

Table

	Number of ovaries in stage 1–5					Percent developed
	1	2	3	4	5	
Queenless 1	5	10	13	10	7	67
Queenless 2	4	3	22	6	4	82
Dead fecundated queen (freshly killed)	44			2		4
Dead virgin queen (10 days)	36					0
Dead fecundated queen (10 months)	44			2		4
Dead virgin queen (12 months)	23	6	4	3	1	22
Dead fecundated queen head	43	1				0
thorax	8	7	15	10	1	63
abdomen	41	1	2	4		13

Inhibition of ovary development by dead queens or separated queen head, thorax and abdomen.

isolated queen abdomen was somewhat less, whereas the thorax exerted no distinct influence. The results of only one of the experiments showing a clear effect of dead queens or parts of it are given in the table.

In order to investigate the significance of direct (mechanical) and indirect contact between queen and worker bees for the inhibition of ovary development, three experimental cages with 50 bees in each were fastened against each other. The middle cage containing a queen was separated from the one by a single layer of gauze which prevented the passage of the bees, and from the other by two such layers of gauze at a distance of about 20 mm. Any direct contact of the queenless bees in the latter cage with the queen was impossible. In these experiments, development of the ovaries only occurred in the bees separated from the queen by the double gauze wall. Thus the bees, which were not allowed a direct contact with the queen or the queen attendants by means of tongue or antennae, developed the ovaries while the others did not.

In another experiment, two cages with 50 bees in each and one containing a queen were separated partly by a zinc plate, partly by gauze. The cage with the queen was divided into two compartments by means of a queen excluder. The queen was placed in the compartment separated from the queenless bees by the zinc plate. In this way the queenless bees were unable to touch the queen. Indirect contact was possible by means of the bees which could pass the queen excluder. In this experiment the ovaries of the queenless bees were not inhibited, which points to the necessity of a direct contact between each worker bee and the queen for the inhibition of the ovaries.

Comparable results were obtained in experiments with dead queens. If a dead queen was surrounded by gauze in such a way that the worker bees were unable to touch it, the ovaries developed to the same extent as without a queen, whereas in the controls with a dead queen not surrounded by gauze ovary development was suppressed.

From these experiments, we are inclined to conclude that it is neither the odour of the queen, nor the active transfer of certain substances from the worker bees to the queen or conversely, which accounts for the results obtained. A logical explanation seems to be the presence of a substance on the surface of the queen which after consumption by the worker bees inhibits the development of the ovaries.

To test this hypothesis, dead queens were extracted with ethanol in a Soxhlet apparatus. In the presence of an extracted queen, about the same development of the ovaries was obtained as shown by control bees without a queen, while a queen which was extracted but afterwards impregnated with the extraction fluid inhibited the ovaries almost completely. About the same results were obtained if the queens were extracted with acetone instead of ethanol.

These observations support the above-mentioned hypothesis. Further experiments are needed, however, to allow a more definite conclusion.

A. P. DE GROOT and STIEN VOOGD

Laboratory of Comparative Physiology, University of Utrecht, March 8, 1954.

