

reits als solcher im lebenden Bandwurm vorhanden ist. Ein Röntgendiagramm nichtgekochter Teilchen könnte dies eventuell noch abklären.

Nach den vorliegenden sonstigen Angaben der Literatur (siehe FUHRMANN<sup>1</sup>) soll es sich bei diesen Kalkkörperchen um Kalziumkarbonat handeln. Diese Angaben sind also zu berichtigen. Die Größe der Kristalle schwankt meist zwischen 0,005 und 0,015 mm. Über den Spezialbefund hinaus ist die Feststellung wichtig, daß der Bandwurm offensichtlich also Apatit bilden kann, was bei den Wirbellosen die allergrößte Ausnahme ist. Bisher haben wir nur beim lebenden Fossil der *Lingula*, eines Armfüßlers, die Fähigkeit feststellen können, Kalk in der gleichen Form niederzuschlagen wie die Wirbeltiere. Die Tänen bilden also die zweite bisher bekannte Ausnahme unter den Wirbellosen.

W. EPPRECHT, H. R. SCHINZ und H. VOGEL

Mineralogisches Institut der ETH. Zürich, Röntgeninstitut des Kantonsspitals Zürich und Bernhard-Nocht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg, den 31. Dezember 1949.

#### Summary

(1) Calcium deposits in the bile ducts of cattle, caused by infestation with *Fasciola hepatica*, consist of hydroxyl apatite in granules of about  $10^{-5}$  to  $10^{-6}$  cm<sup>3</sup> in size.

(2) Egg-shaped calcareous bodies from *Tænia saginata* consist of the two kinds of crystals hydroxyl apatite and brucite.

<sup>1</sup> O. FUHRMANN in: W. KÜCKENTHAL, *Handbuch der Zoologie*, 2. Band, 1. Hälfte, 2. Teil, S. 349 (1933).

#### Mononatriumurat-Monohydrat als Hauptbestandteil der Gichtknoten

Die von uns früher<sup>1</sup> gemachte Feststellung, daß Gichttophi Ablagerungen aus Mononatriumurat-Monohydrat  $\text{Na}(\text{C}_5\text{H}_3\text{O}_3\text{N}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$  darstellen, konnte durch röntgenographische Untersuchung an zwei weiteren Fällen von Gichtknoten bestätigt werden. Wiederum waren in den diesbezüglichen Röntgendiagrammen lediglich Interferenzen vorhanden, wie sie für das Monohydrat des Na-Monourats charakteristisch sind. Offensichtlich darf daher  $\text{Na}(\text{C}_5\text{H}_3\text{O}_3\text{N}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$  in einem allgemeinern Sinne als Träger der Gichttophi gelten und können andere Na-Urate (wie z. B. wasserfreies Monourat oder dessen Hemihydrat bzw. Dinatriumurat  $\text{Na}_2(\text{C}_5\text{H}_2\text{O}_3\text{N}_4)$  mit 2 oder 1  $\text{H}_2\text{O}$  bzw. wasserfrei auftretend) höchstens die Rolle seltener bzw. nur untergeordneter Ablagerungen in Gichtknoten spielen; so ist auch bei den Ablagerungen in den Gichtknoten im Grunde weniger von Interesse, welche spezielle Kristallart gebildet wird, als daß es offensichtlich stets zur Bildung der nämlichen Kristallart kommt.

E. BRANDENBERGER und H. R. SCHINZ

Laboratorium für Röntgenographie des EMPA und des Mineralogischen Instituts der ETH. Zürich und Röntgeninstitut des Kantonsspitals Zürich, den 31. Dezember 1949.

#### Summary

The gout-tophus is a deposit of monosodiumurate-monohydrate.

<sup>1</sup> Exper. 3, 185 (1947); Schweiz. med. Woschr. 77, 642 (1947).

