.

##### *Onychostoma gerlachi* (Peters, 1880)

Fig. 4.

Specimens examined: U.S.N.M. 94594 (2 spec.), Wuchow, Kwangsi, 182.0 and 217.0 mm; F.M.N.H. 47328, same locality, 153.0 mm.

D III 8; L. lat.  $48 \frac{7}{4^{1/2}} 51$ ; Sp. nr. 28—35.

Body depth 24.8—28.0%; caudal peduncle 20.8—23.4%; least depth 7.8—8.6%. No barbels.

Sides silvery, scales not bordered with blackish punctuations.

This species is close to *O. sima* from which it differs by a greater number of scales, a slenderer body, a longer and especially lower caudal peduncle, a less blunt head and snout. The general habitus of both species is rather different.

Range: Hsikiang drainage, South China.

### **Onychostoma vietnamensis nova species**

Holotype: M.N.H.N. B. 2652, 228.0 mm st. length; paratypes: M.N.H.N. B. 2653, two specimens 143.0 and 157.0 mm.

Description:

D III 8 [9]; A 2/5; L. lat. 46  $\frac{7}{4}$  48; Sp. br. 31—32; D. phar. 5.3.2—2.3.5; Predorsal scales 13—15; Circumpeduncular scales 14—16. Body rather deep, greatest depth (at the level of dorsal insertion) 27.4—28.0% of standard length; caudal peduncle length 23.1—23.9%; least depth 8.9—9.3%. Dorsal origin about equidistant between tip of snout and middle of caudal peduncle and between middle or posterior margin of pelvic well behind that of dorsal. Predorsal distance 41.7—45.5% of standard length; preanal distance 70.5—72.5%; preventral distance 48.5—50.5%; distance from pectoral to pelvic origin 27.2—28.6%; distance from pectoral to anal origin 23.0—27.4%; length of pectorals 18.1—19.1%; length of pelvics 18.4—18.8%; height of dorsal fin (e.g. length of its first branched ray) 21.0—22.2%; length of dorsal base 14.9—17.9%; height of anal 14.5—19.1%; base of anal 8.8—9.7%; length of head 20.3—21.1%; length of snout 6.5—7.9%; diameter of eye 4.7—6.2%. Length of snout 31.6—38.2% of head; eye diameter 23.0—27.8% of head and 51.5—68.2% of interorbital width.

Pectorals far from reaching pelvic insertion, pelvics far from reaching anal. Last unbranched dorsal ray strongly ossified on most of its length and denticulated; its top remains slender and articulated.

No barbels.

Sides silvery, most scales bordered with minute blackish punctuations. No median longitudinal stripe.

Range: Song-Koi drainage in the northern part of the Democratic Republic of Viet-Nam (former Tonkin); no other data are available as regards locality.

Remarks. The three specimens on which this new species is based belong to the same series as the 11 specimens of *O. leptura* (M.N.H.N.). They differ sharply from *leptura* by a strong and denticulated spinifex ray in the dorsal, shorter and deeper caudal peduncle, absence of a longitudinal stripe on body and presence of fine darkish punctuations on most scales on the sides. *O. vietnamensis* approaches rather *O. gerlachi*, from which it differs especially by fewer scales, a lower caudal peduncle

and scales bordered with blackish punctuations. The habitus of both species is rather different.

### **Onychostoma elongata (Fang, 1940)**

Fig. 5.

Specimen examined: Cotype of *Varicorhinus elongatus*, M.N.H.N. 40—137, "Kouang-Si" (probably Kwangsi Province, Hsikiang drainage), 1 specimen, 113.0 mm.

D III 7; L. lat. 49  $\frac{7}{4}$ ; Sp. br. 31; D. phar. 4.3.2—2.3.4.

Rather slender; body depth 22.8%; caudal peduncle 23.7%; least depth 7.5%. No rostral barbels; minute maxillary barbels present.

This is the only species within the genus that has only 7 branched dorsal rays. It differs from the sympatric *O. gerlachi* also in its much slenderer body and presence of maxillary barbels.

### **Onychostoma macracantha Pellegrin & Chevey, 1936**

Specimens examined: Holotype, M.N.H.N. 35.323, 216.0 mm, Muong Hum, Ngoi-Pho-Thao, Song-Koi = Red R. drainage; paratypes: M.N.H.N. 35—324, Kon Tum market, Vietnam D.R. (said to be from Srepok R., Mekong drainage, but probably from Tonkin Bay drainage); M.N.H.N. 35—325, Song Koi R. (length of paratypes: 153.0 and 110.5 mm).

D III 11—12; L. lat. 39  $\frac{7-8}{4\frac{1}{2}}$  45; Sp. br. 29—32; D. phar. 4.3.1—

1.3.4.

Depth 32.0—35.5%; caudal peduncle 23.6—26.9% least depth 10.1—11.6%. No barbels.

This is the only species within the genus which has more than 8 branched dorsal rays and the lowest number of scales.

Song Koi drainage; its presumable occurrence in the Mekong is doubtful.

### **Onychostoma angustistomata (Fang, 1940)**

Synonyms: *Varic. angustistomatus* Fang, 1940; *V. szechwanensis* Chang, 1944 (Loshan, western Szechwan).

Specimens examined: Cotype of *V. angustistomatus*, M.N.H.N. 40—138, Suifu, Szechwan, 140.0 mm; U.S.N.M. 91752, Suifu, 181.0 mm; out of U.S.N.M. 89164, "China" (surely Szechwan), two specimens, 154.0 and 163.0 mm; F.M.N.H. 43558, Kiating, Szechwan, 196.0 mm.

D III 8; L. lat. 48  $\frac{8}{5-5\frac{1}{2}}$  51; Sp. br. 32—35; D. phar. 4.3.2—

2.3.4 or 5.3.3—2.3.4.

Depth 24.2—29.0%; caudal peduncle 20.4—23.0%; least depth 10.0—11.1%; both pairs of barbels present, longer than in other species.

Endemic in the upper Yangtze drainage.

**Onychostoma rara** (Lin, 1933)

Specimens examined: paratype of *Varic. rarus*, U.S.N.M. 94855, 127.0 mm; A.N.S.P. 85115, 96.0 mm; A.M.N.H. 12762, 104.0 mm; all three specimens from the Linchow, Kwantung, Hsikiang drainage.

D III 8; L. lat.  $44\frac{7}{4}$ ; Sp. br. 31—33.

Depth 31.4—34.6%; caudal peduncle 22.1—23.2%; least depth 11.6—12.5%. Both pairs of barbels present, shorter than in *angustistomata*. Differs from *O. angustistomata* especially in having fewer scales, a deeper body and a deeper caudal peduncle.

Endemic to the Hsikiang drainage.

**Onychostoma lini** (Wu, 1939)

No specimens available.

D III 8; L. lat.  $47\frac{6}{4}$ ; Circumped. scales 16; Predors. scales 15—16.

Depth 11.2—24.4%; caudal peduncle about 19—22% least depth about 10—11%.

Closer to the sympatric *O. rara* but slenderer and with more scales. Li-kiang, an arm of the Hsikiang, connected also to the Yangtze.

**Onychostoma rhomboides** (Tang, 1942)

No specimens available.

D III 8; L. lat.  $44\frac{7}{5}$ .

Depth 35.6%; caudal peduncle about 16.5%; least depth 11.1%. Both pairs of barbels well developed. A series of longitudinal dark stripes; this is the only striped species within the genus.

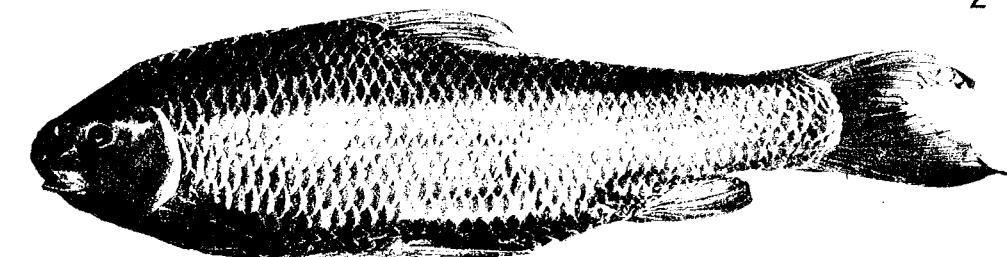
It differs from the Yangtze *O. angustistomata* in having fewer scales, a deeper body and a peculiar colour pattern. Apparently more similar to *O. rara* from which it differs in colour pattern and 5 scales between the lateral line and the pelycines.

Kweiyang, Kweichow, southern part of middle Yangtze drainage.

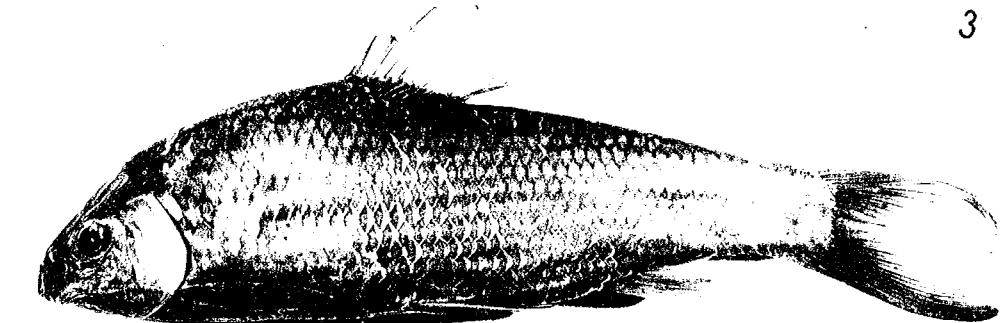
**Onychostoma ovalis** Pellegrin & Chevey, 1936

Specimen examined: Holotype, A.M.N.H. 35—322, Phû-Thô, Song-Koi = Red River drainage, 240.0 mm.

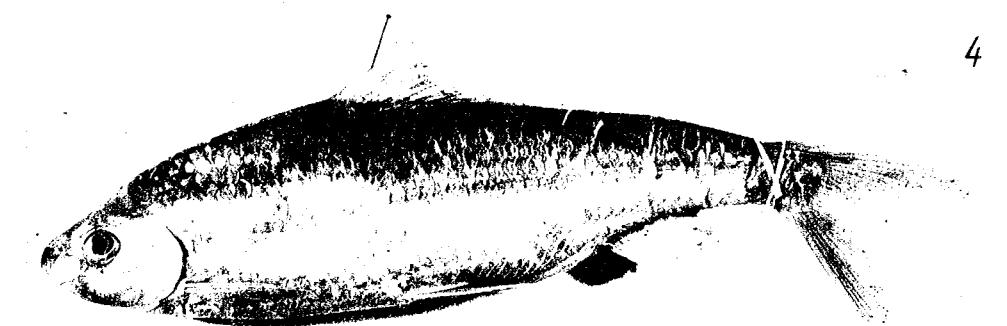
D III 8; L. lat.  $44\frac{8}{5}$ ; Sp. br. ± 40; D. phar. 5.3.2—2.3.5.



2



3



4

Fig. 2. — *Onychostoma sima*. B.M.N.H. 1969. 4.5: 105. Szechwan.

Fig. 3. — *Onychostoma sima*. U.S.N.M. 89164. Suifu, Szechwan.

Fig. 4. — *Onychostoma gerlachi*. U.S.N.M. 94594. Wuchow, Kwangsi.

Body exceedingly deep, its depth 41.5% ; caudal peduncle 23.8% ; least depth 13.3%. Both rostral and maxillary pairs of barbels present (in the original description [7] the rostral pair is said to be absent).

It differs from the three other species provided with barbels in having an extremely deep body and fewer scales.

Endemic to the Song-Koi drainage.

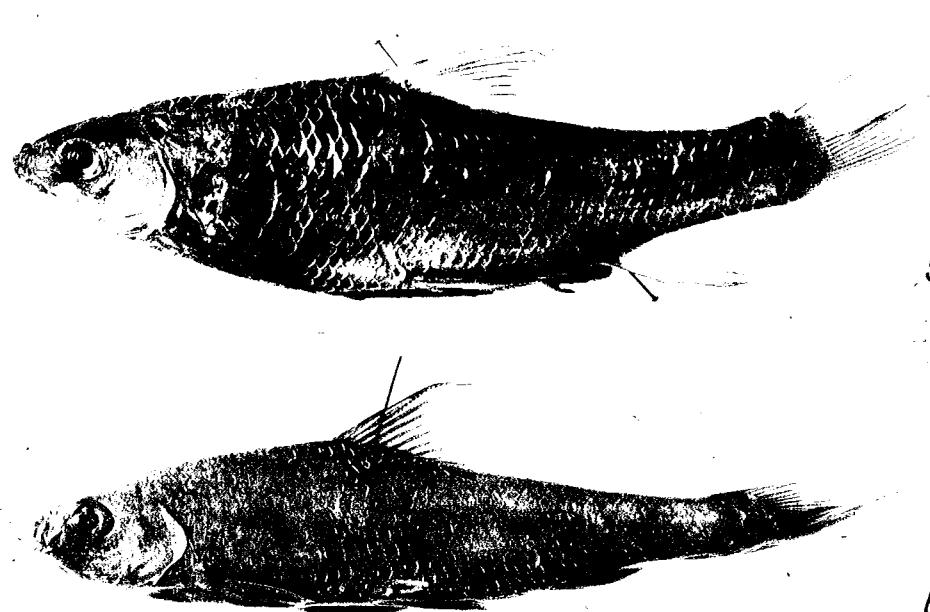


Fig. 5. — *Onychostoma angustistomata*. U.S.N.M. 91752. Suifu, Szechwan.  
Fig. 6. — *Onychostoma leptura*. A.M.N.H. 10681. Nodoa, Hainan.

### ***Onychostoma leptura* (Boulenger, 1899)**

Fig. 6.

Specimens examined : Holotype of *Gymnostomus lepturus*, B.M.N.H. 1889. 11. 30 : 21, Hainan Isl., 159.2 mm ; N.M.W. 10073, Hainan Isl., 145.5 mm ; A.M.N.H. 10681, Nodoa, Hainan Island, 16 spec., 90.5—181.0 mm ; M.N.H.N. 34—258, 34—259 and 1937—14, Song-Koi drainage, The Democratic Republic of Viet-Nam, 13 specimens in all, 125.0—227.0 mm.

D III 8 ; L. lat.  $45\frac{7}{4}48$  (49).

Body rather slender, caudal peduncle long and slender ; depth 22.4—28.0% ; caudal peduncle 21.0—25.8% ; least depth 8.1—9.4. No barbels. Last simple dorsal ray slender in some specimens, especially in younger ones, slightly to moderately ossified and serrated in larger ones, but never as strongly ossified as in the 9 already recorded species ; the degree of ossification apparently increases with age. A longitudinal dark stripe on the sides, better marked on the caudal peduncle.

Lin [4] believes that the specimens recorded by Nichols & Pope [6] from Nodoa, Hainan, as *O. leptura* do not belong to this species, but to *O. gerlachi*. I examined in the American Museum of Natural History the specimens of Nichols & Pope : all belong to *leptura*.

Range Song-Koi drainage on the continent (The Democratic Republic of Viet-Nam) and adjacent Hainan Island (China).

★

The 11 species of *Onychostoma* s. str. can be ascribed to 4 groups : 1) *sima*, *gerlachi*, *vietnamensis* and perhaps *elongata* ; 2) *macracantha* ; 3) *angustistomata*, *rara*, *lini rhomboides* and *ovalis* ; 4) *leptura*. The species of groups 1 and 3 are mostly representatives, yet I do not lump them as subspecies of polytypic species, because of the sympatric occurrence of *gerlachi* and *elongata* and of *rara* and *lini*.

*Acknowledgements.* The following curators lent the specimens and respectively facilitated the study of specimens under their care : M-me le Prof. M.-L. Bauchot, Paris, Drs. P. H. Greenwood, London, J. Böhlke, Philadelphia, E. Lachner, Washington, P. Kähnsbauer, Wien, D. E. Rosen, New York and L. P. Woods, Chicago. A visit to four museums in the U.S.A. and to the British Museum was financed by the Smithsonian Institute T.F.H. Fund, at the kind proposal of Dr. E. Lachner.

## REFERENCES

1. CHANG H. W., Sinensis, 1944, **15**, 1-6, 27-60.
2. GÜNTHER A., Annaire Mus. Zool. Acad. Impér. Sci. St. Pétersbourg, 1896, **1**, 199-219.
3. KARAMAN M., Mitt. Hamburg Zool. Mus. Inst., 1969, **66**, 17-54.
4. LIN S. Y., Lingnan Sci. J., 1933, **12**, 2, 197-215.
5. NICHOLS J. T., *The Fresh-water Fishes of China*. The American Museum of Natural History, New York, 1943.
6. NICHOLS J. T. & POPE, H. C., Bull. Americ. Mus. Nat. Hist., 1927, **54**, 2, 321-394.
7. PELLEGRIN J., CHEVEY, Bull. Soc. Zool. France, 1936, **61**, 18-27.
8. RENDAHL H., Ark. f. Zool., 1932, **24 A**, **16**, 1-134.
9. WU H. W., Sinensis, 1939, **10**, 92-142.