Zusammenfassung

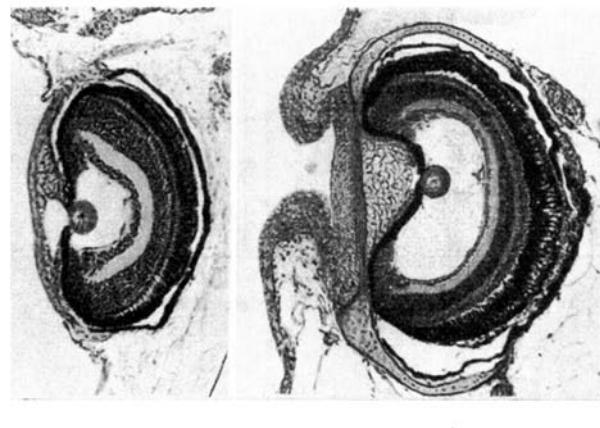
Gruppen von 50 Jungbienen wurden in kleinen Versuchskäfigen im Thermostaten bei 30°C gehalten und mit Zuckerteig + 15% Pollen gefüttert. Bei Anwesenheit einer Königin entwickelten sich ihre Ovarien nicht. Ohne Königin waren jedoch die Ovarien bei Tötung nach 3 Wochen deutlich entwickelt. Die hemmende Wirkung geht nicht nur von der lebenden Königin aus: auch bei Anwesenheit einer toten Königin unterbleibt die Ovarientwicklung. Es genügte sogar bloss deren Kopf oder Abdomen; der Thorax hingegen war nicht deutlich wirksam. Für das Zustandekommen der hemmenden Wirkung ist direkter Kontakt jeder einzelnen Arbeiterin mit der Königin bzw. deren erwähnten Körperteilen erforderlich. Mit Alkohol oder Azeton extrahierte Königinnen waren unwirksam; nach Imprägnierung mit der Extraktflüssigkeit wirkten sie wieder hemmend.

Aus den Versuchen scheint somit hervorzugehen, dass die Entwicklung der Arbeiterinnen-Ovarien normalerweise deshalb unterbleibt, weil jede einzelne Arbeiterin in direktem Kontakt vom Körper der Königin eine Substanz aufnimmt, welche die Ovarientwicklung hemmt.

Augenrückbildung und Lichtsinn bei *Anoptichthys jordani* Hubbs und Innes

Blinde Höhlenfische sind aus verschiedenen Familien und aus ganz verschiedenen Regionen bekannt: so *Stygi-*

cola dentatus Poey (Brotulidae) aus Kuba¹, *Caecobarbus Geertsii* (Cyprinidae) aus dem Belgisch-Kongo-Gebiet² und *Anoptichthys jordani* Hubbs und Innes (Characidae) aus Zentralmexiko³. Die meisten der vorliegenden Arbeiten befassen sich mit Fragen der Evolution und der



a

b

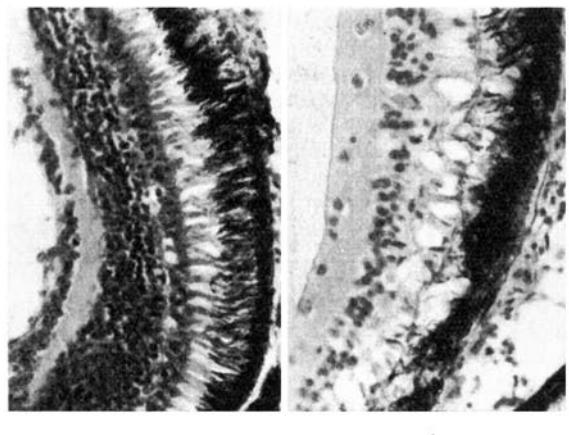
Abb. 1a. Auge eines 8 mm langen *Anoptichthys jordani*, Frontalschnitt, Vergrösserung 100×.

Abb. 1b. Auge eines 15 mm langen *Anoptichthys jordani*, Frontalschnitt, Vergrösserung 100×.

Ökologie. Nachdem es möglich wurde, *Anoptichthys* in Europa zu erhalten und zu züchten, lag es nahe, die Sinnesphysiologie, insbesondere die Frage eines Lichtsinnes und seine Beziehung zu den verschiedenen Rückbildungsstadien der Augen, bei diesen Höhlenbewohnern im Vergleich zu den in freien Gewässern lebenden Fischen zu untersuchen. Über das Vorhandensein eines Lichtsinnes bei *Anoptichthys* sind verschiedene Ansichten geäussert worden⁴. Mit Hilfe der Dressurmethode⁵ ist es uns gelungen, die Rezeption von Helligkeitsunterschieden und deren untere Grenze eindeutig nachzuweisen. Die Frage des Rezeptionsortes, das heisst der Nachweis einer – wenn auch beschränkten – Funktionstüchtigkeit der Augen bis zu einem bestimmten Rückbildungsstadium, das Vorhandensein eines Hautlichtsinnes oder eines Rezeptionsvermögens im Bereich des Zwischenhirns⁶ geht ihrer Klärung entgegen.

