

Einige Wirkungen der Amputation der optischen Tentakel bei einer Landlungenschnecke (*Eobania vermiculata* Müll.; Helicidae)

Eine hormonale Beeinflussung von Eireifung und Spermienbildung durch einen Faktor der augentragenden Tentakel wurde bei Pulmonaten mehrfach festgestellt¹⁻⁹, wobei die Ergebnisse bei Nacktschnecken einheitlich, bei Heliciden dagegen z.T. widersprüchlich sind. Neben dieser Wirkung auf die Gonade führt die Exstirpation der Augententakel bei *Ariolimax columbianus* ausserdem zu einer Vergrösserung der Eiweissdrüse und zu vermehrter Galactogensynthese in derselben¹⁰, bei *Helix aspersa* zu einer Degeneration der Calciumzellen in der Mitteldarmdrüse⁷. Nachfolgend werden einige Versuche geschildert, welche den Einfluss der Tentakelamputation auf das Trockengewicht der Eiweissdrüse, den Wasserverlust des ganzen Tieres während des Trockenschlafs und die Höhe des Stoffwechsels der Mitteldarmdrüse in vitro bei einer Helicide untersuchen.

Material und Methode. Den Versuchstieren (*Eobania vermiculata* Müller) wurden 1-3 Wochen nach der Aktivierung aus dem Winterschlaf beide Augententakel im proximalen Drittel ihrer Länge amputiert und die Tiere daraufhin drei Tage lang bei reichlichem Futter- und Wasserangebot gehalten. Anschliessend wurden sie einem mehrwöchigen Trockenschlaf (21-23°C; Tageslänge 14/10) unterworfen und dabei der Gewichtsverlust regelmässig festgestellt. Danach wurde der Sauerstoffverbrauch von Mitteldarmdrüsen Schnitten mittels Warburg-Apparatur bestimmt (Medium nach¹¹, pH = 7,5 mit *Tris*-Puffer, 1% Glukose; Temperatur 20°C) und das Trockengewicht der Eiweissdrüse festgestellt (105°C, 8 h). Eine gleich grosse Kontrollgruppe (N = 15) wurde mit Ausnahme der Tentakelamputation gleich wie die Versuchsgruppe behandelt und untersucht.

Ergebnisse. Wasserverlust: Landschnecken verlieren normalerweise in den ersten Tagen des Trockenschlafs relativ viel Wasser, schränken diesen Verlust dann aber stark ein. Dieser anfängliche Wasserverlust war bei den operierten Tieren wesentlich geringer als bei den Kontrollen (0,095 gegenüber 0,18 g/Tier/Tag); mit fortschreitender Austrocknung wurde dieser Unterschied natur-

gemäss immer geringer, war aber noch zwischen dem 40. und 70. Tag des Trockenschlafs zwischen 5% und 2% signifikant verschieden.

Eiweissdrüse. Die Tabelle gibt die Unterschiede der Trockengewichte der Versuchs- und Kontrollgruppe wieder. Tentakelamputation führt also auch bei *Eobania* zu einer Vergrösserung der Eiweissdrüse (und wahrscheinlich auch zu verstärkter Galaktogensynthese; siehe¹⁰). Wenn ähnliche Verhältnisse wie bei den besser untersuchten Arioniden vorliegen, müsste auch die Eireifung durch die Tentakelamputation beeinflusst werden, was Gegenstand einer laufenden Untersuchung ist.

Sauerstoffverbrauch der Mitteldarmdrüse in vitro. Die Tabelle zeigt, dass der bei 20°C gemessene Sauerstoffverbrauch isolierter Schnitte der Mitteldarmdrüse bei den tentakelamputierten Tieren signifikant niedriger ist als bei den Kontrollen. Die Amputation wirkte sich also nicht nur auf den Wasserverlust während des Trockenschlafs (und vermutlich auf den Gesamtmetabolismus), sondern auch auf eine in vitro fassbare Teilfunktion aus. Neben der Steuerung der Galaktogensynthese¹⁰ ist dies ein eindeutiger Nachweis einer hormonalen Stoffwechselregulation bei Gastropoden. Dass es sich nicht um eine Störung im Sinne einer allgemeinen Mangelercheinung⁷ handelt, zeigt die gleichzeitige Grössenzunahme und Reifung der Eiweissdrüse; es ist also sicher nicht das ganze Tier schwer geschädigt, was auch durch das lange Überleben tentakelamputierter Tiere und die ausgezeichnet funktionierende Kontrolle des Wasserverlusts bestätigt wird.

