

phosphate buffer and injected by means of fine capillary pipettes into the ventral halves of cleaving eggs, of *Rana pipiens*, *Rana fusca* and of axolotl. The operations were usually done on cleavage stages of from four to sixteen cells, and not too great a mortality ensued. Many operated eggs, however, showed abnormalities at gastrulation and had to be discarded. Several hundred eggs were operated in this way, the location and depth of penetration of the injection varying greatly. An equal number of eggs injected with phosphate buffer alone served as controls.

Only a small part of the material collected has thus far been sectioned, and our results still have a preliminary interest only. However, some of the findings have been very constant. For example, in none of the operated embryos did we find double gastrulation, as would have been the case if the ventral half of the egg had been transformed into an organizer. Furthermore, of 139 sectioned embryos, only 5 showed a secondary neural tube, and, since the neural structures were fused with the primary nervous system, it is likely that they resulted from a mechanical disturbance of gastrulation movements. Thus, as regards induction, our results have thus far been negative, but it must be remembered that negative findings in this connection do not rule out the virus hypothesis, since inactivation during isolation of the granules is by no means excluded.

However, the embryos injected with granules showed one distinct and interesting difference as compared with the controls. The cells surrounding the point of injection, which can usually be easily recognized, in most cases show a distinct increase in basophilia, as demonstrated by staining with toluidine blue. The basophilic material can be digested away with solutions of crystalline ribonuclease, and thus is presumably of ribonucleoprotein nature. These basophilic cells can be found in the ectoderm, the mesoderm or the endoderm, according to the localization and depth of injection, and are present in well localized areas, very often showing no signs of cytolysis (the latter, as shown by one of us, BRACHET¹, is also accompanied by an increase in basophilia). In several cases, when embryos which had been injected with granules were fixed in the late yolk-plug stage, they showed a very definite increase in basophilia in part of the ectoderm. There were, however, no signs of induction in these cases. Such results are of some interest, since they show that a localized synthesis of ribonucleic acid in the ectoderm is not of itself sufficient to evoke a neural induction.

On the whole, increased basophilia near the place of injection occurred in 101 cases out of 139 (72.6%), when granules from gastrulae or young neurulae had been introduced. The same phenomenon was seen only five times in 62 cases (8%) when plain phosphate buffer was injected. In these five positive cases, the basophilic cells were few in number and showed distinct signs of incipient cytolysis.

These results suggest that the injected particles are capable of inducing a local synthesis of ribonucleic acid, but whether they are self-reproducing units or whether they contain enzymes synthesizing ribonucleic acid cannot be decided on the basis of the present evidence.

J. BRACHET and J. R. SHAVER²

Laboratory of Animal Morphology, University of Brussels, and Department of Zoology, University of Pennsylvania, Philadelphia (Pa.) February 12, 1949.

Résumé

L'injection de granules provenant d'un broyage de gastrulas ou de blastulas de grenouilles dans des œufs segmentés de différentes espèces d'Amphibiens donne, dans les stades ultérieurs, un accroissement de la basophilie dans les cellules voisines de la piqure. Les rares embryons témoins, injectés avec un tampon au phosphate, qui donnent une réaction analogue sont sur le point de se cytolysier. On n'a pas noté de gastrulations doubles et les quelques tubes neuraux secondaires observés étaient sans doute dus à un traumatisme mécanique.

Beobachtungen an viruskranken Larven von *Chironomus (Camptochironomus) tentans* Fabr.

WEISER¹ hat an Larven von *Camptochironomus tentans* aus dem Drecksee bei Plön eine Infektion des Fettkörpers durch Viren beschrieben, die von kokkenartigen Organismen begleitet waren. Im Herbst 1948 machte ich an *Camptochironomus*larven von dem gleichen Fundplatz bei atmungsphysiologischen Studien, über die später berichtet werden wird, einige Beobachtungen, die im Zusammenhang mit WEISERS Untersuchungen von Interesse sind, und daher kurz wiedergegeben seien.