Junge *Anoptichthys jordani* schwimmen 5–6 Tage nach dem Schlüpfen frei. Die Augen sind bei ihnen kleiner als bei Jungfischen verwandter Arten. Zehn Tage alte Tiere haben bei einer Körperlänge von 7 bis 8,2 mm (von Kopfspitze bis Schwanzflossenansatz gemessen) noch oberflächlich gelegene Augen mit ausserordentlich kleinen Linsen und Pupillen (Abb. 1a). Während Sklera und Chorioidea mit Argentea einen für Teleosteeri typischen Bau aufweisen, erscheint die Kornea verdickt. Die vordere Augenkammer wird eingeeengt durch ein vom Sklerokornealrand in sie hineinwucherndes Gewebe, das wohl dem Ligamentum annulare entspricht. Die Linse besteht nur aus Epithelzellen, jede Faserbildung fehlt. Die Retina erscheint normal gebaut, der Nervus opticus

tritt in die untere Retinahälfte ein, ventral von ihm ist die Augenblase in zwei Kammern aufgeteilt. Diese Spaltung betrifft Retina und Pigmentepithel. Es wird angenommen, dass diese Bildung der fötalen Augenspalte entspricht. Die Augenmusken sind wohl ausgebildet.



a

b

Abb. 2a. Retinaausschnitt vom Auge eines 15 mm langen *Anoptichthys jordani*, Vergrösserung 440×.

Abb. 2b. Retinaausschnitt vom Auge eines 27 mm langen *Anoptichthys jordani*, Vergrösserung 440×.

Bei 28 Tage alten, auf 13–17,4 mm herangewachsenen Tieren sind auch die Augen, mit Ausnahme der Linsen, grösser geworden, die Pupillen erscheinen bei fast allen Augen verengt (Abb. 1b). Das in die vordere Augenkammer hineinwuchernde Gewebe füllt diese jetzt ganz aus. Rings um das Auge beginnt die Haut wulstartig auf die Korneamitte vorzuwachsen. Die Retina ist immer noch gut entwickelt (Abb. 2a). Ein Vergleich des Auges eines 13 mm langen *Hemigrammus unilineatus* (Characidae) mit dem eines gleich grossen *Anoptichthys jordani* zeigt folgende Verhältnisse:

	Frontaler Augendurchmesser	Linsendurchmesser	Pupillenweite
<i>Hemigrammus</i> . .	0,95 mm	290 μ	300 μ
<i>Anoptichthys</i> . .	0,51 mm	33 μ	20 μ

Bei 80 Tage alten, 24–33 mm langen *Anoptichthys* sind die Augen in die Tiefe der Orbita verlagert (Abb. 3). Die Hautwülste haben die Augen soweit überwachsen, dass nur über der Korneamitte ein englumiger Kanal frei bleibt. Rings um das Auge wachsen neue Epidermisfalten auf die Einsenkungsstelle zu und sorgen für einen weiteren Abschluss des Auges von der Körperoberfläche. Die Augen sind in allen Fällen grösser geworden, bei einigen sind auch die Linsen etwas vergrössert, während bei anderen Linsen und Pupillenöffnungen jetzt ganz fehlen.

In diesem Stadium zeigt auch die Retina Degenerationserscheinungen (Abb. 2b). So kann die Schicht der Stäbchen und Zapfen mit entsprechend wenigen Kernen auch in der äusseren Körnerschicht verödet sein, oder es erscheint die innere Körnerschicht verarmt und aufgelockert. Auch das Pigmentepithel kann klumpig degenerieren.