Received March 17, 1971

*The « Traian Săvulescu » Institute of Biology,  
Department of Systematics and Evolution of Animals*

## L'INFLUENCE DU RAPPORT K/Ca SUR L'ABSORPTION INTESTINALE DU POTASSIUM ET DU CALCIUM

PAR

EUGEN A. PORA et ANA MUNTA

The loop of dog small intestine was perfused with normal Thyrode serum as well as with Thyrode serum containing 2 or 4 times higher K or Ca concentration than the normal serum. It was observed that in the blood of the perfused loop the concentration of both cations was increased, although the Ca was in a normal amount. It follows that the ratio between K/Ca tends to remain unchanged.

This phenomenon does not occur neither when the K of KCl is replaced with the K of KCN in the Thyrode serum (due to the blockage of the oxidative systems), nor when the loop is unnerve before perfusion with a Thyrode solution containing a different amount of cations and a changed K/Ca ratio towards the normal. The results show that the intestinal absorption of K and Ca is dependent on the K/Ca ratio too, which in this circumstance might be considered as a medium factor like the osmotic factors, the oxidative systems, the integrity of innervation, and the functional integrity of the ionoceptors.

Le transport actif des cations à travers la muqueuse intestinale a fait, ces dernières années, l'objet de nombreux travaux. On a montré que le Na, le K, le Ca, etc. peuvent passer à travers cette membrane même à l'encontre d'un gradient osmotique [1], [6], [7], [8], [9], [10], [26], [29]. Mais, à l'exception de quelques recherches [4], [26], la perméabilité de la muqueuse intestinale pour le K et pour le Ca, en fonction du rapport qui existe entre ces deux mêmes cations (K/Ca), n'a pas été étudiée. Nous considérons que l'influence du facteur rhopique (Pora, 1958 [13]) sur les phénomènes de transport cationiques est d'une importance au moins aussi grande que l'influence du facteur osmotique [12], [14].

Pour démontrer ce fait nous avons réalisé de nombreuses expériences sur des animaux et des milieux aqueux très différents [15], [16], [17], [18], [19], [20], [21], [22], [23], [24], [25], [26].

Dans le présent travail nous étudions l'influence de la variation du rapport K/Ca, d'un liquide de perfusion intestinale, sur le contenu cationique et la valeur du rapport K/Ca du sang qui irrigue l'anse intestinale étudiée.

#### MÉTHODE DE TRAVAIL

Les chiens anesthésiés par chloralose (0,1 g/kg) ont été préparés pour la perfusion ouverte d'une anse intestinale avec le sérum Tyrode chaud ( $\text{à } +38^\circ\text{C}$ ) et à un débit de 8 ml/minute. De la veine mésentérique correspondante on a récolté du sang; les déterminations quantitatives des cations ont été faites, pour le Na et le K par « Flammphotométrie », pour le Ca par manganométrie.

On a fait 4 lots, chacun contenant entre 8 et 12 chiens :

- lot 1*: perfusion avec du Tyrode qui avait la valeur du rapport K/Ca deux ou quatre fois plus grande que la normale (par adjonction de ClK, mais sans modification du contenu en Ca). L'osmolarité de la solution a été conservée par une baisse correspondante du taux de ClNa.
- lot 2*: perfusion avec du Tyrode qui avait la valeur du rapport K/Ca deux ou quatre fois plus petite que la normale (par adjonction de Cl<sub>2</sub>Ca, sans modification du contenu en K).
- lot 3*: perfusion avec les mêmes solutions Tyrode que chez les lots 1 ou 2, mais dans une anse intestinale dénervée.
- lot 4*: perfusion avec un Tyrode dans lequel le K normalement introduit par ClK a été remplacé par le K du CNK. La valeur du rapport K/Ca reste normale.

Chaque expérience a commencé par une analyse du sang avant la perfusion de l'anse intestinale. La concentration cationique trouvée était prise comme valeur de référence : R = 100 %, à laquelle on a rapporté nos résultats, qui sont présentés dans des tableaux et leurs variations procentuelles figurent dans des graphiques.

Dans chaque expérience la perfusion a commencé par le Tyrode normal. On a constaté que 5 minutes après se produit une augmentation de la quantité des cations K et Ca (et une diminution de Na), mais qu'après 45 minutes de perfusion, ces valeurs reviennent à la normale. Malgré ces modifications quantitatives du taux de K, de Ca et même de Na, de grands changements du rapport K/Ca du sang ne se produisent pas. Ce phénomène est évident dans chacun de nos graphiques (sol. Tyrode; K/Ca = 1).

#### RÉSULTATS OBTENUS

Nous présentons dans le tableau 1 un modèle des résultats obtenus à la suite d'une perfusion avec du Tyrode normal, suivie d'une perfusion avec du Tyrode enrichie deux, puis quatre fois, en Potassium. Pour les autres expériences nous donnons seulement la représentation graphique des résultats, en pourcentage, par rapport à la normale.

Après une perfusion avec un Tyrode K/Ca = 2 (par le doublement de la quantité de K) la concentration du Potassium sanguin augmente de

Tableau 1  
Concentrations cationiques (mg/100 ml sang) à la suite de la perfusion d'une anse intestinale avec solution Tyrode normale, ou enrichie deux ou quatre fois de K<sup>+</sup>, en fonction du temps (en minutes). ± % variations procentuelles des résultats par rapport à la norme; p < degré de signification. Entre parenthèses le nombre des animaux; X moyenne des déterminations cationiques.

		Sol. Tyrode										2 × K <sup>+</sup>					4 × K <sup>+</sup>				
		M.	5'	15'	25'	35'	45'	50'	60'	70'	80'	90'	95'	105'	115'	125'	135'				
K <sup>+</sup> (8)	X	3,6	4,0	3,8	3,7	3,6	3,8	4,0	4,0	4,1	4,2	4,3	4,3	4,3	4,6	4,7					
	± %	0,12	0,12	0,13	0,12	0,14	0,12	0,15	0,18	0,19	0,21	0,23	0,18	0,18	0,19	0,20	0,19				
	p <							—	—	—	0,05	0,05	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01				
	X	5,5	5,9	5,8	5,6	5,5	5,8	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,9	5,9	5,9				
	± %	0,13	0,18	0,16	0,16	0,14	0,13	0,14	0,13	0,14	0,14	0,16	0,17	0,16	0,17	0,13	0,13				
	p <							—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
	X	147	146	143	143	143	143	144	141	142	142	140	142	140	140	140	140	140			
	± %	1,91	1,91	1,06	1,30	1,60	2,00	1,69	2,29	1,06	1,06	1,69	2,29	2,48	2,48	2,29	2,11	0,05	0,05		
	p <							—	—	—	0,05	0,01	0,05	0,01	—	0,05	0,05	0,02			

14,4% et après une perfusion avec un Tyrode  $K/Ca = 4$  cette augmentation est de 30,5% (fig. 1). On constate aussi une concentration du Calcium, de 3,8% pour le Tyrode  $K/Ca = 2$  et de 8,0% pour le Tyrode  $K/Ca = 4$ . Il faut retenir le fait que dans le liquide de perfusion la quantité de Calcium n'a pas augmenté. La hausse sanguine de Calcium est sans doute due à une élévation calcique des réserves existantes dans l'organisme [9], [27].

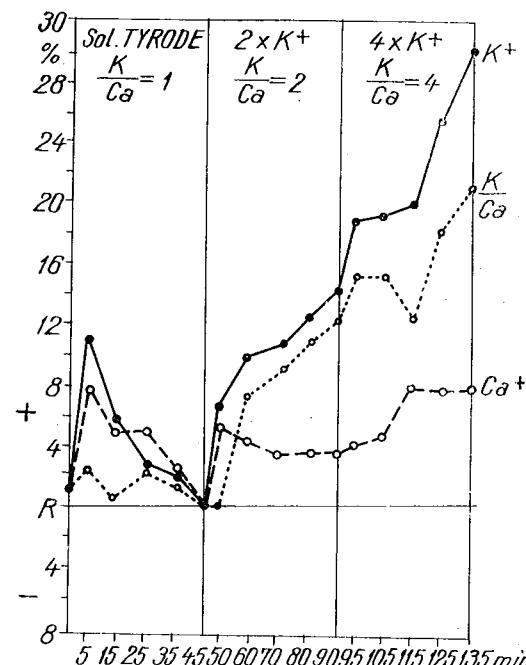


Fig. 1. — Anse intestinale de chien perfusé 45 minutes par Tyrode, puis 45 minutes par un Tyrode enrichi de Potassium deux fois et 45' par Tyrode contenant quatre fois plus de K. Sur l'abscisse le temps en minutes; sur l'ordonnée les variations procentuelles du contenu de Potassium ( $K^+$ ) ou de Calcium ( $Ca^{++}$ ) et du rapport  $K/Ca$ . R = point de référence pour la normale.

Comme suite aux augmentations parallèles de deux cations : K et Ca, la valeur du rapport K/Ca ne change pas au début ; mais la quantité de Calcium éliminée par l'organisme n'est pas suffisante (dans un délai assez court de temps, de 45 minutes) pour maintenir la constance de ce rapport et à la fin de l'expérience la valeur de ce rapport K/Ca sanguin est de 20% plus grande (fig. 1).

Si la perfusion intestinale est faite avec un Tyrode  $K/Ca = 4$ , alors l'augmentation sanguine du Potassium est de 13,7% et celle de Calcium de 2,6%, donc des valeurs tout à fait semblables avec celles obtenues après la perfusion d'un Tyrode  $K/Ca = 2$  (fig. 2, flèches vers le haut).

Si la perfusion est faite avec un Tyrode exempt de Potassium, alors on observe une perte continue du K sanguin, et une autre plus légère du Ca. La perte de K est plus rapide et plus forte que celle de Ca ; par conséquent la valeur du rapport K/Ca diminue constamment (fig. 2, flèches vers le bas).

Après une perfusion avec un Tyrode  $K/Ca = 0,5$  (la moitié de la quantité de Ca), on constate une augmentation d'environ 11% du taux

de K et d'environ 12% du Calcium sanguins. A la suite d'une perfusion successive avec du Tyrode  $K/Ca = 0,25$ , on observe une nouvelle augmentation sanguine forte du K (environ 18%) et une autre plus réduite du

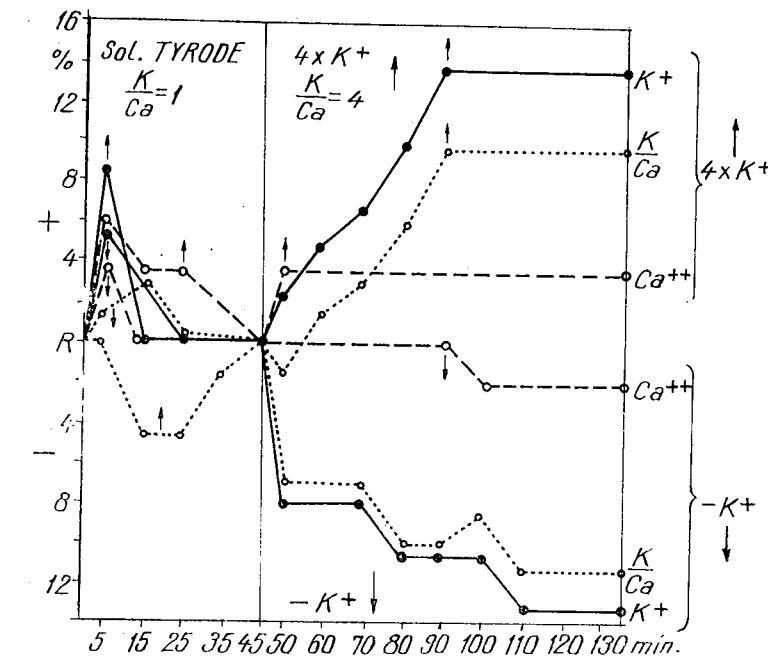


Fig. 2. — Le même que la fig. 1. Après 45 minutes de perfusion Tyrode normal, une perfusion contenant 4 fois plus de Potassium ( $4 \times K^+$ ) ou un Tyrode exempt de Potassium ( $-K^+$ ).

Ca (environ 8%). Dans ces expériences la valeur du rapport K/Ca du sang varie qu'après la deuxième perfusion (fig. 3), à la suite de l'augmentation brusque du taux de Ca ; puis elle revient vers la normale.

Si la perfusion intestinale est faite directement avec un Tyrode  $K/Ca = 0,25$  on n'observe pas de grandes modifications, ni dans la concentration de K ou de Ca, ni dans la valeur du rapport K/Ca (fig. 4, flèches vers le haut). Mais à la suite de l'élimination complète du Calcium de Tyrode, on constate une forte baisse de celui-ci dans le sang et une autre plus modeste de K, mais insuffisante pour que la valeur du rapport K/Ca n'augmente pas fortement (fig. 4, flèches vers le bas).

Si dans le Tyrode on remplace le K du ClK par le K du CNK et on ajoute la quantité de cyanure nécessaire pour doubler la valeur du rapport K/Ca on constate que les effets obtenus sont dus à l'action toxique du cyanure et non pas aux modifications de la valeur du rapport (fig. 5). Le simple remplacement du K contenu dans le ClK, par le K du CNK, provoque une très forte augmentation du Potassium et une très forte diminution du Calcium sanguins. Si la valeur du rapport K/Ca est augmentée à 2 (par le K du CNK), ces modifications deviennent encore plus fortes.

Mais dès qu'on remplace la perfusion intestinale avec un Tyrode qui contient le K dans CIK (valeur du rapport K/Ca=2) toutes les valeurs sanguines (de Ca, de K et le rapport K/Ca) reviennent vers la normale (fig.5).

Pour savoir si dans ces modifications de perméabilité cationique, à côté du rapport K/Ca, le système nerveux joue un certain rôle, nous avons refait les expériences de type 1, après la dénervation de l'anse intestinale. On a constaté que la dénervation proprement dite ne provoque pas des changements importants dans l'absorption cationique sanguine si cette perfusion est faite avec un Tyrode normal. Mais si on modifie les valeurs du rapport K/Ca du liquide de perfusion en l'augmentant à 2 ou à 4, on constate dans le sang une hausse du Potassium et une baisse du Calcium (fig. 6), qui sont d'autant plus fortes que la valeur du rapport est plus grande.

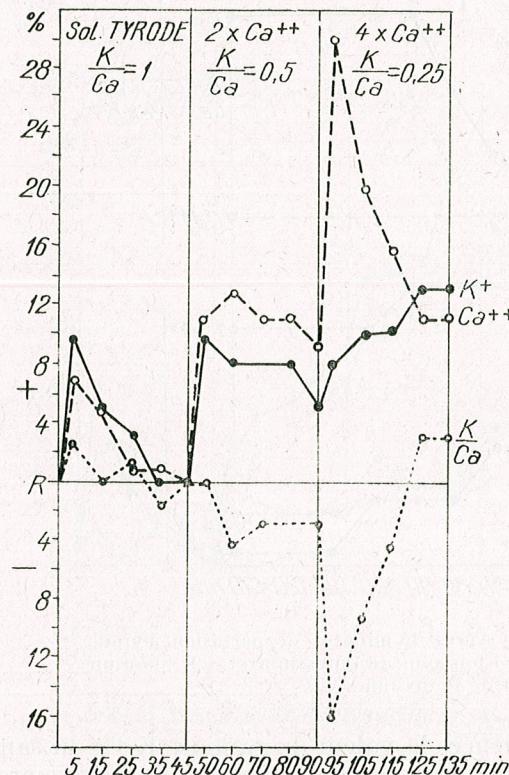


Fig. 3. — Perfusion 45 minutes avec Tyrode normal, puis 45 minutes avec Tyrode enrichi deux fois de Calcium, puis 45 minutes avec un Tyrode enrichi quatre fois de Calcium. Le reste comme dans la fig. 1.

mentation quantitative du Potassium dans le milieu extérieur d'une cellule provoque des modifications quantitatives des autres cations, spécialement de ceux qui ont une action antagoniste sur la ou les fonctions que le Potassium accroît [23], [24]. Il s'agit d'un mécanisme d'homéostasie, dénommé homéorhopie (Pora, 1969 [13]). Si la variation cationique n'est pas très forte, alors les mécanismes homéorhopiques sont efficaces et l'augmentation du Potassium (pris comme exemple), comme facteur perturbateur, provoque d'une part la modification de la perméabilité cellulaire, d'autre part il met en marche les mécanismes homéorhopiques, qui ont la tendance de faire revenir les valeurs cationiques vers la normale. Mais si la variation cationique est trop forte et d'une durée trop longue,

#### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'augmentation du taux de Potassium dans le milieu extérieur d'une cellule détermine une accélération de la vitesse des réactions cataboliques de celle-ci. Par conséquent sa concentration osmotique augmente et par la suite on peut observer une augmentation de sa perméabilité [31], [32], [33]. D'autre part on sait que l'augmentation quantitative du Potassium dans le milieu extérieur d'une cellule provoque des modifications quantitatives des autres cations, spécialement de ceux qui ont une action antagoniste sur la ou les fonctions que le Potassium accroît [23], [24]. Il s'agit d'un mécanisme d'homéostasie, dénommé homéorhopie (Pora, 1969 [13]). Si la variation cationique n'est pas très forte, alors les mécanismes homéorhopiques sont efficaces et l'augmentation du Potassium (pris comme exemple), comme facteur perturbateur, provoque d'une part la modification de la perméabilité cellulaire, d'autre part il met en marche les mécanismes homéorhopiques, qui ont la tendance de faire revenir les valeurs cationiques vers la normale.

alors se produisent des perturbations irréversibles de nature pathologique [11].