#### Über die Auslösung des Gasspuckreflexes bei Fischen

Fische mit Schwimmblasengang (Physostomen) pflegen nicht selten Gas aus der Schwimmblase durch diesen Gang nach außen abzugeben. Man kann die Gasabgabe auch künstlich hervorrufen durch Verringerung des Luftdrucks über dem Wasser, etwa in einer Flasche, in der sich der Fisch befindet. Vergleichsversuche mit isolierten Schwimmblasen haben gezeigt, daß eine rein physikalisch bedingte Gasabgabe erst bei viel größerem Unterdruck zustandekommt, als dies beim lebenden Tier der Fall ist. Es handelt sich also zweifellos um einen physiologisch bedingten, reflektorisch ausgelösten Vorgang. Die Schwelle für den Gasspuckreflex ist stark vom Tempo der Drucksenkung abhängig; erfolgt die Senkung rasch, so liegt die Schwelle hoch und umgekehrt.

Es erhebt sich die Frage, auf Grund welcher Sinnesreize der Spuckreflex ausgelöst wird. Drucksenkung ruft physikalisch eine Ausdehnung der Schwimmblase hervor, und diese bedingt wiederum eine Verringerung des spezifischen Gewichts des Fisches. Es kommen daher sowohl propriozeptive (Schwimmblasendehnung) als exterozeptive Reize in Frage (Gewichtsabnahme, gegebenenfalls Auftrieb). Die Wirksamkeit der exterozeptiven Reize steht außer Zweifel, besonders dann, wenn Auftrieb (passive Verschwemmung) in Erscheinung tritt. Die beteiligten Sinnesorgane sind vor allem Auge und Hauttastsinn, ferner die Seitenorgane und vielleicht das Labyrinth<sup>1,2</sup>.

Wie steht es nun mit den propriozeptiven Reizen? Außer etwaigen spannungs- oder druckempfindlichen Nervenendigungen in der Schwimmblasenwand oder in deren Umgebung käme bei den Ostariophysen das Labyrinth als Rezeptor in Frage, welches ja durch die Kette der Weberschen Knöchelchen in geeigneter Weise mit der Schwimmblase verbunden ist. Daß eine geringe Druckabnahme tatsächlich auf diesem Wege perzipiert werden kann, wurde durch Dressurversuche an der Ellritze (*Phoxinus laevis*) bewiesen<sup>3</sup>. Auch für die Auslösung des Gasspuckreflexes kommt dem Weberschen Apparat samt Labyrinth (Paris inferior) eine gewisse Bedeutung zu. Sie zeigte sich vor allem bei Versuchen am Gründling (*Gobio fluviatilis*) mit extrem langsam Drucksenkung ( $1 \frac{1}{2}$  mm Hg/min.)<sup>4</sup>. Bei einer Drucksenkungsgeschwindigkeit von 22 mm Hg/min. spuckten geblendete, freischwimmende Ellritzen vor Ausschaltung des Weberschen Apparates durchschnittlich bei 32 mm Hg Unterdruck, nach der Operation bei 39 mm. Die Schwellenerhöhung war also verhältnismäßig geringfügig (etwa 22%)<sup>2</sup>. Bei noch rascherer Drucksenkung (480 mm Hg/min) ließ sich eine Beteiligung des Weberschen Apparates überhaupt nicht feststellen<sup>5</sup>.

Es bleibt nun die Frage zu beantworten, inwiefern eine direkte Wahrnehmung der Schwimmblasendehnung durch sensible Nervenendigungen an der Auslösung des Spuckreflexes beteiligt ist. Eine solche müßte sich zeigen, wenn exterozeptive Reizung und (gegebenenfalls) der Webersche Apparat ausgeschaltet werden. In einer früheren Arbeit<sup>2</sup> wurde zu diesem Zweck eine geblendete Ellritze geprüft, der außerdem das Rückenmark dicht hinter dem Kopf durchtrennt war. Bei diesem Tier war infolge der Schwimmunfähigkeit die Regelung der

<sup>1</sup> G. FRANZ, Z. vergl. Physiol. 25, 193 (1938).

<sup>2</sup> S. DIJKGRAAF, Z. vergl. Physiol. 30, 39 (1942).

<sup>3</sup> S. DIJKGRAAF, Z. vergl. Physiol. 28, 389 (1941); 30, 39 (1942).