Das Auge des adulten *Anoptichthys* liegt tief in der Orbita, umgeben von einer geschlossenen Pigmenthülle (Abb. 4). Die Retina ist weitgehend verödet. Es erscheint

¹ C. KOSSWIG, Verh. Zool. Ges. Greifswald, Suppl. 7, 185 (1934).

² M. J. HEUTS, Ann. Soc. Roy. Zool. Belg. 42, II, 155 (1951).

³ C. M. BREDER, Jr., Zoologica 27, 7 (1942).

⁴ E. MEDER, Dtsch. Aqua. Terr. Z. 5, 171 (1952). — K. H. LÜLING, Dtsch. Aqua. Terr. Z. 6, 62 (1953). — C. M. BREDER, Jr., und P. RASQUIN, Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. 89, 323 (1947). — K. H. LÜLING, Zool. Anz. 151, 289 (1953).

⁵ K. V. FRISCH, Verh. dtsch. Zool. Ges. 29, 21 (1924).

⁶ E. SCHARRER, Z. vgl. Physiol. 7, 1 (1928).

Die Augenmaße bei verschiedenen Altersstufen von *Anoptichthys jordani*

Alter	10 Tage			28 Tage			92 Tage		
Grösse (mm)	7	7	8	13	15	16	28,5	31	31
Rechtes Auge, Durchmesser (mm)	0,31	0,35	0,41	0,51	0,56	0,64	0,77	0,71	0,95
Linse, Durchmesser (μ) . .	38	40	49	33	33	66	33	126	34
Pupillenweite (μ)	38	38	43	20	20	17	--	50	--
Linkes Auge, Durchmesser (mm)	0,34	0,37	0,41	0,52	0,53	0,60	0,73	0,76	0,95
Linse, Durchmesser (μ) . .	34	40	42	33	31	50	--	132	--
Pupillenweite (μ)	33	37	40	12	14	8	--	66	--

Die Tabelle gibt Einzelbeispiele aus einer grösseren Anzahl von untersuchten Tieren. — bedeutet Fehlen der betreffenden Struktur.

kaum vorstellbar, dass dieses Gebilde noch als Lichtsinnesorgan funktionieren kann.

Da ganz junge Anoptichthys gerichtet nach lebenden Cyclops und dergleichen schnappen und die Augen auch bewegen können, musste mindestens mit der Möglichkeit eines Bewegungssehens gerechnet werden. Um chemische und mechanische Sinnesorgane auszuschalten, wurden die Futtertiere (Cyclops) in einer aus dünnen Deckgläsern hergestellten Kammer geboten. Bei einer Lichtintensität von 136 Lux auf dem Boden des Versuchsbeckens wurde zunächst das Verhalten von zehn jungen *Colisa lalia* (Labyrinthici) und anschliessend das von zehn jungen *Hemigrammus unilineatus* (Characidae) geprüft. Sämtliche Jungfische versammelten sich kurz nach Futtereinbringung an der Kammerwand und

schnappten, immer wieder gegen die Scheiben stossend, heftig nach dem Futter. Danach wurden zehn 7–12 mm lange Anoptichthys geprüft. Obwohl die Tiere 24 h lang gehungert hatten, schwammen sie regellos im Becken umher. Auch während einstündiger Beobachtung erfolgte kein Schnappversuch an der Kammerwand. Zwei weitere Versuche mit gleich grossen Anoptichthys verliefen ebenfalls negativ. Demnach scheint schon den ganz jungen Höhlensalmern ein Sehen von Bewegungen zu fehlen. Angesichts der geringen Ausbildung von Linse und Pupille konnte damit gerechnet werden. Die Aufsuchung lebender, sich bewegender Beute muss wohl durch andere Sinnesorgane ermöglicht werden¹.