Dans toutes nos expériences la perfusion avec du Tyrode normal a provoqué une « perturbation » du contenu cationique sanguin et donc du rapport K/Ca, que nous avons poursuivis plus spécialement. Cette per-

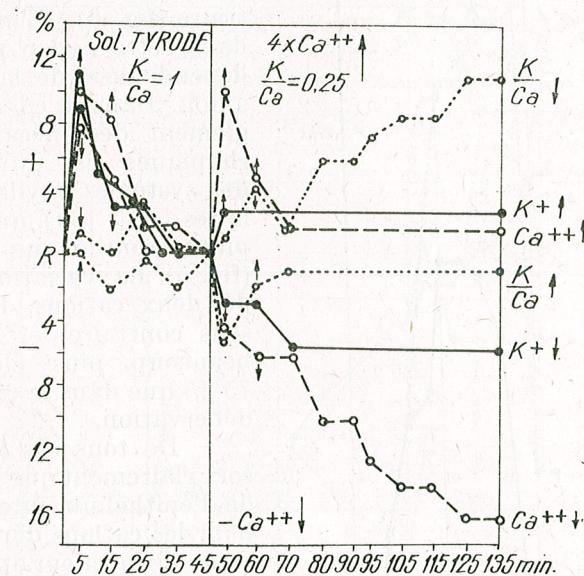


Fig. 4. — Le même que la fig. 2. Après 45 minutes de perfusion Tyrode normal, une perfusion contenant 4 fois plus de Calcium ( $4 \times \text{Ca}^{++}$ ) ou un Tyrode exempt de Calcium ( $-\text{Ca}^{++}$ ).

turbation initiale est due probablement au manque des protéines du perfusat (donc à l'absence de la pression colloïdoosmotique du liquide de perfusion). Mais 45 minutes après la perfusion toutes les modifications cationiques, provoquées par cette « perturbation », reviennent à la normale, ce qui signifie que les mécanismes homéorhopiques, — même en l'absence des protéines sanguines, — sont très efficaces. Seulement dans une perfusion directe avec un Tyrode K/Ca = 4 (par l'augmentation de 4 fois du taux de Potassium, fig. 2) se produit une baisse importante de la valeur du rapport K/Ca. Dans toutes les autres variantes expérimentales, pendant les 45 minutes de perfusion avec du Tyrode normal, la valeur du rapport K/Ca ne varie pas d'une façon significative, en restant près de sa valeur normale.

Ce résultat est dû au fait que le Tyrode a un rapport K/Ca de la même valeur que celui du sang (d'environ 0.6). Pour simplifier nous le considérons comme égal à 1.

Les variations synergiques de la concentration du K et du Ca, à la suite des modifications d'un de ces cations, démontrent l'intervention efficace des mécanismes homéorhopiques. Ils ne permettent pas la modifi-

cation de la valeur du rapport K/Ca, car ces cations ont une action antagoniste sur la perméabilité cellulaire (fig. 1, 2, 3, 4). Il est incontestable que le système nerveux intervient dans le maintien de la valeur de ce rapport K/Ca [5], [11], car après la dénervation de l'anse intestinale la variation des deux cations n'est plus synergique, mais tout à fait contraire (fig. 6). L'influence du K dans cette action de perméabilité dépend aussi de la nature de son anion. Dans le cas de CN<sup>-</sup> le dérèglement des mécanismes homéorhopiques est dû aux blocages des systèmes oxydatifs intracellulaires [28], [30], qui ont un effet plus accentué que la dénervation (fig. 5). La variation quantitative des deux cations, K et Ca, est de sens contraire, et a des valeurs beaucoup plus élevées (jusqu'à 75%) que dans le cas de la simple dénervation.

De tous ces résultats il ressort clairement que la perméabilité de l'épithélium intestinal du chien pour les cations dépend non seulement de la valeur du rapport K/Ca, mais aussi de la nature des anions qu'il contient, ainsi que de l'intégrité de la fonction oxydative de la cellule épithéliale.

Les variations oscillatoires de certaines valeurs cationiques ou de certains rapports des cations, comme il résulte de beaucoup de nos expériences (dans lesquelles les modifications du Tyrode ont été obtenues soit par l'augmentation de 2 ou 4 fois, soit par la diminution à moitié ou à un quart de la valeur normale du rapport K/Ca) démontrent l'intervention des mécanismes homéorhopiques. Ceux-ci sont plus efficaces pour de petits changements (comme il arrive dans l'organisme), que pour des modifications accentuées.

Il faut préciser qu'au niveau de l'intestin on a décrit l'existence des ionocepteurs [2], [3], [4], éléments nerveux qui déterminent sûrement la mise en marche des régulations homéorhopiques. A la suite de telles modi-

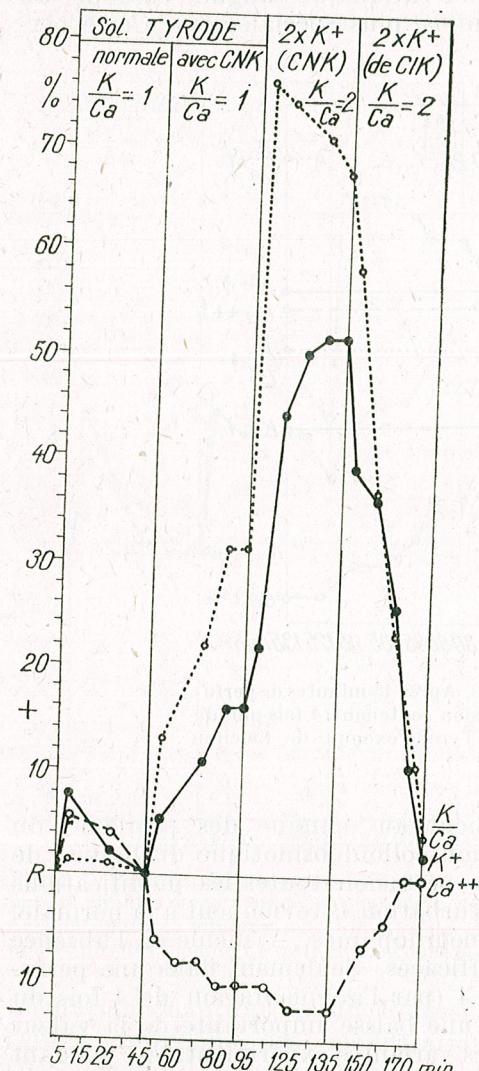


Fig. 5. — La même expérience que dans la fig. 1, mais l'enrichissement de Potassium est fait à l'aide de CNK.

fication la variation d'un ion est suivie d'une variation de même sens de l'autre ion antagoniste. Ce fait a été confirmé dans toutes nos expériences.

Dans le cas où le fonctionnement normal des ionocepteurs est altéré (par la dénervation et donc par la séparation du récepteur de son centre nerveux, ou par le blocage des réactions enzymatiques oxydatives et donc

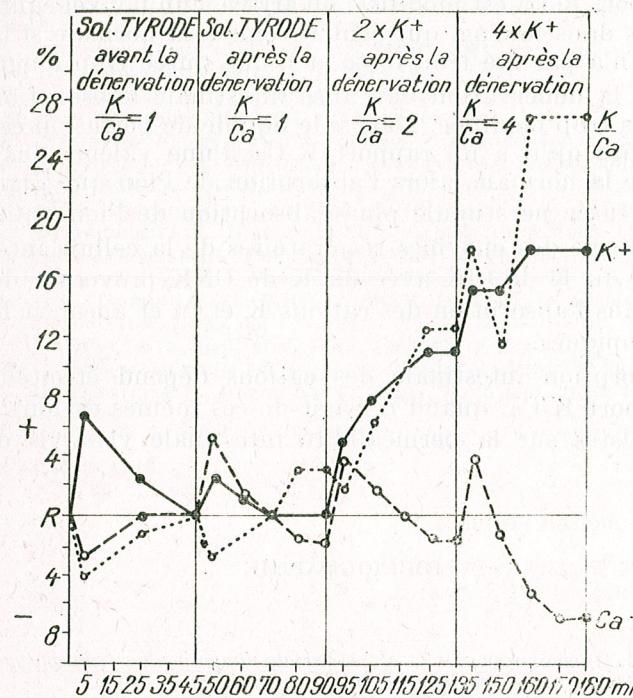


Fig. 6. — La même expérience que dans la fig. 1, mais perfusions avant et après la dénervation de l'anse intestinale. Le reste comme dans la fig. 1.

par manque de l'énergie), se produisent des modifications non synergiques (de sens contraire) entre les ions qui, normalement, sont dans un rapport rhopique bien déterminé.

#### CONCLUSIONS

1. La perfusion d'une anse intestinale avec du Tyrode normal (sans protéines) provoque certaines modifications dans le taux de K, de Ca ou de Na du sang mais pas dans la valeur du rapport K/Ca, qui après 45 minutes revient à la normale.
2. La modification de la concentration du K ou du Ca dans le liquide de perfusion, soit par l'augmentation, soit par la diminution de l'un ou de l'autre de ces cations, produit une intensification de l'absorption du

cation qui a augmenté, mais en même temps l'absorption de l'autre cation est aussi stimulée.

3. Les modifications des rapports cationiques du liquide de perfusion provoquent des modifications de même sens des rapports cationiques du sang de la même anse intestinale.

4. A la suite d'une perfusion de l'intestin avec un Tyrode dont la valeur du rapport K/Ca est modifiée, on arrive à un nouvel équilibre dynamique des ions dans le sang, qui peut revenir à la normale si la modification rhopique n'a pas été trop forte et d'une durée trop longue.

5. Après la dénervation de l'anse intestinale l'absorption du K ou du Ca n'est pas trop modifiée. Mais si le liquide de perfusion est non équilibré, c'est-à-dire qu'il a un rapport K/Ca d'une valeur plus grande ou plus petite que la normale, alors l'absorption de l'ion qui augmente dans la solution perfusée ne stimule plus l'absorption de l'ion antagoniste.

6. Le blocage des enzymes respiratoires de la cellule intestinale par le changement du K de CIK avec du K de CNK provoque des troubles fonctionnels dans l'absorption des cations K et Ca et anéantit les mécanismes homéorhopiques.

7. L'absorption intestinale des cations dépend étroitement de la valeur du rapport K/Ca, quand il s'agit de ces mêmes cations, qui ont des effets antagonistes sur la perméabilité intestinale vis-à-vis des cations.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. BOGATCHI P. G., DOBROVOLSKAYA Z. A., *Materialy simpozyuma fiziologii i patologii absorbtii v zheludotchno-kisetchnom trakte*, Odessa, 1960.
2. CERNIGOVSKIY V. N., *Interotseptory*, Medguiz., Moskva, 1960.
3. COTAESCU I., *Materia vie*, Ed. řtiint., Bucarest, 1968.
4. CRISTA N., *Contribuții la studiul excitabilității interoceptive intestinale* (Thèse de doctorat), 1965.
5. DOBROVOLSKAYA Z. A., *Rol guipotalamousa v regouliraniy protsesov absorbtii v tonkom kisetchinika* (Dizertsie), Kiev, 1957.
6. FAITELBERG R. O., Fiziol. Journal Akad. Naouk Ukrainskoy RSR, Kiev, 1963, **9**, 6, 794—804.
7. GRIM E., Amer. J. Digest. Diseases, 1962, **7**, 1, 17—27.
8. HARRIS J. B., EDELMAN I. S., Amer. J. Physiol., 1960, **198**, 2, 280—284.
9. HELBOCK H. J., FORTE J. G., SALTMAN O., Biochim. Biophys. Acta, 1966, **126**, 1, 81—83.
10. KAYSER CH., *Absorption de l'eau et des sels*, Physiologie, Ed. Méd. Flammarion, Paris, 1963, 384—388.
11. POP M., Fiziol. norm. patol., 1968, **14**, 1, 29—44.
12. PORA A. E., *Cercetări privind posibilitatea animalelor de a păstra în interiorul corpului lor un raport constant între ionii cu acțiuni antagoniste. Rapia și homeopatia*. Volum omagial Tr. Săvulescu, Ed. Acad., Bucarest, 1959, 633—637.
13. — Journ. Physiol. (Paris), 1958, **50**, 2, 464—465.
14. — Acta Biotheoretica (Leiden), 1962, Paris, 4, **15**, 161—174.
15. — *L'homéopathie, une notion à préciser dans la physiologie écologique*. Rapp. Pr. Verb. CIESMM, 1960, **15**, 3, 171—188.

16. PORA A. E., *Le facteur rapique et le métabolisme minéral*, Rap. la Prima Ses. Republ. de Fiziol. Anim. (Cluj), 1965. Rev. biol. S. Zool.; 1966, **11**, 2, 77—110.
17. — St. cerc. biol. (Cluj), 1960, **11**, 2, 395—398.
18. PORA A. E., GHIRCOAȘIU MARIA, LESNIC C., Studia Univ. Babeș-Bolyai (Cluj), Ser. II, 1959, **2**, 127—138.
19. PORA A. E., GHIRCOAȘIU MARIA, SCHWARTZ A., REJEP AURORA, Studia Univ. Babeș-Bolyai (Cluj), Ser. II, 1960, **2**, 247—252.
20. PORA A. E., ROȘCA I. D., STOICOVICI FLORICA, WITTENBERGER C., RUŞDEA DELIA, Comunic. Acad. R.P.R., 1960, **10**, 10, 839—846.
21. PORA A. E., STOICOVICI FLORICA, St. cerc. biol. (Cluj), 1961, **12**, 2, 267—274.
22. — St. cerc. biol. (Cluj), 1961, **12**, 1, 135—144.
23. — Rev. roum. biol. Série de Zoologie, 1964, **9**, 4, 257—270.
24. — St. cerc. biol. (Cluj), 1963, **14**, 1, 113—120.
25. PORA A. E., STOICOVICI FLORICA, RUŞDEA DELIA, WITTENBERGER C., KOLASSOVITS H., *La durée de la survie et la consommation d'oxygène chez Idothea baltica de la Mer Noire et chez Artemia salina lac sursalé de Techirghiol, en fonction de l'équilibre ionique du milieu extérieur*. Rapp. Pr. Verb. CIESMM, 1960, **15**, 3, 189—198.
26. PORA A. E., WITTENBERGER V., DIACIUC I., St. cerc. biol. (Cluj), 1963, **14**, 2, 293—298.
27. SCHACHTER DENISE, DOWDLE E., SCHENKER H., Amer. J. Physiol., 1960, **198**, 2, 263—268.
28. SJOERD L., BONTING M., Amer. J. Physiol., 1964, **207**, 5, 967—972.
29. SKLZHAROV J. P., IAREMKO E. E., Fiziol. J. SSSR, 1964, **50**, 10, 1989—1295.
30. SKOU J. C., Physiol. Rev., 1965, **45**, 1, 1—21.
31. SMYTH D. H., WHITTMAM R., Brit. Med. Bull., 1967, **23**, 3, 231—235.
32. TOMSOV B. N., *Osnovy biofiziki i biofizicheskie khimiya*, Moskva, Vyssaya skola, 1960.
33. ULMANN T. D., DIKSTEINE S., BERGMANN F., Amer. J. Physiol., 1960, **198**, 6, 1319—1322.

Reçu le 22 mars 1971

Faculté de Biologie, Cluj  
et

Faculté de Biologie, Timișoara  
Laboratoires de Physiologie animale

THE EVOLUTIVE INTERDEPENDENCE OF MEDULLARY  
BLOOD CELL SERIES AND ITS MODIFICATIONS DUE  
TO THE INTERACTION OF THE BIOFIELD WITH  
THE ARTIFICIAL ELECTROMAGNETIC FIELD

BY

C. SCHNELLER-PAVELESCU, ELENA CHERA and P. JITARIU

Using the formula presented in the text and standardizing it in comparison with controls, the following correlation coefficients were obtained between the cytological ranges of the myelogram :

1, for controls ; 0.93, after 5 experimental exposures ; 0.19, after 10 experimental exposures.

It was ascertained that as against controls, the interdependence between the cytological ranges steadily decreased after exposure to the electromagnetic fields, every range differing from the other one.

The examination of the myelograms obtained in the course of our investigation under three experimental conditions (controls, after 5 sittings and after 10 sittings in the electromagnetic field) pointed to quantitative and qualitative changes of the component elements. The question was posed, in this case, whether the physiological function and the myelogram resulting from medullary hematopoiesis is forming or not a functional whole with well established relations between its component elements. We dare say that we have tried to find out from the analysis of the obtained data whether there is any interdependence relation between the medullary cell series and in what way this interdependence changes when the biofield interacts with an artificial electromagnetic field. Therefore it was necessary to establish the coefficient of correlation by calculating average regression indices.

For this calculus we had to work out tables supplying the necessary data for the utilization of the general formula of these coefficients (indices). The elaboration of these tables is very difficult and requires special care. We shall present them at the proper place in the paper.

It is absolutely necessary that these three tables (controls, after 5 sittings and after 10 sittings in the electromagnetic field) should be altogether similar.