<sup>4</sup> F. P. MOEHR, Z. vergl. Physiol. 28, 1 (1941).

<sup>5</sup> G. FRANZ, Z. vergl. Physiol. 25, 193 (1938).

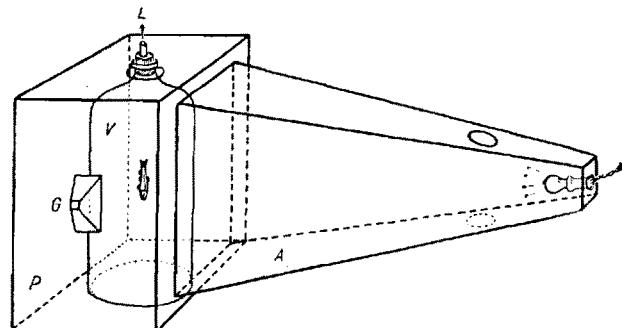
Schwimmblasenfüllung gestört; es hing mit starkem Auftrieb ständig an der Oberfläche. Das Auftreten exterozeptiver Reize bei Drucksenkung war somit praktisch ausgeschlossen. Vor Ausschaltung des Weberschen Apparates spuckte es in 11 Prüfungen durchschnittlich bei 31 mm Hg-Unterdruck (Senkungsgeschwindigkeit wie oben, 22 mm Hg/min). Nach der Operation (Unterbrechung der Knöchelchenketten durch beiderseitige Entfernung des Incus) spuckte das Tier bei der ersten Prüfung bei 149 mm Hg Unterdruck und danach gar nicht mehr (9 Prüfungen, dargebotene Drucksenkung bis zu 150–168 mm Hg). Der Versuch schien also gegen eine Druckempfindlichkeit der Schwimmblase oder deren Umgebung zu sprechen. Dieser Schluß sollte sich aber als unrichtig erweisen! Da von zehn in der angedeuteten Weise operierten Ellritzen nur das erwähnte Exemplar anhaltend Auftrieb zeigte, konnte der wichtige Versuch damals aus Mangel an Material nicht wiederholt werden.

Von zehn nunmehr erneut in derselben Weise operierten Ellritzen zeigte wiederum eine anhaltend starke Auftrieb. Diesem Tier wurden außerdem noch die Rumpfseitenlinien außer Funktion gesetzt. Es trieb ständig an der Oberfläche. Vor Ausschaltung des Weberschen Apparates spuckte der Fisch in 15 Prüfungen durchschnittlich bei 62 mm Hg-Unterdruck (Senkungsgeschwindigkeit 24 mm Hg/min); nach Entfernung des einen Incus in 4 Prüfungen bei 57 mm, nach Entfernung auch des zweiten Incus in 9 Prüfungen bei 76 mm Hg Unterdruck. Es zeigte sich also wiederum eine geringe Schwellenerhöhung (etwa 25%), daneben aber die wichtige Tatsache, daß die Schwimmblasendehnung auch ohne Weberschen Apparat den Gasspuckreflex auslösen kann. Es ist das wohl nur durch die Beteiligung mechanischer Propriozeptoren in der Schwimmblasenwand oder deren Umgebung zu erklären – ein Schluß, zu dem auf anderem Wege schon FRANZ gekommen war<sup>1</sup>. Auf dieser Grundlage wird auch das Ergebnis früherer Versuche besser verständlich, bei denen blinde Ellritzen zur Vermeidung von Auftrieb in ein Glasröhrchen gesperrt und so geprüft wurden. Diese Tiere spuckten nach Ausschaltung des Weberschen Apparates durchschnittlich bereits bei 28 mm Hg-Unterdruck (Tempo der Drucksenkung 22 mm Hg/min)<sup>2</sup>.