¹ S. DIJKGRAAF, Exper. 8, 205 (1952).



Abb. 3. Auge eines 27 mm langen *Anoptichthys jordani*, Frontalschnitt, Vergrösserung 100×.



Abb. 4. Auge eines 65 mm langen *Anoptichthys jordani*, Transversalschnitt, Vergrösserung 100×.

Anschliessend wurde mit Hilfe der Dressurmethode geprüft, ob *Anoptichthys jordani* überhaupt Helligkeitsunterschiede zu empfinden vermag. 20 mm lange Tiere (Augen etwa wie in Abb. 1b) wurden einzeln in Dunkelaquarien untergebracht. Bei der Fütterung wurden die Becken mit einer Lichtintensität von 136 Lux (auf dem Beckenboden gemessen) bestrahlt. Geräusche und Erschütterungen traten dabei nicht auf. Nach einer An-dressur von 45 Tagen zeigten die Fische ihre charakteristischen Suchbewegungen auch bei Belichtung ohne Futtergabe. Die Reaktionen traten 2–8 Sekunden nach Reizsetzung ein. Die jungen *Anoptichthys jordani* können also Helligkeitsunterschiede wahrnehmen.

Bei den folgenden Versuchen wurde zur Feststellung der unteren Reizschwelle die Lichtintensität herabgesetzt. Bei 68, 34, 17, 8, 2, 1 und 0,5 Lux traten mit geringen Abweichungen gleiche Reaktionszeiten wie bei 136 Lux auf. Bei 0,25 Lux reagierten die im Laufe der Versuche auf 30 mm herangewachsenen Tiere, deren Augen jetzt dem in Abbildung 3 gezeigten Stadium entsprechen müssten, bei 25 Testen fünfmal nicht mehr; die Latenzzeit der noch positiven Reaktionen erhöhte sich auf 11–17 s. Bei 0,12 Lux waren 15 von 25 Testen negativ, und die noch positiven Reaktionen traten erst nach 25–28 s ein. Bei noch geringerer Lichtintensität konnte der Beobachter nicht mehr sicher urteilen. Man darf jedoch aus diesen Ergebnissen den Schluss ziehen, dass um 0,12 Lux herum die untere Reizschwelle liegt.

Es fragte sich nun, ob auch adulte Fische mit weitgehend rückgebildeten Augen Helligkeitsunterschiede wahrnehmen können. In einem Vorversuch wurden zwei Tiere mit 50 bzw. 60 mm Körperlänge bei 136 Lux adressiert und auch getestet. Sie reagierten nach durchschnittlich 6,6 bzw. 6,3 s. Dieser Befund könnte darauf hindeuten, dass bei *Anoptichthys jordani* entweder neben den mehr oder weniger rückgebildeten Augen oder sogar vorwiegend ein anderes Organ bei der Aufnahme von Lichtreizen eine Rolle spielt. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung sind im Gange.

O. KUHN und J. KÄHLING

Zoologisches Institut der Universität Köln, den 25. März 1954.

Summary

After hatching, young individuals of the Mexican blind characin *Anoptichthys jordani* Hubbs and Innes possess small, movable eyes. In the course of growth, the eyes are overlapped by skinfolds and tend to sink into the depth of the orbital cavity. Lens and pupillary opening may disappear and degeneration is to be found in the retina.

Even very young blind characins seem to have no vision of movements, while they are able to perceive light. The lower limit is about 0.12 Lux of light intensity. Experiments concerning the localisation of this perception of light are in progress.

PRO LABORATORIO

Über eine neue Methode der Messung sehr kleiner Mengen von CO in Luft, Blut und Lunge

Die bisher üblichen Methoden haben den Nachteil, dass sie zeitraubend sind und daher für fortlaufende Registrierung nicht taugen und außerdem nicht ge-

statten, weniger als 1 Teil CO auf 500 000 Teile Luft (oder Fremdgas) mit grösserer Genauigkeit zu bestimmen. Wir haben versucht, einen auf CO empfindlichen chemischen Reaktionsweg mittels spektro-photometrischer und elektronischer Messung ausfindig zu machen, und es gelang uns, ein Instrument zu bauen, welches gestattet, 1 Teil CO auf mehr als 100 Millionen Teile Luft zu messen und fortlaufend zu registrieren.