The tables include seven myelohematopoietic cytological series, i.e. 1) the erythroblastic series (E); 2) the leukocytic series (L); 3) the lymphocytic series (Lph); 4) the megakaryocytic series (Mg); 5) the reticulohistiomonocytic series (RHM); 6) the plasmocytic series (P) and 7) the hemohistiocytoblastic series (H).

The number of evolutive stages of each hematomedullary cell series is different, varying with each cytological series as follows: 1) E = 5 stages; 2) L = 7 stages; 3) Lph = 3 stages; 4) Mg = 2 stages; 5) RHM = 3 stages; 6) P = 2 stages and H = 2 stages.

One should notice that the tables include seven medullary cytological series. The evolution, or better said maturation stages vary with the respective cytological series but do not exceed the number of seven stages, required by the accuracy of the table, since the maximum number of horizontal columns showing the number of performed myelograms and homogeneously distributed in each evolutive stage, should not exceed the number of columns, including the seven cytological series, as mentioned above.

We have denoted by  $x_i$  the evolutive stages of the cellular series and by  $y_j$  these of the cytological series; it is obvious that the values of both  $i$  and  $j$  may range between 1 and 7, according to their place in the table.

For calculation purposes  $y = M \cdot 10^{-3}$ . Moreover, a correction was also necessary: as the count of hematopoietic marrow nucleated elements per cmmm is generally performed without the possibility of differentiating cells by their series and as the myelogram included only percentage values, it was necessary to calculate from these percentages the numerical elements per volume unit. As already mentioned, 10 myelograms were performed for each of the 15 rabbits, out of a group of 30 rabbits finally selected as presenting positive myelograms, both from a technical viewpoint and from the microscopic aspect of the slides. In each experimental group 150 myelograms were performed on the whole.

Considering that the columns recording the number of myelograms for each evolutive stage should be homogeneously completed, the following calculation results were obtained:

$$\frac{150}{5 + 7 + 3 + 2 + 3 + 2 + 2} = \frac{150}{24} = 6.25$$

Hence, for each evolutive stage 6.25 myelograms were performed. This should not puzzle us, for we have considered the 150 myelograms as a compact whole, almost as a single large myelogram, which was homogeneously distributed both by cytological series and by evolutive stages.

The 8th horizontal column, denoted  $n_i$ , intersects the 8th column, denoted  $n_i$ ; it is easily noticed that

$$\sum_{i=1}^s n_i \sum_{j=1}^p n_j = n = 150.$$

In these tables, the values of  $i$  may range from 1 to  $s$ , where  $s_{\max} = 7$  and values  $j$  from 1 to  $p$  where  $p_{\max} = 7$ . The same relation may be written also as follows:

$$\sum_1^s x_i = \sum_1^p y_i = 150$$

as seen from the table.

Our tables also included four headings on the horizontal column and four headings on the vertical column. It is necessary to present these headings in detail, as they are the constituent elements of the general formula used by us for calculating the  $\gamma_{xy}$  index.

#### Vertical headings:

— Column 9 =  $n_i y_j =$

$$\begin{aligned} (5 \times 6.25) \cdot 1.14297 &= 35.68 \\ (7 \times 6.25) \cdot 1.1576398 &= 68.89 \\ (3 \times 6.25) \cdot 2.417184 &= 45.31 \\ (2 \times 6.25) \cdot 0.903392 &= 11.30 \\ (3 \times 6.25) \cdot 2.821574 &= 52.89 \\ (2 \times 6.25) \cdot 0.448644 &= 5.60 \\ (2 \times 6.25) \cdot 0.711116 &= 8.88 \\ &\hline 228.55 \end{aligned}$$

— Column 10 =  $n_i y_j^2 =$

$$\begin{aligned} (5 \times 6.25) \cdot (1.14297)^2 &= 40.612+ \\ (7 \times 6.25) \cdot (1.1576398)^2 &= 107.832 \\ (3 \times 6.25) \cdot (2.417184)^2 &= 108.901 \\ (2 \times 6.25) \cdot (0.903392)^2 &= 10.125 \\ (3 \times 6.25) \cdot (2.821574)^2 &= 148.051 \\ (2 \times 6.25) \cdot (0.448644)^2 &= 2.420 \\ (2 \times 6.25) \cdot (0.711116)^2 &= 6.301 \\ &\hline 424.249 \end{aligned}$$

— Column 11 =  $\sum_1^s n_{ij} x_i$ :

$$\begin{aligned}
 (1 \times 6.25) + (2 \times 6.25) + (3 \times 6.25) + (4 \times 6.26) + (5 \times 6.25) &= \\
 &= 93.75 \\
 (1 \times 6.25) + (2 \times 6.25) + (3 \times 6.25) + (4 \times 6.25) + (5 \times 6.25) + \\
 (6 \times 6.25) + (7 \times 6.25) &= 175.00 \\
 \times 6.25) + (2 \times 6.25) + (3 \times 6.25) &= 37.50 \\
 (1 \times 6.25) + (2 \times 6.25) &= 18.75 \\
 1 \times 6.25) + (2 \times 6.25) + (3 \times 6.25) &= 37.50 \\
 (1 \times 6.25) + (2 \times 6.25) &= 18.75 \\
 (1 \times 6.25) + (2 \times 6.25) &= \underline{18.75} \\
 &= 400.00
 \end{aligned}$$

— Column 12 :  $y_j \sum_1^s n_{ij} x_i$ :

$$\begin{aligned}
 93.75 \times 1.14297 &= 107.06 \\
 175.00 \times 1.576398 &= 275.70 \\
 37.50 \times 2.417184 &= 90.63 \\
 18.75 \times 0.903392 &= 16.93 \\
 37.50 \times 2.821574 &= 105.78 \\
 18.75 \times 0.448644 &= 8.40 \\
 18.75 \times 0.711116 &= \underline{13.35} \\
 &= 617.85
 \end{aligned}$$

#### Horizontal headings

— Line 9 :  $n_j x_i$ :

$$\begin{aligned}
 1 \times 7.625 &= 43.75 \\
 2 \times 7.6.25 &= 87.50 \\
 3 \times 4.6.25 &= 75.00 \\
 4 \times 2.6.25 &= 50.00 \\
 5 \times 2.6.25 &= 62.50 \\
 6 \times 1.6.25 &= 37.50 \\
 7 \times 1.6.25 &= \underline{43.75} \\
 &= 400.00
 \end{aligned}$$

— Line 10 :  $n_j x_i^2$ :

$$\begin{aligned}
 1^2 \times 7.6.25 &= 43.75 \\
 2^2 \times 7.6.25 &= 175.00 \\
 3^2 \times 4.6.25 &= 225.00 \\
 4^2 \times 2.6.25 &= 200.00 \\
 5^2 \times 2.6.25 &= 312.50 \\
 6^2 \times 1.6.25 &= 225.00 \\
 7^2 \times 1.6.25 &= \underline{306.25} \\
 &= 1487.50
 \end{aligned}$$

— line 11 =  $\sum_1^p n_{ij} y_i$ :

$$\begin{aligned}
 C_1) 6.25 \times 1.14297 &+ \\
 6.25 \times 1.576398 &+ \\
 6.25 \times 2.417184 &+ \\
 6.25 \times 0.903392 &+ \\
 6.25 \times 2.821571 &+ \\
 6.25 \times 0.448644 &+ \\
 6.25 \times 0.711116 &= 62.59
 \end{aligned}$$

C<sub>2</sub>) 62.59

$$\begin{aligned}
 C_3) 6.25 \times 1.14297 &+ \\
 6.25 \times 1.576398 &+ \\
 6.25 \times 2.417184 &+ \\
 6.25 \times 2.821574 &= 49.71
 \end{aligned}$$

C<sub>4</sub>) 6.25 × 1.14297

$$6.25 \times 1.576398 = 16.98$$

C<sub>5</sub>) 16.98

$$C_6) 6.25 \times 1.576398 = 9.85$$

C<sub>7</sub>) 9.85

Hence : 2 × 62.59 +

$$49.71 +$$

$$2 \times 16.98 +$$

$$2 \times \underline{9.85}$$

$$228.55$$

— line 12 :  $x_i \sum_{j=1}^p n_{ij} y_j$ :

$$\begin{aligned}
 (62.59 \times 1) &= 62.59 \\
 62.59 \times 2 &= 125.48 \\
 94.71 \times 3 &= 148.53 \\
 16.98 \times 4 &= 67.90 \\
 16.98 \times 5 &= 84.90 \\
 9.85 \times 6 &= 59.40 \\
 9.85 \times 7 &= 68.95 \\
 &\quad \underline{617.85}
 \end{aligned}$$

We have enlarged upon the mode of constructing the control experimental group table. Tables of the modifications obtained in experimental groups submitted to 5 and 10 sittings in the artificial electromagnetic field were built up similarly. Calculations were also made by identical methods.

The tables worked out by us include the elements of the formulæ used by us, as given below :

$$\text{r}_y = \frac{n \sum_{j=1}^p (y_j \sum_{i=1}^s n_{ij} x_i) - (\sum_{j=1}^p n_j x_j) (\sum_{j=1}^p n_j y_j)}{\sqrt{[n \sum_{i=1}^s n_i x_i^2 - (\sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^s n_{ij} x_i)^2] [n \sum_{j=1}^p n_j y_j^2 - (\sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^p n_{ij} y_j)^2]}}$$

In this formula :

$$n = \sum_{j=1}^p n_j = \sum_{i=1}^s n_i$$

Fig. 1

One may notice that in the above formula the data recorded in the table should be replaced.

In these tables, the horizontal columns represent the evolutive stages as already mentioned and the vertical columns represent the hematomedullary cytological series.

The first table represents the control series.

The other tables are for the experimental series subjected to 5 and 10 sittings in the artificial electromagnetic field :

Let us write now the above formula, where symbolic data are replaced by the data obtained from the calculations recorded in the three tables.

Table 1

Nr. crt.	Indication	C <sub>1</sub>		C <sub>2</sub>		C <sub>3</sub>		C <sub>4</sub>		C <sub>5</sub>		C <sub>6</sub>		C <sub>7</sub>		n <sub>i</sub>	n <sub>i</sub> Y <sub>j</sub>	n <sub>i</sub> Y <sub>j</sub> <sup>2</sup>	$\sum_{j=1}^s n_{ij} X_1$	$\sum_{j=1}^s n_{ij} Y_1$	$\sum_{j=1}^s n_{ij} X_1 Y_1$	
		1	2	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	6	7							
1	E	1142.97		6.25	6.26	6.25	6.25									31.25	35.68	40.612	93.75	107.06		
2	L	1576.398		6.25	6.25	6.25	6.25									43.75	68.89	107.832	175.00	275.70		
3	L.F.	2417.184		6.25	6.25	6.25	6.25									18.75	45.31	108.901	37.50	90.63		
4	Mg	903.392		6.25	6.25	6.25	6.25									12.50	11.30	10.125	18.75	16.93		
5	RHM	2821.574		6.25	6.25	6.25	6.25									18.75	52.89	148.051	37.50	105.78		
6	P.	448.644		6.25	6.25	6.25	6.25									12.50	5.60	2.420	18.75	8.40		
7	H.	711.116		6.25	6.25	6.25	6.25									12.50	8.88	6.301	18.75	13.35		
8		n <sub>j</sub>		43.75	43.75	25.00	12.50									150.00	228.55	424.242	400.00	617.85		
9		n <sub>i</sub> X <sub>i</sub>		43.75	87.50	75.00	50.00									37.50	43.75	40.00				
10		n <sub>j</sub> X <sub>i</sub> <sup>2</sup>		43.75	175.00	225.00	200.00									312.50	225.00	306.25	1487.50			
11		$\sum_{j=1}^s n_{ij} Y_j$		62.59	62.59	49.71	16.98									9.85	9.85	228.55				
12		$\sum_{i=1}^p n_{ij} Y_j$		62.59	125.48	148.53	67.90									84.90	68.95	617.85				

$y_j = M \cdot 10^{-3}$

The control series

Table 2

$\frac{x}{N}$	Indication (M)	Average $x_i$	$C_1$	$C_2$	$C_3$	$C_4$	$C_5$	$C_6$	$C_7$	$n_i$	$n_i Y_j$	$n_j Y_i^2$	$\sum_i n_{ij} X_i$	$y_i \sum_i n_{ij} X_i$
		$y_j$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	E	1336.320	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	—	—	31.25	41.75	55.75	93.75	125.25
2	L	1522.176	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	43.75	66.55	101.32	175.00	266.35
3	Lf.	1920.000	6.25	6.25	6.25	—	—	—	—	18.75	36.00	69.18	37.50	72.00
4	Mg	1070.592	6.25	6.25	—	—	—	—	—	12.50	13.36	14.33	18.75	20.00
5	RHM	3168.768	6.25	6.25	—	—	—	—	—	18.75	59.40	188.17	37.50	118.75
6	P.	411.648	6.28	6.25	—	—	—	—	—	12.50	5.13	2.10	18.75	7.70
7	H.	645.120	6.25	6.25	—	—	—	—	—	12.50	8.06	5.20	18.75	12.08
8		$n_j$	43.75	43.75	25.00	12.50	12.50	6.25	6.25	15.00	230.25	436.05	400.00	622.13
9		$n_j x_i$	43.75	87.50	75.00	50.00	62.50	37.50	43.75	40.00				
10		$n_j x_i^2$	43.75	175.00	225.00	200.00	312.50	225.00	306.25	1487.50				
11		$\sum_i n_{ij} Y_i$	62.88	62.88	49.75	17.86	17.86	9.51	9.51	230.25				
12		$x_i \sum_i n_{ij} Y_j$	62.88	125.78	148.99	71.45	89.30	57.16	66.57	622.13				

$$y_i = M \cdot 10^{-3}$$

After 5 sittings

Table 3

$\frac{x}{N}$	Indication (M)	Average $x_i$	$C_1$	$C_2$	$C_3$	$C_4$	$C_5$	$C_6$	$C_7$	$n_i$	$n_i Y_j$	$n_j Y_i^2$	$\sum_i n_{ij} X_i$	$y_i \sum_i n_{ij} X_i$
		$y_j$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	E	1086.222	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	—	—	31.25	33.93	39.69	93.75	101.10
2	L	2136.936	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	43.75	93.45	426.13	175.00	373.10
3	Lf.	2077.218	6.25	6.25	6.25	—	—	—	—	18.75	38.94	167.83	37.50	77.80
4	Mg	1407.408	6.25	6.25	—	—	—	—	—	12.50	17.58	34.63	18.75	26.30
5	RHM	2575.944	6.25	6.25	6.25	—	—	—	—	18.75	48.27	320.09	37.50	99.13
6	P.	382.518	6.25	6.25	—	—	—	—	—	12.50	4.77	0.66	18.75	7.06
7	H.	405.114	6.25	6.25	—	—	—	—	—	12.50	5.06	0.80	18.75	7.35
8		$n_j$	43.75	43.75	25.00	12.50	12.50	6.25	6.25	15.00	242.00	989.83	400.00	691.84
9		$n_j x_i$	43.74	87.50	75.00	50.00	62.50	37.50	43.75	40.00				
10		$n_j x_i^2$	43.75	175.00	225.00	200.00	312.00	225.00	306.25	1487.50				
11		$\sum_i n_{ij} Y_i$	62.90	62.90	49.24	20.13	20.13	13.35	13.35	242.00				
12		$x_i \sum_i n_{ij} Y_j$	62.90	125.80	147.72	80.62	100.65	80.50	93.65	691.84				

$$y_i = M \cdot 10^{-3}$$

After 10 sittings

1) For the control group :

$$= \frac{(150 - 617.85) - 400 \times 228.55}{\sqrt{[(150 \times 1487.50) - (400)^2][(150 + 424.249) - (228.55)^2]}}$$

2) For the group submitted to 5 sittings in the artificial electromagnetic field

$$= \frac{(150 \times 622.13) - (400 \times 230.25)}{\sqrt{[(150 \times 1487.50) - (400)^2][150 \times 436.05) - (230.2)^2]}}$$

3) For the group submitted to 10 sittings in the artificial electromagnetic field

$$= \frac{(150 \times 691.84) - (400 \times 242)}{\sqrt{[(150 \times 1487.50) - (400)^2][(150 \times 989.83) - (242.00)^2]}}$$

The calculation of the above relations yielded the following correlation coefficient :

- in the control group : 0.0468
- in the group submitted to 5 sittings : 0.0436
- in the group submitted to 10 sittings : 0.0092

As against the control group the correlation coefficient evolved as following :

- control : 1
- After 5 sit. : 0.93
- After 10 sit. : 0.19

One may bring all these data to the origin by subtracting 1 from those figures and we obtain :

- control : 0
- After 5 sit. : 0.07
- After 10 sit. : 0.81

This could be plotted on a graph as follows :

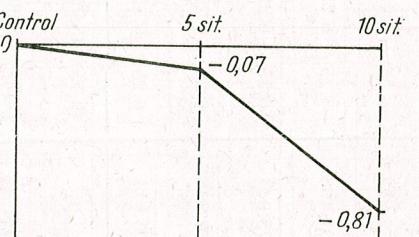


Fig. 2

The results obtained by us show that the interaction of the biofield with the artificial e.m.f. results in a marked decrease of the correlation coefficient, hence, of the interdependence between the cytological series of hematopoietic marrow. The conclusion could be drawn that the cyto-

logical complex of the bone marrow formed a functional whole, to which organic unity might be assigned, the same as for other organs.