Beim geschilderten Vorgehen mußte mit Fischen gearbeitet werden, deren Schwimmblasenfüllung abnormal war. Da die Schwelle des Gasspuckreflexes vom Füllungsgrad der Schwimmblase abhängig ist, wurde eine andere Methode ausgearbeitet, bei der normal äquilierte Ellritzen untersucht werden können. Zur Ausschaltung exterozeptiver Reize (»Auftrieb«) wurde das Versuchstier in einem ganz mit Wasser gefüllten Gefäß eingesetzt. Dieses stand in der Dunkelkammer und war von einer Papphülle umgeben, in der ein Guckloch zur Beobachtung des Fisches angebracht war. Eine Seitenwand der Hülle war durch ein pyramideförmiges Ansatztück ersetzt, in dessen Ende eine Lampe angebracht war, welche das Versuchsgefäß also von der Seite her beleuchtete (Abbild.). Dem Versuchsfisch war einige Wochen vor dem Einsetzen beiderseits die Pars superior des Labyrinthes entfernt worden. Die Ellritze zeigte zunächst starke Gleichgewichtsstörung, hatte sich aber seither so gut optisch orientieren lernen, daß sie normal herumschwamm (wenigstens solange sie nicht beunruhigt wurde). Im Versuchsgefäß zeigte das Tier den bekannten »Lichtrückenreflex«, d. h. es schwamm dauernd mit dem

Rücken mehr oder weniger zum Licht gewendet herum<sup>1</sup>. Es war dabei gut äquilibriert. Die passive Aufwärtsbewegung bei Drucksenkung konnte dem Tier jetzt nur mehr als »Strömung« erscheinen<sup>2</sup>, und nicht als Auftrieb, da die Verschwemmung ja parallel der scheinbaren Oberfläche (der Lichtseite) stattfand. Eine exterozeptiv bedingte Auslösung des Gasspuckreflexes war dadurch jedenfalls vermieden.

Nach Eingewöhnung spuckte das Tier vor Ausschaltung des Weberschen Apparates in 8 Prüfungen durchschnittlich bei 59 mm Hg Unterdruck, nach der Operation in 5 Prüfungen bei 65 mm. Die Schwelle für den Gasspuckreflex war also praktisch unverändert<sup>3</sup>, und der Versuch bestätigt die oben abgeleitete Schlußfolgerung, wonach der Schwimmblasenwand oder deren Umgebung Druckempfindlichkeit zuzuschreiben ist.



Apparat zur Auslösung des Gasspuckreflexes unter Vermeidung exterozeptiver Reizung durch Auftrieb. *V* Versuchsgefäß, bis nahe an den Stopfen mit Wasser gefüllt; darin labyrinthlose Ellritze, mit dem Rücken zum Licht gekehrt. *L* Leitung zum Unterdruckreservoir. *P* Papphülle mit *G* Guckloch und *A* Ansatztück mit Lampe und Ventilationsöffnungen.

Daß es sich wahrscheinlich um Rezeptoren in der Schwimmblasenwand selbst handelt, geht aus Versuchen einiger russischer Forscher hervor<sup>4</sup>. Diese Autoren haben gezeigt, daß Druckerhöhung innerhalb der Schwimmblase mit dem Auftreten afferenter Impulse in den entsprechenden Nervenästen (Vagus, Sympathicus) einhergeht<sup>5</sup>.

Überblickt man alle bisherigen Ergebnisse über Druckperzeption durch Schwimmblasendehnung, so scheint es, als ob mit dem Weberschen Apparat vor allem feinere und geringe Druckschwankungen perzi-

<sup>1</sup> W. v. BUDDENBROCK, Zool. Jahrb. Physiol. Abt. 34, 479 (1914). – E. v. HOLST, Pubbl. Staz. Zool. Napoli 15, 143 (1935).

<sup>2</sup> Er reagierte darauf auch häufig entsprechend »rheotaktisch«, indem er durch senkrecht abwärts gerichtete Schwimmbewegungen der Verschwemmung entgegen arbeitete. – Ein störender Umstand bei dieser Versuchsanordnung ist nur noch der wechselnde Wasserdruk beim Auf- und Abschwimmen, der den Fisch theoretisch über die Lagetäuschung aufklären könnte. Praktisch zeigte sich davon nichts, denn das Verhalten des Fisches änderte sich nicht nach Ausschaltung des Weberschen Apparates, d. h. der Perzeptionsfähigkeit für die hier in Frage kommenden Druckschwankungen (vgl. DIJKGRAAF, 1941).