Summary. Amputation of the optic tentacles in *Eobania vermiculata* causes lower water loss during aestivation, increase of dry weight of the albumen gland, and decrease of in vitro oxygen consumption of hepatopancreas tissue.

H. NOPP

II. Zoologisches Institut der Universität,
Dr.-Karl-Lueger-Ring 1, A-1010 Wien (Österreich),
18. Dezember 1970.

Sauerstoffverbrauch von Hepatopankreas-Schnitten bei 20°C; mm³/g Trockengewicht/Stunde

	Tentakel- operierte Tiere	Kontroll- tiere	p
QO ₂	1100,7 ± 270,4	1406,2 ± 325,8	0,01
Eiweissdrüse			
mg Trockengew.	43,79 ± 35,5	14,78 ± 15,2	0,02 > p > 0,01
Eiweissdrüse			
Schwankungs- breite in mg	3,7-117,3	3,6-61,5	
N	14	15	

Eiweissdrüsen-Trockengewicht. Mittelwerte ± Standardabw.

- 1 A. GUYARD, C. r. Acad. Sci., Paris, Sér. D 265, 147 (1967).
- 2 H. HERLANT-MEEWIS und J. J. VAN MOL, C. r. Acad. Sci., Paris 249, 321 (1959).
- 3 D. KUHLMANN und A. NOLTE, Z. wiss. Zool. 176, 271 (1967).
- 4 N. J. LANE, Q. J. microsc. Sci. 103, 211 (1962). - Quart. J. microsc. Sci. 105, 35 (1964).
- 5 D. PELLUET und N. J. LANE, Can. J. Zool. 39, 789 (1961).
- 6 D. PELLUET, Can. J. Zool. 42, 195 (1964).
- 7 S. SANCHEZ und H. SABLIER, Bull. Soc. Zool. France 87, 319 (1962).
- 8 B. J. SMITH, Malacologia 4, 325 (1966); 5, 285 (1967).
- 9 G. J. STEPHENS und G. C. STEPHENS, Nature, Lond. 212, 1582 (1966).
- 10 V. R. MEENAKSHI und B. T. SCHEER, Comp. Biochem. Physiol. 29, 841 (1969).
- 11 C. L. PROSSER und F. A. BROWN, (Comparative Animal Physiology; Saunders, Philadelphia, London 1961).

Chromatin Differentiations in Microspores

In studies carried out on the nuclei of meristematic cells, structures apparently related to the nucleolus have been described with a peculiar organizational density of their own, and in later studies, through enzymatic reactions, it was deduced that these structures were differentiated chromatin products and bore a relation to RNA

synthesis, thus proving to be comparable with the 'puffs' of polytene chromosomes^{1,2}.

Our own analysis of microsporogenesis, using *Allium cepa* microspores fixed in glutaraldehyde-osmium and contrasted with uranyl-lead for examination under the electron microscope, revealed certain characteristic for-

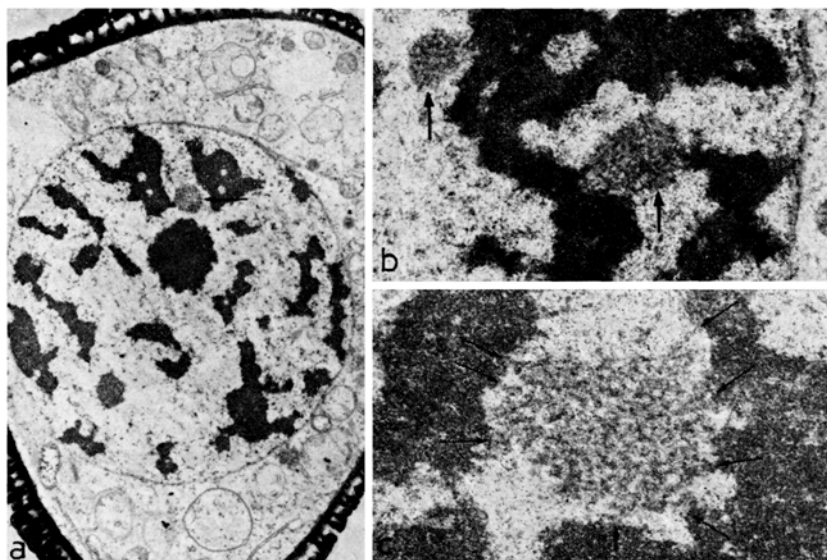


Fig. 1. a) A nucleus with the typical chromatin masses and 'micropuff' (arrow). $\times 4,663$. b) Part of a nucleus. 2 micropuffs (arrows), closely linked to the chromatin, can be observed. $\times 17,485$. c) The relationship between the micropuff and the chromatin masses can be observed (arrows). $\times 32,500$.