Before proceeding further, the validity of our calculus must be discussed first, from the viewpoint of the calculation technique and, second, from the viewpoint of its correct interpretation. The answer to the first question is that we have used a calculation technique already employed in other studies and expounded in different treatises and speciality handbooks. Besides, by similitude we used a calculation model not yet employed in biology. Here the question is whether a complex biological phenomenon like hematopoiesis which is still very much dependent on very many unknown factors might be so easily included in our study of the assessment of the interdependence of the cytological series.

The accuracy of interpretation is questioned because the correlation index ranging between  $\pm 1$  and 0 does not permit two high deviations, especially for simple phenomena which depend on a small number of variables. The figures obtained by us are rather low but we have taken them into consideration only because the complexity of the phenomenon is too great while the correlation coefficient decreases as against controls.

We think that most important in this study is the approach to the problem by which the hematopoietic marrow acquires an almost organic character.

Taking into account the very important part played by the blood in the organism, which so far has been considered only from the angle of each cell series one may foresee the role of the hematopoietic marrow viz, an organic whole which may play a part in the organism by its global activity. Viewed in this way, the question of the role of the blood and of hematopoietic organs, especially of bone marrow, appears in a new light, bringing again to the fore the study of the blood from other viewpoints than the ones discussed so far.

Received February, 17, 1971

The Biological Research Center  
Jassy  
Department of Animal Physiology

MODIFICATIONS OF THE PERIPHERAL LEUKOGRAM  
BY THE INTERACTION OF THE BIOFIELD AND  
ARTIFICIAL ELECTROMAGNETIC FIELD

BY

P. JITARIU, C. SCHNELLER-PAVELESCU and ELENA CHERA

The interaction between the biofield and the artificial electromagnetic field modified the peripheral leukogram in rabbits as follows :

1. The number of leucocytes per mm is increased.
2. The redistribution of the formula of leucocytic elements is to the effect that the neutrophilous polynuclei decreased while the monocytes, basophils and lymphocytes increased.

A homogeneous group of 20 adult rabbits (9 males and 11 females) weighing between 1700 and 2000 g was used in our investigation. Rabbits were exposed to a rectangular pulsating electromagnetic field with one-second pause after three seconds of excitation, for 10 consecutive days. Each experiment lasted three minutes.

The observations made when starting the experiments on the interaction between the biofield and the artificial electromagnetic field, will be presented in a separate paper.

The experimental procedure has been described by us in the paper "Normal myelogram in the rabbit", dealing with the controls selected by us.

Pipette samplings were taken for leucocyte counts and the leukogram was established by smears on slides; 148 leucocyte counts were made in all : 52 controls, and 48 after the 5th and 10th exposure, respectively to the electromagnetic field. Eight WBC were carried out for each rabbit, amounting to 464 WBC, distributed as follows : 160 before exposure to the electromagnetic field and 152 after the 5th and 10th experiment, respectively. Slides were stained according to the May-Grünwald-Giemsa technique as used in man as well.

## RESULTS

a) The influence of the interaction between the biofield and the artificial electromagnetic field (EMF) on the leucocyte count.

Analysis of Table 1, containing the results of counts made as already shown, points out that homeostasis limits are not exceeded.

The following statistical indices were calculated: arithmetical mean ( $M_a$  = No. leucocytes/cmm), % variation, standard deviation ( $\sigma$ ), variability coefficient ( $V_c$ ) and the Student mean error (Em. t), as shown in the table

Table 1

Group	No.leuc. cmm $M_a$	Variation %	$\sigma$	$V_c$	Em. t
Control	7024	—	1458	20	686
After 5 exp.	7878	12.158	1351	17	682
After 10 exp.	8562	21.896	1259	14	637

Examination of the data presented in Table 1 emphasizes that the interaction between the biofield and the artificial EMF results in the increase of the leukocyte count, i. e.: after 5 and 10 exposures there is a 12.158 % and 21.896 % increase, respectively. A simultaneous decrease is observed in the standard deviation ( $\sigma$ ) and the variability coefficient ( $V_c$ ), while the corrected mean error (Student) is almost constant, ranging between the admitted limits of the leukogram.

## b) Influence of the interaction between the biofield and the artificial EMF on the WBC.

The following table presents the mean WBC for the 464 leukograms as well as their percentage variations.

Table 2

Leucocyte	% Control			Variation % $\pm$	
	Control	After 5 exp. EMF	After 10 exp. EMF	After 5 exp. EMF	After 10 exp. EMF
Neutrophils	56.375	48.039	38.118	-14.785	-32.385
Eosinophils	0.875	1.434	1.026	+63.890	+17.600
Basophils	2.350	3.500	3.947	+48.936	+67.000
Lymphocytes	38.475	44.131	53.052	+14.131	+37.575
Monocytes	1.425	2.302	3.447	+61.543	+141.894
Intermediary WBC	0.350	0.539	3.394	+54.000	+11.420

A new distribution of the leucocytes is observed, yet within the homeostasis limits.

To emphasize the variations of Fig. 1, a graph is given below.

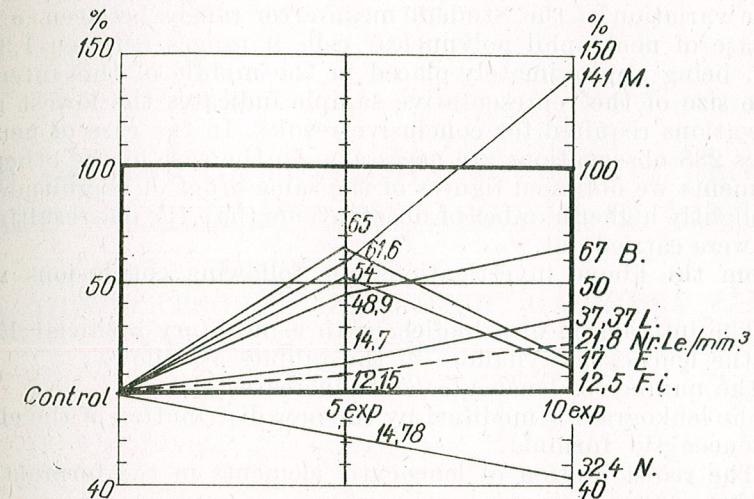


Fig. 1. — Percentage variations of the Leucogram. M, Monocytes; B, Basophil cells; L, Lymphocytes; Nr. Leucocytes number/mm<sup>3</sup>; E, Eosinophil cells; F. i., Intermediary form; N, Neutrophil cells.

Table 2 points out that the interaction between the biofield and the artificial EMF results in a decrease of polynuclear cells throughout the experiment. Simultaneously, basophil polynuclear cells, lymphocytes and monocytes exhibit a percentage increase. Eosinophil polynuclear cells and intermediary forms after having increased start decreasing tending to fall within early values. Table 2 shows that monocytes recorded most significant percentage increases, followed by basophils and lymphocytes.

The statistical calculation of these data is given in Table 3

Table 3 evidences that neutrophil polynuclear cells and lymphocytes are the most homogeneous leucocytic group displaying very little standard deviation, with small modifications in the course of the experiment.

Table 3

Leucocyte	$\sigma$			eM.t		
	Control	After 5 exp. EMF	After 10 exp. EMF	Control	After 5 exp. EMF	After 10 exp. EMF
Neutrophils	5.529	4.312	5.716	4.192	3.430	3.605
Eosinophils	0.380	0.682	0.516	0.288	0.547	0.414
Basophils	1.026	4.326	0.366	0.686	0.322	0.294
Lymphocytes	4.892	3.952	6.470	3.784	3.171	5.194
Monocytes	0.966	1.194	1.112	0.631	0.913	0.892
Intermediary WBC	0.277	0.787	0.322	0.212	0.656	0.236

The absolute mean was found to range between the sum and the difference of the arithmetical mean and the mean Student error. In the case of neutrophils, the absolute mean ranges between  $56.375 \pm 4.195$ , i.e. between 52.183 and 60.567.

The variation of the Student mean error ranges between  $\sigma \pm eMt$ . In the case of neutrophil polynuclear cells it ranges between 1.337 and 9.721 %, being approximately placed in the middle of this interval.

The size of the representative sample indicates the lowest number of observations required for conclusive results. In the case of neutrophil leucocytes 288 observations are necessary. In the case of the other leucocytic elements we obtained figures of the same order of magnitude.

A slightly higher number of observations than the one resulting from calculus were carried out.

From the above investigations the following conclusions may be drawn :

1. The interaction of a biofield with a pulsatory artificial EMF influences the leucocytic dynamics in the rabbits as follows :
  - a) the number of leucocytes/cmm increases and
  - b) the leukogram is modified by the new distribution of the elements of the leucocytic formula.
2. The redistribution of leucocytic elements in the formula occurs as following :
  - a) Increase of lymphocytes, monocytes and basophils and
  - b) Decrease of neutrophil polynuclear cells.

Received February 17, 1971

*The Biological Research Center, Yassy  
Department of Animal Physiology*

## SOME ASPECTS OF TETRAXIN ACTION ON PROTEIC AND NUCLEIC ACID METABOLISM IN RATS\*

BY

ELENA HEFCO, CSÖNGE BRANDSCH, GABRIELA LINK and  
P. JITARIU

Tetraxin action on weanling rat growth, NPN, PN, RNA, DNA and RNA/DNA ratio in tissues, serum GOT and GPT activities, plasma N-NH<sub>2</sub>, urea, creatinine, ammonia, tissue lipid and water contents were determined.

We observed a significant gain in body weight, an increase of RNA and DNA content in the muscle, without any change in the per cent protein content, i.e. an increase of body muscular mass; a slight decrease in plasma N-NH<sub>2</sub> and a slight increase of serum GOT and GPT activities. The other parameters did not change.

We conclude that the action of this biostimulator on the animals is a complex one, being the result of both the direct and indirect action on the animal organism.

Since 1945, when antibiotics became available for non-medical experiments, they were fed to animals with the aim at inactivating completely all bacteria in the intestinal tract. Thus, researchers hoped to obtain an essentially sterile animal, on which they could study vitamin requirements uncomplemented by "intestinal vitamins" or "toxic substances". Feeding succinylsulfathiazole, streptomycin, or a combination of both these substances failed to produce a sterile intestinal tract, and the results in animal growth were the opposite of those expected; the chicks fed sulfadrugs gained 10–30% more weight than control chicks. The authors suggested "the inhibition of certain bacterial groups which might decrease the growth of the animal through either a) consumption and consequent immobilization of vitamins, or b) production of toxic compounds. However, the possibility that c) these agents could act systemically should not be overlooked" [29].

\* This work was supported by the Yassy Antibiotic Factory

Subsequently, it was reported that dried penicillium mycelium, fed in chick's ration resulted in an evident gain in growth [32], and in 1948, chlortetracycline in the diet was also found to increase the growth rate in chicks [17]. The effect of antibiotics on growth was confirmed in 1949, when the beneficial effect of feeding antibiotic fermentation residues in plant protein diets was found to be greater than could be attributed to the vitamin  $B_{12}$  content of the residues [41]. The active factor was found to be the residual antibiotic [42].

Since 1950, growth stimulation by dietary antibiotics was reported in chicks by many investigators [4], [15], [43], [45]; geese, pheasants, turkeys, pigs, calves, mink, rats and men also responded to the stimulus of antibiotics.

This paper records the findings of our research aimed at establishing the action of a biostimulator manufactured by the Yassy Antibiotic Factory (tetraxin-containing 4% tetracycline) on protein and nucleic acid metabolism in rats.

For this purpose we determined the gain in body weight, protein- and non-protein nitrogen in the blood, muscle and liver; plasma amino nitrogen; creatinine, urea and ammonia; serum glutamate-oxalacetate-transaminase (GOT) and glutamate-pyruvate-transaminase (GPT) activities; ribonucleic acids (RNA) and deoxyribonucleic acid (DNA) in the muscle and liver; total liver lipid content and liver and muscle water content.

#### MATERIALS AND METHODS

Male Wistar rats weighing 60—100 g. and others weighing 35—50 g. were used. The animals were fed a complete standard diet (after McColum) [27] and water ad libidum. To the diet of the treated group 50, 100, 200 and 500 parts per million (ppm) antibiotic were added. The gain in body weight was determined four weeks later, when the animals were sacrificed by decapitation, after which blood was collected and liver and muscle excised.

Protein nitrogen (PN) and non-protein nitrogen (NPN) were assayed by micro-Kjeldhal method [1], [2], total amino nitrogen according to Moore and Stein [30], [31], and total protein by Lowry procedure [24]. Blood creatinine was determined with Jaffé reaction [19, 38], urea according to Michon and Arnaud [28], and ammonia by Conway's method [10, 11, 14]. Serum GOT and GPT activities were assayed by the colorimetric method of Reitman and Frankel [39]. The nucleic acid content of tissues was estimated by a modified Schmidt-Thannhauser procedure [9], [20], [23], [37], [40].

Total lipid content was determined by the method of Folch et al. [13] and tissue water was evaluated as the difference between wet and dried tissue weight. The results were statistically analysed using Student's *t* test.

#### RESULTS

At first, we checked the antibiotic level which produced the highest gain in rat growth, feeding 50, 100, 200 and 500 ppm tetraxin (calculated to tetracycline content). Maximum gain in rat body weight was obtained with 200 ppm; on bigger concentrations of antibiotics in the diet, the gains in body weight were less as compared with controls. We adopted the level of 200 ppm.

Table 1  
Gain in body weight (g.) after four weeks of tetraxin feeding (except group VI—after three weeks)

Group	Treatment	Number of rats	$\bar{X} \pm S.E.$	p	Difference %
I	Control Tetraxin	17 24	$69.6 \pm 2.11$ $69.5 \pm 2.13$	N.S.	
II	Control Tetraxin	15 15	$75.5 \pm 1.82$ $86.3 \pm 0.93$	$p < 0.001$	14%
III	Control Tetraxin	23 24	$79.4 \pm 3.8$ $92.3 \pm 2.8$	$0.01 < p < 0.02$	16%
IV	Control Tetraxin	17 19	$64.1 \pm 2.1$ $74.9 \pm 3.4$	$0.01 < p < 0.02$	16%
V	Control Tetraxin	6 8	$54.0 \pm 4.5$ $64.8 \pm 3.5$	$p < 0.05$	12%
VI	Control Tetraxin	28 38	$52.2 \pm 1.53$ $58.7 \pm 1.44$	$0.01 > p > 0.002$	12%

$\bar{X}$ —mean  
S.E.—standard error

When tetraxin (200 ppm) was fed to rats with initial weight of 60—100 g., after four weeks, we did not observe differences in body weight gains between tetraxin-treated and control groups (Table 1, group I). When tetraxin feeding was initiated to rats weighing 35 to 50 g., after four weeks, a significant increase in body weight occurred (Table 1, groups II—VI), the per cent differences being of 12—16.

All metabolic parameters investigated were determined on rats which had an initial weight of 35—50 g. and were fed with 200 ppm tetraxin.

In order to establish if the gain obtained in body weight after four weeks of tetraxin feeding is a consequence of biostimulator action on protein metabolism, we determined some indices as: PN, NPN and total amino nitrogen. Table 2 illustrates the NPN in serum, muscle and liver. No differences existed between tetraxin-treated and control groups. Likewise, no differences were found in protein content in serum, liver and muscle between the two groups (Table 3) as results were expressed as g./100 g. tissue.

Tetraxin feeding led to a slight decrease in total plasma amino nitrogen as compared with controls (Table 4).

Table 2

## Non-protein nitrogen content (mg. %)

	Group	Number of animals	X ± S.E.	p
SERUM	Control	12	40.7 ± 1.2	N.S.
	Tetraxin	16	39.3 ± 1.02	
MUSCLE	Control	12	249.3 ± 5.9	N.S.
	Tetraxin	13	250.1 ± 5.08	
LIVER	Control	11	151.4 ± 5.86	N.S.
	Tetraxin	12	152.7 ± 5.52	

Table 3

## Total protein content (g./100 g. tissue or 100 ml. blood)

	Group	Number of animals	X ± S.E.	p
SERUM	Control	16	5.92 ± 0.27	N.S.
	Tetraxin	15	6.11 ± 0.27	
LIVER	Control	11	22.2 ± 0.31	N.S.
	Tetraxin	16	21.6 ± 0.35	
MUSCLE	Control	13	21.88 ± 0.9	N.S.
	Tetraxin	14	21.01 ± 1.6	

Table 4

Total plasma amino nitrogen (mg. N-NH<sub>2</sub>/100 ml.)

Group	Number of rats	X ± S.E.	p
Control	12	7.1 ± 0.34	N.S.
Tetraxin	24	6.7 ± 0.12	

In order to assess protein metabolism, one can use other criteria including measurements of ammonia, creatinine and urea blood levels [1]. No changes were observed in rats fed tetraxin in regard to ammonia (Table 5), creatinine (Table 6) and urea (Table 7) blood levels.

With the aim at establishing if the gain observed in body weight of rats fed tetraxin was due or not to a water accumulation in the tissues, we determined the liver and muscle water content (Table 8), but no differences were registered. Likewise, no increase in the liver lipid content (Table 9) was found.