<sup>3</sup> Das gleiche Ergebnis wurde inzwischen von Fr. E. BERGER an 4 weiteren Ellritzen erhalten.

<sup>4</sup> Cf. S. KOSHTOYANTZ und TH. D. VASILENKO, J. Physiol. 14, 16 (1937). – TH. D. VASILENKO und M. N. LIVANOV, Bull. Biol. Méd. Expér. URSS, 2, 264 (1936).

<sup>5</sup> Zu diesem Ergebnis kam auch FRANZ (l. c.). – Über Aussehen und Lage der Nervenendigungen in der Schwimmblasenwand der Cypriniden berichtet D. SCEVOLA, Monit. Zool. Ital. 48, 283 (1938).

<sup>1</sup> G. FRANZ, Z. vergl. Physiol. 25, 193 (1938).

<sup>2</sup> S. DIJKGRAAF, Z. vergl. Physiol. 30, 39 (1942).

piert werden, während erst für gröbere Schwankungen (etwa oberhalb 30 mm Hg) die Schwimmblasenwand zuständig wäre<sup>1</sup>.

S. DIJKGRAAF

Institut für vergleichende Physiologie der Universität Utrecht, den 20. Dezember 1949.

### Summary

Like other Physostomi, *Phoxinus latus* reacts to artificial pressure decrease by giving off gas bubbles from the swimbladder through the air duct («Gasspuck-reflex»). This reaction is partly released by *proprioceptive* stimuli (extension of the swimbladder), partly by *exteroceptive* stimulation (passive upward displacement). Concerning the first category of stimuli it has been stated that pressure perception in the labyrinth—connected with the swimbladder by the Weberian ossicles—plays a part at minor pressure decreases. For the rest, direct perception of the swimbladder extension is shown to be of great importance. In the latter case probably sensible nerve endings in the wall of the swimbladder are stimulated.

<sup>1</sup> Vgl. auch MOEHRES (l. c., S. 39).

### Fixation of Free Nitrogen by Insects

The main-object of the present paper is to offer a proof that pure cultures of symbionts from the larvæ of a series of insects are able to fix atmospheric nitrogen. The insects in question include the bark beetles (*Ips* sp.), *Sitodrepa panicea*, *Tribolium navale* (from flour), clothes moths, a moth living in dry mushrooms (*Ephestia* ?) and also partially *Drosophila melanogaster*. The symbionts studied are *Torulopsis-Cryptococcus*<sup>1</sup>—which we propose to call *Šulcia*—occurring in masses in the fatbodies of *Ips*, *Sitodrepa*, *Tribolium navale*—*Azotobacter* (*Azot. Šulci*) occurring under similar conditions in the fatty tissues of clothes moths and of *Ephestia*; we also found in some preparations of the latter insect a *Torulopsis*. Moreover, a *Torulopsis* was discovered (Fig. 3, HEIDENHAIN, magnification c. 400) in the larvæ of *Drosophila*.

*Azotobacter*, appearing in cultures in the form of occasional thick rods, cocci or irregular sarcina-like clusters, etc., were found in the larvæ of *Ips* which we have previously studied closely in other parts of the bodies. Fig. 1 shows a microtome section from an egg of *Ips typographus*, FLEMMING, HEIDENHAIN + aniline-safranin + inversely staining after tannin and potassium antimonyl tartrate with gentiana. From top to bottom: *Torulopsis* (black), small coccus (*Azotobacter*, photo indistinct) red, magn. c. 1000. Fig. 2 the coccus and the zoogloæ of symbiotic, very minute bacteria stained blue, magn. c. 400, photographed by O. JIROVEC.