Es ist bekannt, dass HgO bei Erhitzung mit CO reagiert und Hg in dampfförmigem Zustand frei wird^{1,2}. Die Menge des befreiten Hg ist proportional dem anwesenden CO und kann dann spectro-photometrisch bestimmt werden, indem man die Eigenschaft des Quecksilberdampfes benutzt, absorbierend auf die Hg-Resonanzlinie einer Hg-Lichtquelle zu wirken. Wir haben diese Idee ausgebaut und – je nach dem Verwendungszweck – eine Reihe von Instrumenten entwickelt, die handlich und transportabel sind.

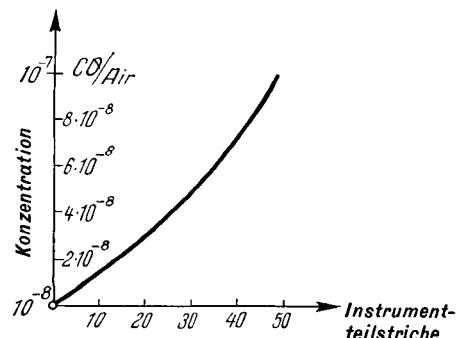


Abb. 1. Eichkurve im hoch sensiblen Bereich von 1 Teil CO auf 100 Millionen Teile Luft.

Ein derartiges Instrument besteht aus zwei Teilen: der chemischen Reaktionskammer und dem Quecksilberdampf-Messgerät. Die chemische Reaktionskammer besteht aus einem Ofen, der auf konstante Temperatur unterhalb 200°C gehalten ist und in dem sich zwei spiralförmig gewundene Rohre befinden. Beide enthalten eine kleine Reaktionskammer, in der sich HgO befindet. Die beiden Rohrsysteme sind an eine kleine Pumpe angeschlossen, die gleichzeitig ein Bezugsgas (Frischluft bzw. mit CO bekannter Konzentration versetztes Gas) und CO-Gas unbekannter Konzentration in ein Quecksilberdampf-Messgerät hinübersaugt. In letzterem wird der frei gewordene Hg-Dampf gemessen. Das Gerät enthält eine zwecks höherer Empfindlichkeit besonder entwickelte Hg-Quarzlampe^{3,4}, deren Lichtfluss im 2537-Å-Bereich, nach Filterung des sichtbaren Anteiles, durch zwei Gaszellen läuft und auf zwei UV-empfindliche Photozellen fällt. Über einen Brückenverstärker wird der resultierende Photozellenstrom einem Zeigerinstrument zugeführt oder zwecks Registrierung einem Schreibgalvanometer. Der Empfindlichkeitsbereich kann durch einen Stufenschalter eingestellt werden. Im empfindlichsten Bereich, den wir derzeit praktisch kontrollieren können, entspricht 1 Skalenteil am Instrument einer Konzentration von 1 Teil CO auf 100 Millionen Teile Luft oder Fremdgas. Es zeigte sich, dass bei erhöhter Stabilisierung von Temperatur und Reaktion die Empfindlichkeit noch weiter gesteigert werden kann. Die Genauigkeit im derzeitig höchsten

¹ J. D. McCULLOUGH et al., Anal. Chem. 19, 999 (1947).

² A. O. BECKMAN et al., Anal. Chem. 20, 674 (1948).

³ V. TOMBERG, Strahlentherapie 59, 371 (1937).

⁴ V. TOMBERG, Ber. Internat. Kongress für Lichtbiologie, Paris 21, 153 (1950).