mations with a diameter of $1\ \mu\text{m}$ which appeared closely associated, at the same time, with a number of chromatin masses (Figure 1, a and b). The morphology of these formations appears to correspond exactly to the 'micropuffs' described by LAFONTAINE¹ and LAFONTAINE and LORD². They consist, structurally, of dense elements forming fine cords of strings approximately $100\ \text{\AA}$ thick, less dense than the chromatin and enveloped in a formation of even lower density (Figure 1c). The connexions between these formations and the adjacent chromatin masses are apparently established by means of cords coming out from the chromatin masses (Figure 1c), and we might deduce from this that the chromatin mass gives rise to differentiations similar to the puffs in polytene chromosomes^{3,4}. On the basis of this similarity we may connect the activities of both types of chromosome during the interphase, resulting in these closely similar formations.

Resumen. En núcleos de microsporas de *Allium cepa* se describen estructuras de $1\ \mu\text{m}$ de diámetro, de baja densidad y estrechamente relacionadas con varias masas

de cromatina, las que se equiparan con los denominados «micropuff» recientemente descritos.

P. ESPONDA⁵ and G. GIMÉNEZ-MARTÍN

Department of Cytology,
Institute of Cellular Biology, C.S.I.C.,
Velázquez 144, Madrid (Spain), 23 November 1970.

¹ J. G. LAFONTAINE, *J. Cell Biol.* 26, 1 (1965).

² J. G. LAFONTAINE and A. LORD, in *Handbook of Molecular Cytology* (Ed. A. LIMA-DE-FARIA; North Holland Publishing Company, Amsterdam, London 1969), p. 381.

³ W. BEERMANN, *Protoplasmatologia IV D* (Springer Verlag, Berlin 1962).

⁴ H. D. BERENDES and W. BEERMANN, in *Handbook of Molecular Cytology* (Ed. A. LIMA-DE-FARIA; North Holland Publishing Company, Amsterdam, London 1969), p. 500.

⁵ Member of the Biology Department Staff of the University of Chile (Valparaíso).

Encephalomyocarditis Viral Valvulitis in New-Born Mouse¹

Infection with the encephalomyocarditis (EMC) virus has not been demonstrated in man, although KOCH² has isolated the virus from cerebrospinal fluid, earwashings, blood and feces of 3 patients. Myocarditis^{3,4} and mural and valvular endocarditis⁵ have been produced in mice by EMC virus in this laboratory. KILHAM, MASON and DAVIES⁶ showed that the EMC virus can produce valvulitis in the mongoose.

However, EMC virus has never been demonstrated previously to lodge directly in the heart valves of infected animals. The purpose of this report is to present the finding of an EMC virus crystal in an infected fibroblast of the mitral valve of a mouse with the use of the electron microscope.

EMC virus stock was obtained from GLASGOW⁷. After 3 passages in mouse cardiac cells and 3 passages in L-cells, the cultured virus fluid was determined to have a titer of

10^{-6} TCID₅₀. Control fluid was prepared from non-infected L-cells. 14 new-born HaM/ICR mice were injected i.p. with 0.1 ml viral culture fluid and 6 new-born mice were injected with virus-free tissue culture fluid. At the end of 24 h, the tissues were excised and fixed in 5% glutaraldehyde in phosphate buffer for 3 h. After a buffer rinse of 2–3 h, the tissues were postfixed in 1% osmium tetroxide in phosphate buffer for 1.5 h. Tissues were then dehydrated in a graded series of methanol and embedded in epoxy resin. Thin sections were examined with a Siemens Elmiskop 1 electron microscope after they were stained with uranyl acetate and lead citrate.

A viral crystal was found in the valve of 1 of the 14 animals studied, and lesions in valvular fibroblasts were found in 5 animals. However, viral crystals and myocardial lesions were found in the myocardium of all 14 mice. Because the sections studied represent only a small portion of