The eggs of *Ips* were preferred to culture tests following sterilization with sodium ethyl mercuric thiosalicylate. Instead of larvæ we also used the pupæ of other insects. The culture of *Torulopsis* was made with decoctions of white beans, peptone and sucrose and was kept pure with penicillin. We are at present unable to include other microbial isolates. In 1949 we showed<sup>2</sup> by means of VIRTANEN-TOTH's method that the larvæ of three species of the destructive spruce bark beetle (*Ips*) can fix free nitrogen in definite phases of their life,

notably before their symbionts are digested. In our fixation experiments we used succinic acid<sup>1</sup> for inducing some oxidation processes. Vitamins, which were also supposed to play a part in this process were supplied as "bioklein", a Czechoslovak product from barley germs and containing mainly vitamin B<sub>1</sub>. Glutamate (as sodium salt) together with asparagin provided the amid. The solutions contained: (1) succinic acid 200 cc., 2%, bioklein, 5 g, sucrose, 3%; (2) substitute 2% glutamate for bioklein; (3) substitute 1% asparagin for bioklein. To each a 3%  $K_2HPO_4$  and  $K_2CO_3$  solution was added to make the  $pH = 7.5$ .

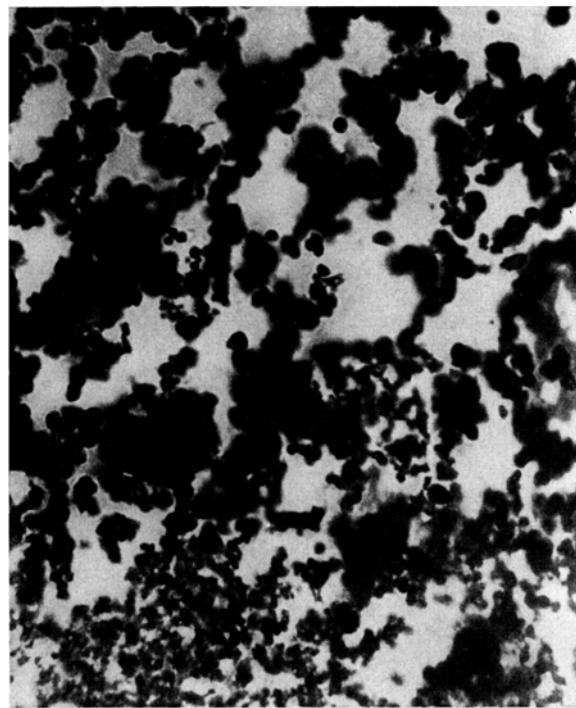


Fig. 1. — Microtome cross-section through the same egg of *Ips typographus*. Above: *Torulopsis* (black-HEIDENHAIN); below: *Coccus* (*Azotobacter*) (red-safranin), c. 1000  $\times$ .

The cultures were kept in conical flasks at 18° C or above, with access of air,  $H_2SO_4$ . The N-content was determined after a week by Kjeldahl's method and the results were as follows:

*Torulopsis* in clothes moth; increase in N compared with initial content, (1) max. 213%; min. 21%; unaerated 8%, (2) 54% (control 14 mg N) aerated.

*Ephestia* (1) 14%; 5.4%.

*Tribolium* (1) max. 114%; min. 13%. (2) 19%.

*Ips typographus* (1) max. 55%; unaerated 1%. (2) 7%.

*Sitodrepa* (1) 7% (in the hot weather the culture contents became somewhat concentrated). (2) unaerated 20%.

*Coccus* small (*Azotobacter*) (2) 11%. Large (*Azotobacter*) (3) 20% (control 13.86 mg N). (2) unaerated 3.4%.

All cultures of *Torulopsis* and *Azotobacter* fixed free nitrogen; those with glutamate (2) to a lesser degree. Differences in quantities fixed is likely to depend upon the amount initially present in the cultures. E. g.:

*Clothes Moth* (1) (a) control 3.7 mg N, final 11.6. 50 cc., increase 213%. (b) control 5.32 mg N, final 6.44. 100 cc., increase c. 21%.

*Tribolium* (1) (a) control 2.2 mg N, final 4.7. 50 cc., increase 114%. (b) control 5.6 mg N, final 6.3. 100 cc., increase c. 13%.

<sup>1</sup> L. TOTH and T. Z. CSAKY, Exper. 4, 73 (1948).

<sup>2</sup> A. T. HENRICI et al., *Moulds, Yeasts, Actinomycetes*, p. 308 (1947).