At the same time, the RNA and DNA content and RNA/DNA ratio in liver and muscle were followed. A very significant increase in muscle RNA and DNA content was obtained without any change in the RNA/DNA ratio. Conversely, no significant changes in the RNA, DNA content and RNA/DNA ratio occurred in the liver (Table 11).

Table 5

## Blood ammonia level (μg/ml)

Group	Number of animals	X ± S.E.	p
Control	23	2.3 ± 0.21	N.S.
	19	2.5 ± 0.29	

Table 6

## Serum creatinine (mg% ml)

Group	Number of rats	X ± S.E.	p
Control	13	1.09 ± 0.04	N.S.
	17	1.18 ± 0.06	

Table 7

## Blood urea content (mg/100 ml.)

Group	Number of animals	X ± S.E.	p
Control	18	29.5 ± 2.1	N.S.
	15	29.7 ± 0.9	

Table 8

## Tissue water content (g./100 g. tissue) after tetraxin feeding

Group	Group	Number of rats	X ± S.E.	p
MUSCLE	Control	19	74.8 ± 0.38	N.S.
	Tetraxin	30	75.1 ± 0.12	
LIVER	Control	19	69.8 ± 0.20	N.S.
	Tetraxin	30	69.5 ± 0.12	

Table 9

## Liver lipid content after tetraxin administration (g. % g. tissue)

Group	Number of rats	X ± S.E.	p
Control	17	5.96 ± 0.24	N.S.
	24	5.93 ± 0.14	

Table 10  
Serum GOT and GPT activities (mg. pyruvate/ml./h)

Group	Group	Number of animals	$X \pm S.E.$	p
GOT	Control	16	235.23 $\pm$ 15.6	N.S.
	Tetraxin	17	259.75 $\pm$ 14.2	
GPT	Control	12	144.0 $\pm$ 8.9	N.S.
	Tetraxin	16	162.9 $\pm$ 12.2	

Table 11  
Tissue nucleic acid content (mg./100 mg. tissue) after tetraxin feeding

	Tissue	Group	Number of animals	$X \pm S.E.$	p
R.N.A.	Liver	Control	16	1.29 $\pm$ 0.024	N.S.
		Tetraxin	24	1.35 $\pm$ 0.020	
D.N.A.	Muscle	Control	18	0.230 $\pm$ 0.009	$p < 0.001$
		Tetraxin	17	0.322 $\pm$ 0.007	
R.N.A./D.N.A.	Liver	Control	17	0.315 $\pm$ 0.006	N.S.
		Tetraxin	18	0.327 $\pm$ 0.016	
	Muscle	Control	14	0.072 $\pm$ 0.002	$p < 0.05$
		Tetraxin	15	0.081 $\pm$ 0.003	
	Liver	Control	15	3.8 $\pm$ 0.08	N.S.
		Tetraxin	17	3.7 $\pm$ 0.07	
	Muscle	Control	15	3.6 $\pm$ 0.14	N.S.
		Tetraxin	15	3.7 $\pm$ 0.13	

#### DISCUSSIONS

The gain in body weight after feeding tetraxin to weanling rats for 4 weeks showed a biostimulating action on animal growth.

With regard to the mechanism through which the antibiotics promote the animal growth there is no unanimous opinion. Numerous suggestions which have been proposed can be attributed, in general, to two modes of action: (1) an indirect action determining modifications of the intestinal flora, that is an increase in the number of favourable micro-

organisms (vitamin synthesizers), a decrease in the number of harmful microorganisms (vitamin users, toxin producers, pathogens or potential pathogens) and the reduction of infectious diseases; and (2) a direct action on cells, tissues and metabolic reactions [26].

Growth stimulation in rats after antibiotic administration (aureomycin, penicillin, streptomycin and chloramphenicol) was reported by Oleson et al. [33], but they considered that the growth stimulating effect of the antibiotics appeared to be an indirect mechanism and not one dependent upon the structure of the antibiotics. On the contrary, Bruggemann [6] reported that daily parenteral administration of antibiotics to rats promoted growth similar to that produced by oral administration in the species, suggesting that the site of action needs not necessarily be confined to the digestive tract. We wanted to see if the gain in body weight resulted in protein metabolism changes, i. e. if it is due to a direct effect of the antibiotic upon the animal.

Since each nucleus contains the same amount of DNA [44], the amount of DNA in a tissue indicates the number of nuclei and therefore, the number of cells. Since an increase in RNA content indicates an increase in the intensity of protein synthetic activity [5], the measurement of total RNA affords an index of the intensity of protein synthetic activity. Therefore, the ratio of RNA to DNA is an index of protein synthesis capacity per cell.

The increased content of both muscle RNA and DNA shows an enhanced protein synthesis and an enlarged number of cells.

In view of all these considerations, the increased RNA and DNA content with unchanged RNA/DNA ratio, could be interpreted as an increase of muscular mass. Since the muscle protein content per weight unit was unchanged after tetraxin administration, it resulted that there was an increased muscular mass without modification of protein concentration per weight unit. The other metabolic parameters we followed (NPN, NH<sub>3</sub>, creatinine, urea) did not change after tetraxin feeding, indicating that the general metabolic pattern of the animal remained unchanged, only an enhanced muscle protein synthesis occurring. As the musculature represents about 40 per cent of body weight, the registered changes in this site of the body may explain the gain in body weight.

Since this modification was accompanied by a slight decrease of plasma amino nitrogen, which constitutes the major part of the labile amino acid pool of the body, and also by a slight increase of serum GOT and GPT activities, one can conclude that there is some emphasis of the muscle protein synthesis.

The fact that antibiotic administration do not modify the general metabolic pattern of the animals was also reported by other authors.

Thus, Lassiter et al. [22] following the chlortetracycline (CTC) effects on growth, digestibility and blood levels of NPN and urea in

calves observed no significant changes of these parameters. Similar data were reported by Burgess et al. [7] who studied the influence of penicillin administration on NPN in chicks. Some investigators reported an increase of total lipid with less protein and water in antibiotic fed animals [3], [34], [35], [36], others observed no change in tissue water and fat [7], [8], [46].

The fact that the gain in growth was not due to water and/or fat accumulation in tissues, was attested by the lack of change in these indices after tetraxin feeding (Tables 8, 9).

With all these reported modifications, we cannot conclude that the antibiotic growth effect is an exclusively direct one, because they do not modify the general metabolical pattern of the organism. Otherwise, the big number of investigations showing the antibiotic influence on intestinal flora cannot be ignored. Thus, Elam et al. [12] reported that chick intestinal microflora was affected both by feeding and by injection of penicillin or bacitracin. The effect of antibiotics on promoting growth has been explained as an inhibition of *Clostridium perfringens* from intestinal tract [12]. One explanation of this effect is the inhibition of bacteria producing toxines. Guzman-Garcia [16] studied the effect of small doses of penicillin which stimulated the rat growth and they determined the number of intestinal microorganisms. They reported a decrease of anaerobe concentration in cecum and the small intestine and an increase in the coliforme number. One considers that the antibiotics suppress the microorganisms which utilize the nutrients from the intestinal tract. Luckey et al. [25] presented data which showed that the antibiotics did not stimulate the growth of chicks maintained in aseptic conditions, but they enhanced the growth of chicks raised in usual laboratory conditions. However, when the antibiotics were fed to "germ-free" chicks and turkeys [23], [24], the results indicated that low levels of antibiotics stimulated growth, while high levels had a slight depressing effect. Experiences with chicks raised in old quarters and fed antibiotics, and chicks raised in new quarters showed no differences in growth [18]. However, at 200 ppm level there was an increased rate in chick growth raised in clean quarters.

All these data — in many cases conflicting — and the results obtained by us, which plead for the existence of a direct antibiotic action upon the animals, may be in agreement only if we admit the existence of a multiple action which find expression in both a direct action on the animals and an indirect action through the change of intestinal flora.

Since the number of investigations carried out in both directions is very great, no one of them can be contested upon the reason of some error.

We conclude, therefore, on a complex action of antibiotics on animal organism; it remains to specify the site where the biostimulating action occurs.

From the practical point of view, the antibiotic administration in the food of young animals is very useful, because they favourably influence on the growth of normal animals, remove the existent "sub-clinical" infections in some stockfarms and lead to an enhanced production.

#### REFERENCES

1. ALBANESE A. A., *Newer Methods of Nutritional Biochemistry*, Acad. Press, New York, 1963.
2. BAILEY L., *Techniques in Protein Chemistry*, Elsevier, Amsterdam, 1962.
3. BEESON W. M., J. Ann. Vet. N. A., 1952, **121**, 95.
4. BIRD H. R., Feed Bag, 1950, **26**, 15, 59.
5. BRACHET J., *The Nucleic Acids*. Ed. by Chargaff F., Davidson J. N., vol. II, Acad. Press, New York, 1955.
6. BRUGGEMANN J., Abstr. in "Antibiotics" Ed. by H. S. Goldberg, Van Nostrand Co., Princeton, New Jersey, 1959.
7. BURGESS C., GLUCK M., LAUGLAND D. H., Poultry Sci., 1953, **32**, 444.
8. CATRON D. V., BENNISON R. W., MADDOCK H. M., J. Animal Sci., 1953, **12**, 51.
9. CHARGAFF E., DAVIDSON J., *The Nucleic Acids*, Acad. Press, New York, 1955.
10. COLOWICK S., KAPLAN N., *Methods in Enzymology*, 1957, **3**, 1962, 5.
11. CONWAY E. J., *Microdiffusion Analysis and Volumetric Error*, Crosby Lockwood & Son Ltd., London, 1957.
12. ELAM J. F., JACOBS R. L., TODD WELL W. L., GEE L., COUCH J., J. Nutr. 1953, **49**, 2, 307.
13. FOLCH J., J. Biol. Chem., 1957, **226**, 497.
14. GEROK W., PAUSCH J., *Verleichende Untersuchungen über Methoden der Ammoniumbestimmung im Blut*, Z. ges. exp. Med. 1968, 148, 337.
15. GROSCHKE A. C., EVANS R. J., Poultry Sci., 1950, **29**, 616.
16. GUZMAN-GARCIA J., J. Nutr., 1953, **49**, 4, 647.
17. HARND B. K., RAYMOND W. C., CLARK M., COSGROWE R., HINE C. H., MCCONELEY W. J., STONEY E., VESSEY R. E., YUDA N., SUBBAROW Y., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1918, **51**, 182.
18. HILL C. H., KELLY J. W., J. Nutr., 1953, **51**, 3, 463.
19. HINSBERG-LANG, *Medizinische Chemie*, München, Urban & Schwarzenberg, 3. Aufl., 1957, 662.
20. HUTCHINSON W. C., MUNRO H. N., Analyst, 1961, **86**, 768.
21. JUKES T. H., "Antibiotics in Nutrition", Medical Encyclopedia, New York, 1955.
22. LASSITER C. A., DEANTON T. W., RUST J. W., J. Dairy Sci., 1955, **14**, 760.
23. LOISELEUR H., *Techniques de Laboratoire*, T. 1, fasc. II, 1962.
24. LOWRY O., ROSENBRUGH N., FARR L., RANDALL R., J. Biol. Chem., 1951, **193**, 1, 265.
25. LUCKY T. D., GORDON H. A., WAGNER M., REYNIERS J. A., *Antibiotics a. Chemother.* 1956, **6**, 36.
26. LUCKY T. D., *Antibiotics in Nutrition*, in "Antibiotics", Ed. by H. S. GOLDBERG, Van Nostrand Co, Princeton, New Jersey, 1959.
27. MCCOLLUM quoted by W. MERTZ, Am. J. Physiol., 1959, **196**, 3, 614.
28. MICHON J., ARNAUD R., Clin. Chim. Acta, 1962, **7**, 738.
29. MOORE P. R., EVENSON A., LUCKY T. D., MCCOY E., ELVEHJEM C. A., HART E. B., J. Biol. Chem., 1946, **165**, 437.
30. MOORE S., STEIN W., J. Biol. Chem., 1948, **176**, 367.
31. — J. Biol. Chem., 1954, **211**, 2, 907.
32. NEWELL G. W., PETERSON W. H., ELVEHJEM C. A., Poultry Sci., 1947, **26**, 284.
33. OLESON J. J., HUTCHINGS B. L., WHITEHILL A. R., Arch. Biochem., 1950, **29**, 334.
34. OZAWA E., J. Antib., 1955, **8**, 205.
35. — J. Antib., 1956, **9**, 67.
36. PERRY T. W., BEESON W. M., J. Animal Sci., 1953, **12**, 310.
37. PORTOCALĂ R., POPA L., *Acizii ribonucleici celulare și virali*, Ed. Acad. Bucharest, 1966.
38. REINER M., SELIGSOHN D., *Standard Methods of Clinical Chemistry*, New York 1958.

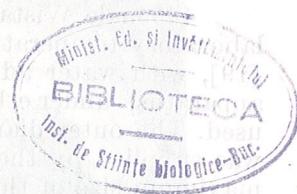
39. REITMAN S., FRANKEL S., Amer. J. Clin. Path., 1957, **28**, 56.
40. SCHMIDT G., THANNHAUSER S. J., J. Biol. Chem., 1945, **161**, 83.
41. STOKSTAD E. L. R., JUKES T. H., PIERCE J., PAGE A. G., FRANKLIN A., J. Biol. Chem., 1949, **180**, 647.
42. STOKSTAD E. L. R., JUKES T. H., Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med., 1950, **73**, 523.
43. — Poultry Sci., 1950, **29**, 611.
44. VENDRELY R., *The Nucleic Acids*, Ed. by Chargaff E., Davidson J. N., vol. II, Acad. Press, New York, 1955.
45. WHITEHILL A. R., OLESON J. J., HUTCHINGS B. L., Proc. Soc. Exptl. and Med., 1950, **74**, 11.
46. WILSON G. D., BURNSIDE J. E., BRAY R. W., PHILLIPS P. H., J. Animal Sci., 1953, **12**, 291.

Received March 4, 1971

Center of Biological Research, Yassy  
Department of Physiology

REV. ROUM. BIOL. ZOOLOGIE

882



## GLYCEMIA LEVEL AFTER HYPOTHALAMIC RADIOFREQUENCY CURRENT LESIONS

BY

V. HEFCO and P. JITARIU

Radiofrequency current lesions of the SEP, APM, MFB, VMH, CGM, RF, AM and HIP do not produce significant variations in the fasting blood sugar level, one week after surgery and followed up for 3–4 weeks. Hypophagia is always accompanied by hypoglycemia and hyperphagia does not modify fasting glycemia level. These results are due to a wider localization of function at the hypothalamic level and to great functional reserves of pancreatic B cells.

It is concluded that in rats, the use of fasting glycemia values, as a test of the state of mechanisms which control the glucose metabolism, is not recommended.

Experiments have shown that lesions of the central nervous system may be produced more efficiently by passing a direct anodal current through a stainless steel or NiCr electrodes. Yet, the precise nature of the cytolytic process has not been known for a long time. Louck et al. [16] have observed a distinct deformation of the tips of steel, tungsten or silver electrodes after the passage of anodic direct current. Rowland et al [24] have reached the conclusion that the toxic effects produced by such electrodes are probably closely related to the metallic electrochemical invasion of the tissue surrounding the central defect. Reynolds [23] has observed that hyperphagia and obesity secondary to the electrolytic lesion of the VMH nucleus no longer occur if that nucleus is destroyed by means of a radiofrequency (RF) current. According to Reynolds, hyperphagia is a consequence of the chronic irritation of the tissue around the lesioned portion.

Starting from these considerations, we have followed the variations of induced glycemia as a result of the lesion of different hypothalamic nuclei and of nervous structures in close anatomic and functional connection with the hypothalamus, by means of a radiofrequency current.

REV. ROUM. BIOL.-ZOOLOGIE, TOME 16, N° 4, p. 287–292, BUCAREST, 1971

39. FETTERMAN S., FRASER S.: *Am J Physiol*, 1955, 181, 100.

40. SOECHERT C., THAMHAN S.: *Acta Endocrinol (Copenh)*, 1956, 44, 103.

## MATERIAL AND METHODS

140 male Wistar rats weighing 200—250 g were used. Rats were kept at laboratory temperature and on a standard diet, according to Mac Collum [19], with water ad libidum. Surgery was performed with a stereotaxic apparatus, under ether anesthesia. NiCr glass-insulated electrodes were used. The outer diameter of the electrode was 0.3 mm. The RQ current was supplied by the electrosurgical apparatus TUR CH4, 1.8 MHz. The maximum size of the lesioned area are shown in brain sections presented in Fig. 1—2. Sham-operated (SO) animals were submitted to the same surgical procedure, without current passage. Glycemia was determined one week after surgery after 14-hour fasting. Determinations were performed by Asatoor and King's method [2]. The histological control of produced lesions was made by Guzman-Flores et al's method [7]. The stereotaxic atlases of Szentagothai et al [25] and Klippel and König [14] were used. Results were statistically calculated using Student's *t* test.

## RESULTS

Figures 1—2 point to the maximum size of produced lesions. In Fig. 3, the results obtained after the lesion of the septal area (SEP) at the level of the anterior commissure and median preoptic area (MPA) are presented. Glycemia, followed up one week after surgery for 3—4 weeks, is observed to oscillate around normal values, without showing statistically significant variations. Figure 4 shows results obtained at the same intervals after the lesion of VMH nucleus and of the medial forebrain bundle (MFB). The variations of observed glycemia, as compared to SO animals or to the presurgical level, are not statistically significant. The same conclusions are also drawn from results presented in Fig. 5, which shows glycemia values obtained after the lesion of the central grey matter (CGM) or of the midbrain reticular formation (RF) and from Fig. 6 which present values obtained after the lesion of the basal and dorsal amygdaloid nuclei (AM) or of the hippocampus (HIP).