*Camptochironomus*larven zeigen schon aus ihrem natürlichen Medium (fauliger Schlamm mit deutlicher Sauerstoffzehrung) eingebracht, erheblich gesteigerte Erholungsatmung, die langsam beim Schütteln mit Luft im Warburg-Manometer geringere Werte anstrebt. Das am 29. November 1948 eingebrachte Tiermaterial wurde in einer Schale mit Wasser und nur Spuren von Schlamm im Laboratorium aufbewahrt. Namentlich ältere Larven zeigten verschiedentlich den kennzeichnenden weißen, undurchsichtigen Fettkörper kranker Tiere. Sie starben und zerfielen meist bald; das Wasser hatte bald «fauligen» Charakter und dementsprechend sicher nur geringen Sauerstoffgehalt. Das war mir erwünscht, da ich ja Beobachtungen an Larven in Erholungsatmung anstellen wollte. Die Folge dieser wenig pfleglichen Aufbewahrung des Materials war jedoch auch, daß bald die Mehrzahl der Larven, auch jüngere, nur etwa halb-erwachsene Tiere, deutliche Krankheitserscheinungen zeigten.

Während früher (z. T. auch später) die Erholungsatmung der Larven durchaus normalen Verlauf zeigte, ergaben einige Messungen am 8., 9. und 10. Dezember 1948 ein sehr merkwürdiges Bild der Gestaltung der Erholungsatmung: sie setzte mit normal hohem Wert ein, sank aber dann (bei halbstündigen Messungsetappen) sehr rasch zu außerordentlich niedrigen, kaum noch von lebenden Tieren zu erwartenden Werten ab. 3 Protokolle (I–III) mögen dies belegen, während die Messung IV das Verhalten nicht infizierter Tiere vom 10. Dezem-

Etappe	I	II	III	IV
1	279,9	249,5	235,4	276
2	176,7	65,6	157	258,5
3	107,7	78,7	55	233,3
4	81,5	25,21	43,2	233,3
5	45,68	–	–	241,5

¹ J. WEISER, Exper. 4, 317 (1948).

¹ J. BRACHET, C. R. Soc. biol., 140, 1123 (1946).

² Fellow of the Belgian-American Educational Foundation, 1948–9.

ber 1948 zeigt. Die gegebenen Zahlen bedeuten den Sauerstoffverbrauch in mm^3 pro 1 g Frischgewicht und eine halbe Stunde.

Die Larven der Messungen I–III waren bei Messungsende (also nach 2 bis $2\frac{1}{2}$ Stunden Schüttelns mit Luft) tot; wie mikroskopische Prüfung zeigte, war ihre Hämolymphe trüb, reich an körnigem Material und die Organe des Innern, insbesondere der Fettkörper, in Zerfall begriffen.

Zu diesen Messungen waren – entsprechend dem Plan meiner atmungsphysiologischen Untersuchungen – stets Parallelversuche unter dem Einfluß narkotischer Gifte (Äthylurethan 0,5%, auch Alkohol 9,6% oder Chloralhydrat 0,1%) durchgeführt worden. Unter dem Einfluß dieser Gifte wurden auch an kranken Tieren stets nur geringe Atmungsgrößen (70–90 mm^3 pro 1 g und eine halbe Stunde) beobachtet, die aber im Verlauf der Messung konstant blieben, eher zu leichter Vergrößerung neigten. Bei Messungsende waren die narkotisierten Larven im Gegensatz zu den in Leitungswasser gemessenen am Leben; sie erholten sich, in reines Wasser überführt, bald vollkommen und lebten wenigstens eine Woche ungeschädigt weiter.

Ebenso blieben Larven, die statt mit Luft mit einem Gasgemisch niederen Sauerstoffpartialdrucks (ca. 1%) geschüttelt wurden, bei geringer Atmungsgröße am Leben und zeigten keinerlei Zerfallserscheinungen.

Das Ergebnis der vorstehenden Beobachtung ist also, daß eine Krankheit (vorwiegend wohl Virusinfektion) der Larven von *Chironomus* (*Camptochironomus*) *tentans*, die normalerweise, d. h. beim Leben in Medien mit geringem Sauerstoffpartialdruck schleichend verläuft und (nach WEISER) erst bei der Verpuppung zum Tode führt, bei optimaler Versorgung mit Sauerstoff (schon vom Partialdruck der Luft) akut wird und in kurzer Zeit (ca. 1 Stunde) das Leben der Larve beendet.