## DISCUSSION

The relation of the hypothalamus with the glucidic metabolism remains a physiological mystery, despite intense researches carried out in this field. Literature data synthesized by Anderson et al [1], Leibson [17] Paton [21], Mitiusov [20] bring clear evidence in support of the hypothalamic role in the glucidic metabolism control. It is generally considered that the stimulation of the postero-lateral part of the hypothalamus results in hyperglycemia and lesions in the rostral part of the hypothalamus produce hypoglycemia and hypersensitivity to insulin. Our previous data [9] performed in acute experiment after electrolytic or RQ current lesions of different hypothalamic nuclei, have shown that glycemia modifications secondary to lesions, support the functional division of the

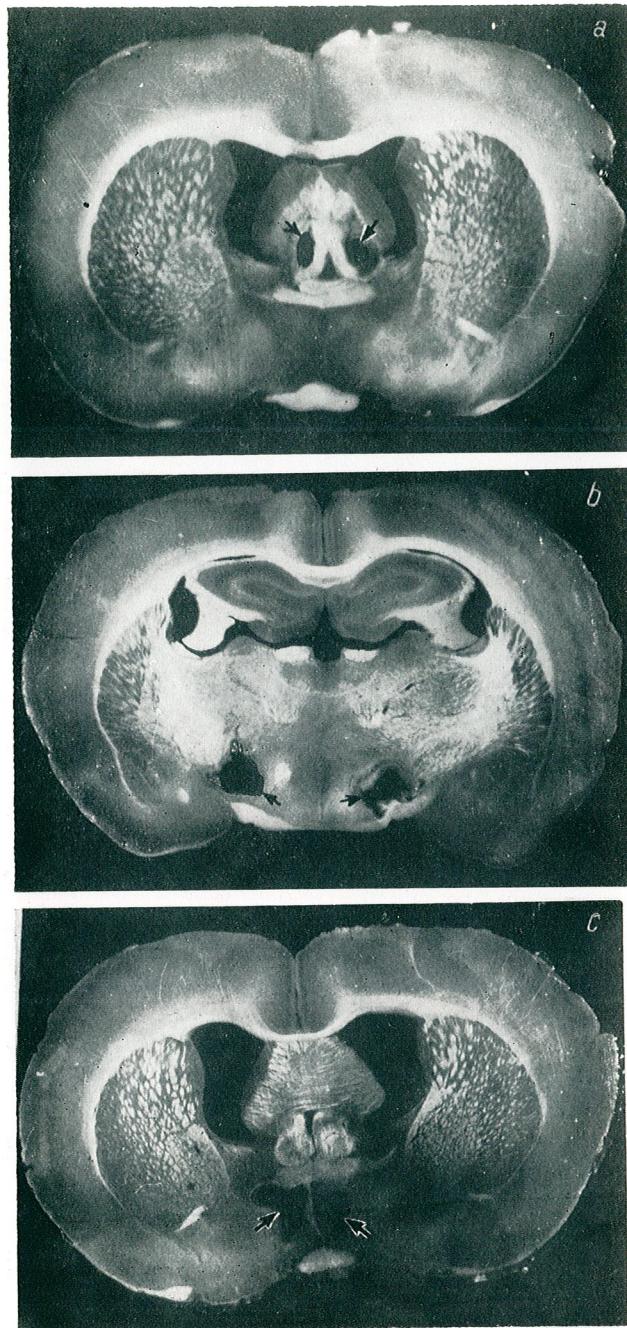


Fig. 1. — The maximum lesioned side at septal level (a), medial forebrain bundle (b) and area preoptica medialis (c)

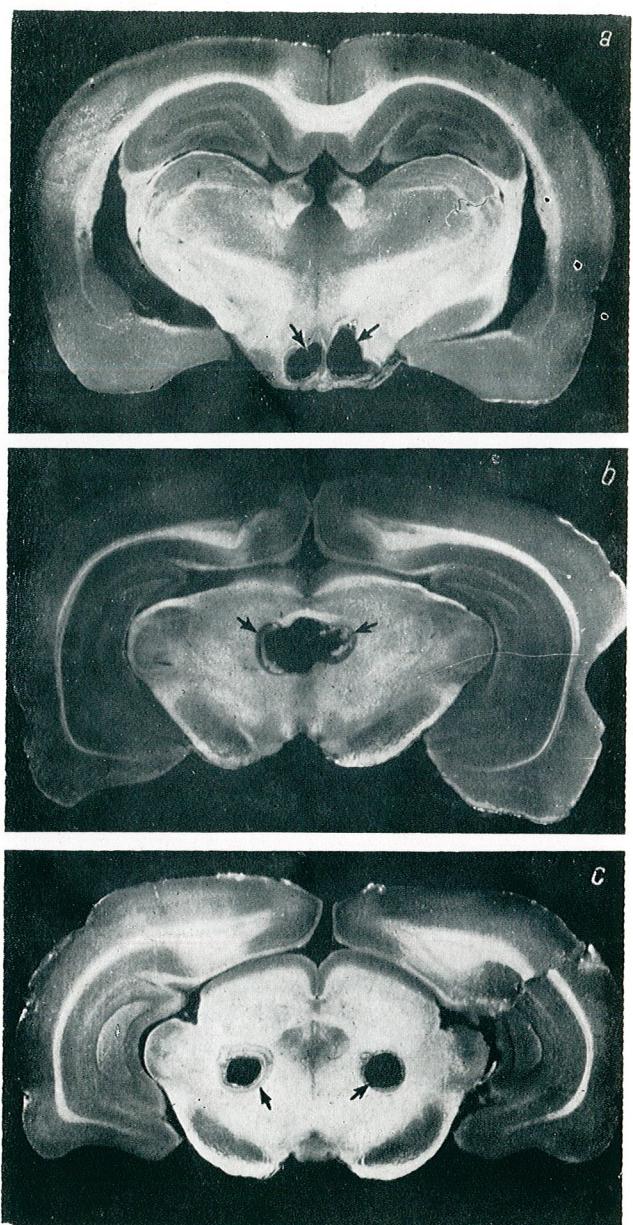


Fig. 2 — The maximum size of produced lesions at ventromedial hypothalamic nuclei (a), substantia nigra periventricularis (b) and reticular formation (c).

Fig. 3. — Glycemia level after septal and medial preoptic area radiofrequency current lesions. SO-sham-operated; L-lesioned. Values are mean  $\pm$  SE.

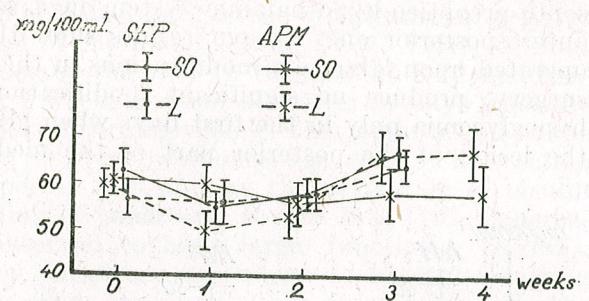


Fig. 4. — Glycemia level after MFB and VMH lesions. Legend as in Fig. 3.

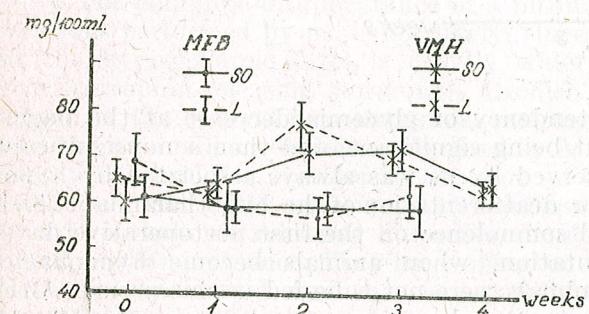
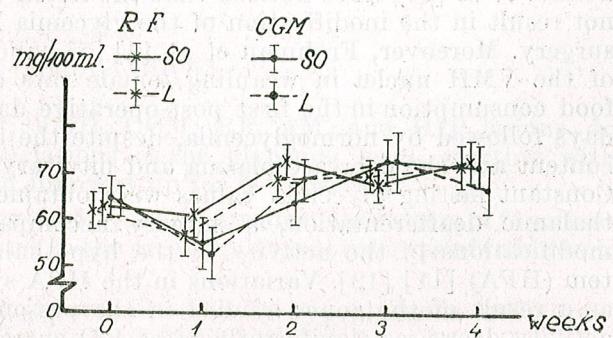


Fig. 5. — Glycemia level after RF and CGM RQ current lesions.



septo-preoptico-hypothalamic system in a sagittal plane and not in an antero-posterior one. Present results show that, irrespective of the zone operated upon, glycemia modifications in the rat, starting one week after surgery, produce no significant modifications. We observed significant hypoglycemia only in the first days when glycemia was determined after the lesion of the posterior part of the median eminence [10]. Figures

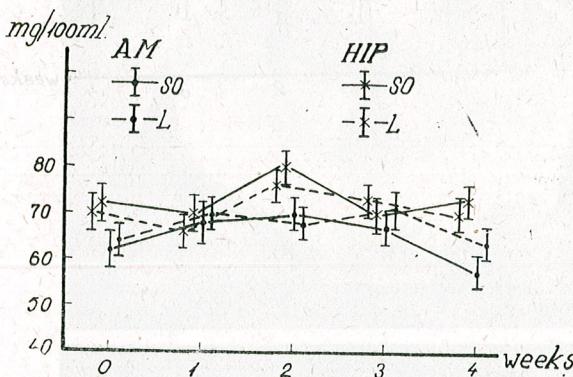


Fig. 6. — Glycemia level after amygdaloid nuclei or hippocampal lesions. Legend as in Fig. 3.

3—5 show that there is a tendency of glycemia decrease at the beginning of the interval, without being significant, and then a nonsignificant increase. Hypoglycemia observed by us was always associated by hypophagia. Thus, after posterior deafferentation of the hypothalamus, which was accompanied by animal somnolence on the first postoperative days, or after preoptic deafferentation, when animals become hypophagic, hypoglycemia appeared if animals were not tube-fed in this period. After a previous feeding of these rats, they became normoglycemic after 12—14 hour starvation. [11]. Conversely, hyperphagia secondary to lesions does not result in glycemia increase after 12-hour starvation. Unpublished results obtained by us after CGM lesion show that rats become hyperphagic, increase their hepatic glycogen content almost twice and, yet, the fasting glycemia level was normal. Similar data were also observed by Hales and Kennedy [8] after electrolytic VMH lesion, when rats became hyperphagic though presenting a normal fasting glycemia level. Trifaro et al [26] have noticed that the lesion of the VMH nucleus does not result in the modification of the glycemia level 10 and 40 days after surgery. Moreover, Frohman et al. [4] [5] have observed that the lesion of the VMH nuclei in weanling female rats determines a reduction of food consumption in the first post-operative days, hypoglycemia for 5—7 days followed by normoglycemia, despite the increase of plasma insulin content and the decrease plasma and pituitary growth hormone amount. Constant fasting glycemia values were obtained by us also after hypothalamic deafferentation, a surgery accompanied by quite important modifications in the activity of the hypothalamo-pituitary-adrenal system (HPA) [11] [12]. Variations in the HPA system activity also appear as a result of the zones studied in the present work. Thus the adrenal activity decreases significantly after RQ current lesions of the stria ter-

minalis. Conversely, we have observed an increase of the adrenal activity after such lesions at the level of the fornix, MFB, CGM, VMH, without affecting the median eminence or the RF. In the case of RF, modifications are observed only after 2 weeks and not also after 30 days from the surgery. Nevertheless, rats remain normoglycemic. This might be due to the hypoglycemic action of some pituitary hormones, e.g. ACTH. This action of ACTH may occur both *per se* [10] and by the activation of insulin secretion, hence by overloading of pancreatic B cells [18] [10]. Pancreatic B cells were actually observed to have large functional reserves, which might compensate for variations secondary to lesions occurring in the hyperglycemic system. Thus, Fajans [3] has observed that in the initial stages of glucocorticoid administration in high amount, the adaptative response of the pancreas may not be great enough to prevent mild by easily demonstrable reduction of carbohydrate tolerance. With more prolonged steroid administration carbohydrate tolerance may return to normal or even greater than normal, of course besides cases when used doses result in the destruction of pancreatic B cells [22].

Hypophysectomised animals present hypoglycemia as a rule [1] [15]. The complete disappearance of a pituitary function, after the interventions performed by us, is not likely, since the localization of functions at the hypothalamic level is usually wider. Thus, as concerned CRH (corticotrophin-releasing hormone), Brodish concluded that the entire region of the ventral hypothalamus, ranging between the optic chiasma and the mammillary bodies, is involved in ACTH secretion. Our previous data also plead for a wider localization of this hypothalamic function, concerned with CRH secretion [11]. Guillemin et al. [6] have also shown that hypothalamic releasing hormones should not be exclusively located in the median eminence. They have observed that the amount of TRH/mg tissue in the median eminence is not different from that in any other hypothalamic region.

However, in the case of modified adrenal cortex activity, even if glycemia level after 12—14 hour fasting was not modified, the insulin tolerance test was clearly different [13]. Also, Trifaro et al. [26] have reported an increase of sensitivity to insulin after VMH lesions in rats, which were normoglycemic. It can be observed that the use of fasting glycemia level in the rat, as a test of the state of mechanisms which contribute to maintain glucose homeostasis, is not appropriate.

#### CONCLUSIONS

1. SEP, APM, MFB, VMH, CGM, RF, AM, and HIP lesions do not produce significant variations in the glycemia level, starting with one week after surgery and followed up for 3—4 weeks.
2. These results are probably due to a wider localization of functions at the hypothalamic level and to the great functional reserves of pancreatic B cells.
3. Hypophagia is always accompanied by hypoglycemia and hyperphagia does not modify the level of fasting glycemia.

4. The use of fasting glycemia values, as a test of the state of the mechanisms which control glucose metabolism in the rat, is not recommended.

#### REFERENCES

1. ANDERSON E., Mc RIOCH D., HAYMAKER W., Acta neuroveg. (Wien), 1952, 5, 132.
2. ASATOOR A., KING J., *Microanalysis in medical biochemistry*. J. A. Churchill, London, 1956.
3. FAJANS S. S., Metabolism, 1961, 10, 951.
4. FROHMAN L. A., BERNARDIS L. L., Endocrinology, 1968, 82, 1125.
5. FROHMAN L. A., BERNARDIS L., SCHNATZ J., BUREK, L., Am. J. Physiol., 1969, 216, 1496.
6. GUILLEMIN R., SAKIZ E., WARD D. N., Proc. Soc. Exptl. Med., 1965, 118, 1132.
7. GUZMAN-FLORES C., ALCARAZ M., FERNANDAZ-GUARDIOLA A., Bol. Inst. Med. Biol. Mex., 1958, 16, 28.
8. HALES C. N., KENNEDY G. C., Biochem. J., 1964, 90, 620.
9. HEFCO, V., JITARIU P., BÎRCĂ C., Anal. Univ. „Al. I. Cuza” Biol., 1970, 16, 197 pp.
10. HEFCO V., JITARIU P., ROTENBERG P., Rev. Roum. Biol. Zoologie, 1971, 16, 3, 195 pp.
11. HEFCO V., JITARIU P., Rev. Roum. Endocrinol., 1971, 2, 131 pp.
12. HEFCO V., JITARIU P., ARTEMIE V., Rev. Roum. Physiol., 1971, 1.
13. HEFCO V., JITARIU P., ROTENBERG P., Rev. Roum. Physiol. 1971 In press.
14. KÖNIG J.F.R., KLIPPEL R., *The rat brain-stereotaxic atlas*. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, 1963.
15. KOKKA N., GEORGE R., Neuroendocrinology, 1969, 4, 333.
16. LOUCKS R. B., WEINBERG H., SMITH M. Electroencephalog. Clin. Neurophysiol., 1959, 11, 823.
17. LEIBSON A. G., *Sahar krovi*. Izd. Akad. Nauk SSSR, 1962.
18. MAYHEW D. A., WRIGHT P. H., ASHMORE J., Pharmacol. Reviews 1969, 21, 183.
19. MERTZ W., SCHWARZ K., Am. J. Physiol., 1959, 196, 614.
20. MITIUSOV M. I. *Functii polusarii golovnogo mozga uroveni sahara krovi*. Izd. „Nauka” M-L. 1964.
21. PATON A.: J. Endocrinol., 1957, 15, 33.
22. PORA A. E., MADAR J., St. Univ. „Babeş-Bolyai” Biol., 1964, 1, 123.
23. REYNOLDS R., Am. J. Physiol. 1963, 204, 60.
24. ROWLAND V., MAC INTYRE W. J., BIDDER T. B., J. Neurosurg., 1960, 17, 55.
25. SZENTAGOTTHAI J., FLERKO B., MESS B., HALASZ B.: *Hypothalamic control of the anterior pituitary*. Akad. Kiadó, Budapest, 1968.
26. TRIFARO J. M., MIKULIC E., FOGLIA V. G., C. R. Sci. Soc. Biol., 1967, 161, 710.

Received March 4, 1971

„Al. I. Cuza” University, Yassy  
Department of Animal Physiology

#### CHROMOSOMAL POLYMORPHISM IN THE WATER VOLE (*ARVICOLA TERRESTRIS* L.)

BY

P. RAICU, DOINA DUMA, MARIA KIRILLOVA and AL. TUTA

The karyotype and idiogram in *Arvicola terrestris* L. ssp. *scherman* Shaw, which lives in the mountain regions of Romania, show a chromosome number of  $2n = 36$ , of which 10 pairs of metacentrics, 3 pairs of submetacentrics, 1 pair of subtelocentrics and 3 pairs of acrocentrics. The X chromosome is a big metacentric while the Y is a small acrocentric.

A comparison between the chromosome set in the *scherman* ssp. from Romania and the ssp. *amphibius* (K. Fredga, 1968), from northern Europe revealed striking differences as to both autosomes and heterosomes. The fundamental number (FN) is 66 in the former and 72 in the latter.

Our studies, like those of K. Fredga (1968) clearly suggest an interspecific chromosomal polymorphism, the karyotype evolution proceeding through mechanisms of the Robertsonian type, accompanied by the loss of several chromosome arms.

In a previous paper, K. Fredga [1] presents the karyotype and the idiogram in the water vole, (*Arvicola terrestris* L.) which is, in the author's opinion, a very suitable species for cytogenetical researches. In this study no mention is made of the subspecies or variety, the only feature noted being the black colour of the skin, and the origin of the animals from the southern and middle regions of Sweden. Most likely the animals belonged to the *amphibius* subspecies, which is known to be spread in the northern regions of Europe.

Owing to the interest this animal displays for cytogenetical researches, we thought it useful to undertake a comparative study of the karyotype and idiogram in *Arvicola terrestris* L. ssp. *scherman* Shaw, from our country.

## MATERIAL AND METHODS

Males and females of *Arvicola terrestris* L., subspecies *scherman* Shaw were used in this study. This subspecies is characterized by light brown skin on the dorsal part of the body and grey on the ventral part. In our country, the subspecies *scherman* is mainly found in the mountain plains and grasslands with broken up soil [2].

The animals used in our study originate in the Pirușca locality on the northern mountain side of the Ciucas Mountains, at height of 1300 m.

To obtain cytological preparations, the animals were colchicinized by intraperitoneal injection with lcc. of a 0.02 p. c. colchicine solution per 100 gms. body weight. The animals were killed and the femur bone marrow removed and hypotonized in a 0.75 p.c. sodium citrate solution at 37°C for 40 minutes. After centrifugation of 1000 r/min for 15 minutes, the pellet was fixed in a 3:1 mixture of alcohol and glacial acetic acid. After five successive fixations and centrifugations at 30—60 minutes from each other, preparations were made by the air dried method. Staining was performed in a 15 p.c. Giemsa solution for 15—20 minutes.

As many as 32 karyotypes were made, 16 for each sex. Based upon the measurements of the chromosomes in the 32 metaphase plates the following parameters were determined: absolute length of the chromosomes (in  $\mu$ ), arm length and arm ratio, as well as relative length of the chromosomes, taking the 1000 value for a whole autosome complement together with the X chromosome. Finally, the different types of karyotype chromosomes were established on the basis of arm ratio, and their idiogram was constructed.

## RESULTS AND DISCUSSION

The karyotype study in *Arvicola terrestris* L. ssp. *scherman* Shaw revealed a chromosome set consisting in 17 pairs of autosomes of which: 10 pairs of metacentrics, 3 pairs of submetacentrics, one pair of subtelocentrics and 3 pairs of acrocentrics.

The heterosomes are as follows: X is a big metacentric, while Y is a very small acrocentric, as identified by the pairing off method, as the only pair of morphologically and structurally very different chromosomes.

The measurements performed on the chromosomes in this species revealed variations between 7.11  $\mu$  for the biggest chromosome which is a metacentric, and 1.90  $\mu$  for the smallest one which is an acrocentric (Table 1). Considerable differences appeared between the biggest chromosome of the karyotype which has a relative length of 82.5 p.c. and the smallest one, with a relative length of 22.08 p.c., the former being about four times larger than the latter. On the basis of chromosome arm measurements and arm ratio (long vs. short), the chromosomes were ascribed to 4 groups, according to the nomenclature of A. Levan, K. Fredga and A. Sandberg [3]. Thus, chromosomes with an arm ratio ranging from 1.0 to 1.7 were classified as metacentrics (m), those with an arm ratio of 1.7—3.0 were classified as submetacentrics (sm), while those with an arm ratio between 3.0—7.0 were ascribed to the subtelocentrics (st); chromosomes with a very short arm (arm ratio higher than 7.0) or lacking one arm, were classified as acrocentrics (a).

The autosomes are easily identifiable in the chromosome set, taking into account the size and arm ratio. Thus, the metacentrics m2, m3 and m4 in spite of their close size (6.11—5.69  $\mu$ ) or relative length (70.96—

Table 1

The biometric study of *Arvicola terrestris* ssp. *scherman* karyotype

Chromosome No.	Absolute length in $\mu$			Relative length (nA + X) <sup>0/00</sup>	Arm ratio L/s	Chromosome type
	Mean $\pm$ standard	error	Limits			
1	7.11 $\pm$	0.83	5.43—8.44	82.50	1.02	M
2	6.83 $\pm$	0.82	5.40—9.34	79.86	2.62	SM
3	6.11 $\pm$	0.84	4.43—7.93	70.96	1.42	M
4	5.84 $\pm$	0.69	5.33—7.08	67.80	1.17	M
5	5.69 $\pm$	0.75	4.27—7.08	66.01	1.67	M
6	5.55 $\pm$	0.69	4.28—6.97	64.38	2.01	SM
7	5.44 $\pm$	0.60	3.94—6.75	63.06	2.34	SM
8	5.14 $\pm$	0.61	3.57—6.58	59.58	1.42	M
9	4.82 $\pm$	0.61	4.03—6.27	56.47	1.33	M
10	4.72 $\pm$	0.55	3.57—5.74	54.84	1.36	M
11	4.68 $\pm$	0.53	3.53—5.74	54.31	—	A
12	4.44 $\pm$	0.49	3.63—5.43	51.52	1.32	M
13	2.84 $\pm$	0.11	2.14—3.99	34.40	4.99	ST
14	2.80 $\pm$	0.11	1.96—3.42	32.92	1.28	M
15	2.66 $\pm$	0.34	2.05—3.37	30.98	1.02	M
16	2.60 $\pm$	0.40	2.14—3.60	30.13	—	A
17	1.90 $\pm$	0.29	1.29—2.36	22.08	—	A
X	6.75 $\pm$	1.27	5.30—9.00	78.30	1.70	M
Y	1.99 $\pm$	0.35	1.46—2.25	23.07	—	A

66.01<sup>0/00</sup>) are classifiable according to arm ratio. Likewise, sm2 and sm3, though very close in size might be individualized by the centromere position which is more excentric in sm2. On the contrary, the metacentric pairs m5, m6, m7 and m8 are more difficult to recognize because of both their close size and arm ratio which ranges within very narrow limits. The m9 and m10 pairs though close in size, show quite a characteristic arm ratio which allows their identification. The other pairs of subtelocentrics and acrocentrics do not rise special difficulties for recognition, as their position within the karyotype is clearly determined.

The X chromosome is a big metacentric, of 6.75  $\mu$ , with a relative length of 78.30<sup>0/00</sup>. It might be easily identified, as it is different from the first metacentric pairs by the less central position of the centromere. The Y chromosome is an acrocentric very similar in size with the last pair of acrocentrics, for which it could be mistaken.

The karyotype and idiogram in *Arvicola terrestris* ssp. *scherman* display several characteristic features, and on comparing it with the chromosome set from the same species, as studied by K. Fredga [1], similar in the *amphibius* subspecies, which lives in northern Europe, many striking differences arise. Inspite of the same number of chromosomes ( $2n = 36$ ) the karyotypes and idiograms are dissimilar.

The K. Fredga's studies [1] revealed 9 pairs of metacentric, 4 pairs of submetacentrics and 4 pairs of subtelocentrics in the karyotype, the acrocentrics being completely absent.

In our studies, 10 pairs of metacentrics, 3 pairs of submetacentrics, one pair of subtelocentrics and 3 pairs of acrocentrics were evidenced.

As far as the FN is concerned, it amounts to 72 in the *amphibius* subspecies and 66 in the *scherman* subspecies, the decrease being due to the occurrence of 3 pairs of acrocentrics, which are absent in the subspecies from northern Europe. The above results might be taken into account as evidence for karyotype diversification by mechanisms of the Robertsonian type, accompanied by the loss of some chromosome arms.

The differences between the 2 subspecies are not limited to the autosomes, but involve the heterosomes too. Thus in the *amphibius* ssp. the X chromosome is middle sized ( $4.06 \mu$  and  $58.3\%$  relative length) being the 13<sup>th</sup> element of the karyotype, while in the ssp. *scherman* the X chromosome is much bigger ( $6.75 \mu$  and  $78.30\%$  relative length) and is the 3<sup>rd</sup> element of the chromosome set, according to size. The Y chromosome is similar in the two subspecies, being an acrocentric of small size.

From the above results, the conclusion of an intraspecific chromosomal polymorphism is to be drawn which does not involve the chromosome number but only their structure. Similar phenomena were found in other species too by R. Matthey [4], [5]; T. A. Yoshida, K. Amano [11]; B. Soldatović, B. Garzicić, S. Zivković [9]; S. Ohno, C. Weiler, J. Poole, L. Christian, C. Stenius [6]; P. Raicu, S. Bratosin, M. Hamar [7]; P. Raicu, D. Duma [8].

#### REFERENCES

1. FREDGA K., Chromosoma, 1968, **25**, 75–89.
2. HAMAR M., TUTĂ AL., PERJU T., Anal. Secț. Prot. Plant., 1965, **3**, 337–351.
3. LEVAN A., FREDGA K., SANDBERG A. A., Hereditas, 1964, **52**, 2, 201–220.
4. MATTHEY R., Cytogenetics, 1963, **2**, 290–322.
5. — Chromosoma, 1966, **18**, 188–200.
6. OHNO S., WEILER G., POOLE L., CHRISTIAN L., STENIUS C., Chromosoma, 1966, **18**, 177–187.
7. RAICU P., BRATOSIN S., HAMAR M., Caryologia, 1968, **21**, 2, 127–135.
8. RAICU P., DUMA D., Genet. Res. 1969, **13**, 99–104.
9. SOLDATOVIĆ B., GARZICIĆ B., ŽIVKOVIĆ S., Chromosoma, 1966, **19**, 3, 261–265.
10. WOLKNOWSKA J., Folia Biologica, 1963, **11**, 3, 293–307.
11. YOSHIDA T. A., AMANO K., Chromosoma, 1965, **16**, 658–667.

Received March 19, 1971

University of Bucharest  
Department of Genetics  
Aleea Portocalilor 1–3  
Bucharest, Romania



Fig. 1. — Female karyotype in *Arvicola terrestris* ssp. *scherman* (a) and their metaphase plate (b).

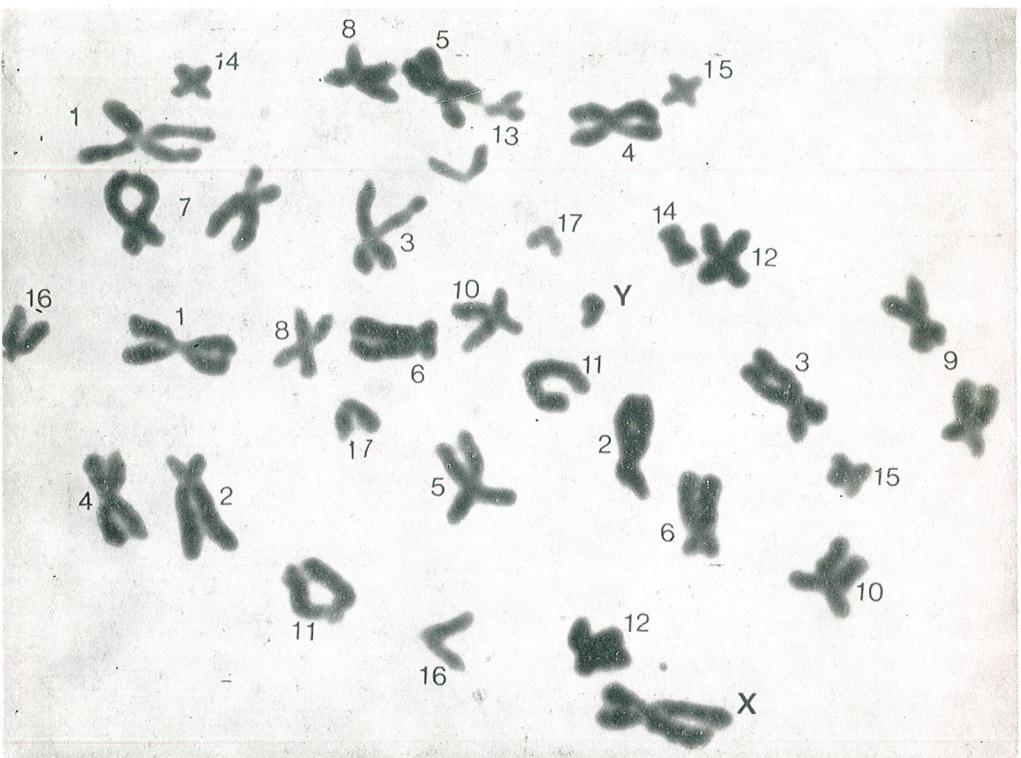


Fig. 2. — Metaphase plate in a *Arvicola terrestris* ssp. *scherman* male.

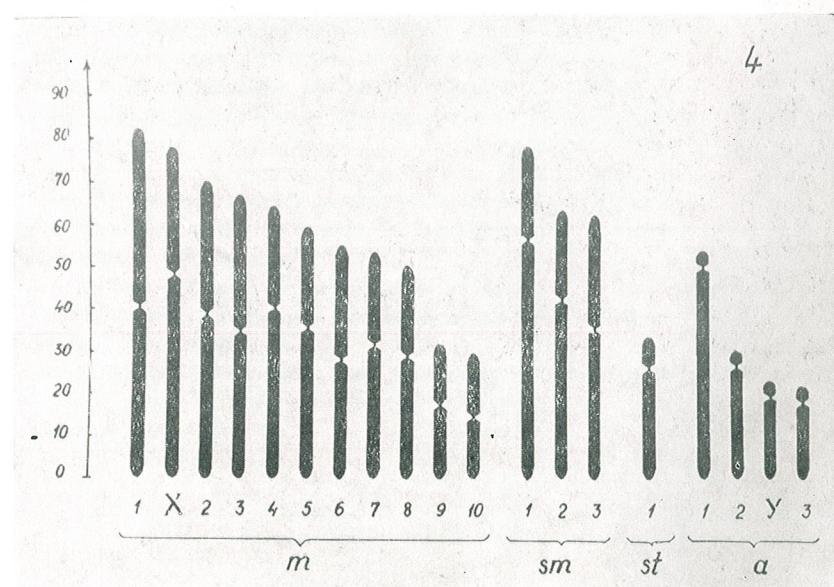
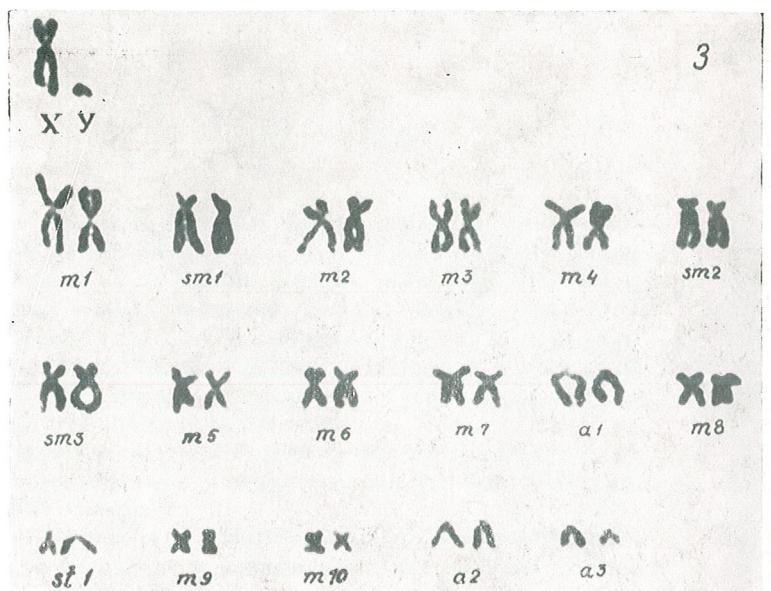


Fig. 3. — Male karyotype of the previous metaphase plate in *Arvicola terrestris* ssp. *scherman*.

Fig. 4. — Idiogram of *Arvicola terrestris* ssp. *scherman*.

## AVIS AUX AUTEURS

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

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

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

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

Les auteurs ont droit à 50 tirés à part gratuits.

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

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

PRINTED IN ROMANIA