Hieran sei noch eine ökologische Spekulation angeknüpft. *Camptochironomus tentans* ist – wenigstens in Ostholstein – eine Charakterform vergreister Seen mit stark faulendem Schlamm (z. B. Drecksee bei Plön, Tröndelsee bei Elmschenhagen). Wenn die Art mit ihrer offensichtlich starken Anfälligkeit für die beobachtete Infektion Gewässer mit wenigstens zeitweilig günstiger Sauerstoffversorgung besiedeln würde, so wäre infolge zahlreicher zerfallender Krankheitsträger die Gefahr einer Epidemie gegeben und damit der Bestand der Art im Biotop bedroht. Vielleicht ist hierin ein Grund für die ökologische Beschränkung der Art auf vergreiste Seen zu erblicken.

Vielleicht ist die beobachtete Hemmung von Viruskrankheiten durch narkotische Gifte von klinischer Bedeutung.

Ö. HARNISCH

Hydrobiologische Anstalt der Max-Planck-Gesellschaft, Plön, den 10. Januar 1949.

Summary

A virus infection of the larvæ of *Chironomus tentans* elapses slowly under normal conditions (low O_2 -partial pressure). If the partial pressure is about 21%, the infection becomes acute and kills the animals within a short time (about one hour). Narcotics (especially æthylurethan) prevents this process diminishing the oxygen consumption.

The Origin of Moss Gametophytes in Cultures without Access of Light

In the numerous experiments with moss-cultures without access of light which have been carried out up till now (SERVETTAZ, GOEBEL, UBISCH, ROBINS, PRINGSHEIM, FRIES, etc.), the mosses either did not grow at all (*Leptobryum*) or formed only protonemata. This fact led to the conclusion that for the origin of the gametophyte light is indispensable. Thus PRINGSHEIM: "Niemals kamen die Kulturen über das Protonemastadium hinaus. Zur Bildung von Moospflanzen ist Licht erforderlich; doch muß es nicht gemischtes 'weißes' Licht sein, es genügt rotes."

When we prevent light from reaching whole already developed moss plants of some species, these continue to grow strongly etiolized for some time (NĚMEC). But in the species with which experiments were made, gametophytes did not develop from the protonemata, either in cultures with glucose or with other organic substances.

I arrived at very different results in my experiments with the species *Splachnum sphaericum* L. fil., *Splachnum ampullaceum* L., and *Trematodon ambiguus* HORNSCH. On mineral media with saccharose (2%) in the dark gametophytes formed very abundantly. For the cultures I used either agar media or a solution in which the mosses grew submerged. In both cases gametophytes were formed. On agar media first the protonemata grew, and gradually the gametophytes formed on them. The cauloids were of normal thickness, but the phylloids were squamous and farther apart from each other than in normal plants. Chlorophyll was lacking in most cases. But in *Splachnum ampullaceum* L. on an agar medium the plants grew normally green. The protonemata were without chlorophyll, in some cases they turned brown after a longer time.

From the experiments with a greater number of species (about 100), which are now being carried out in the Institute for Plant Physiology under the direction of Prof. Dr. S. PRÁT (V. KLĚČKOVÁ: Assimilation of organic nitrogen; J. VOŘÍPKOVÁ: Cultivation of mosses on media with different sugars), one may infer that for the origin of the gametophytes suitable nutritive substances are primarily necessary.

This work has been accomplished with the assistance of the Czechoslovak Research Council.

M. KEIL

Institute for Plant Physiology of the Charles University, January 10, 1949.

Zusammenfassung

Die bisherigen Untersuchungen über Wachstum der Moose in Dunkelkulturen ergaben, daß die Moose ohne Lichtzutritt nur Protonema zu bilden fähig sind. Neue Versuche, über die berichtet wird, mit der Kultur der Moose, *Splachnum sphaericum* L. fil., *Splachnum ampullaceum* L. und *Trematodon ambiguus* HORNSCH, hatten ein entgegengesetztes Resultat. Die genannten Moose bildeten in Dunkelkulturen auf festem Agarnährboden wie auch in flüssigem Medium mit Saccharosezusatz Gametophyten. Die unter diesen Bedingungen gebildeten Gametophyten waren chlorophyllfrei und die Phylloide waren schuppenförmig. Aus diesen und anderen jetzt durchgeführten Versuchen ist zu schliessen, daß nicht das Licht, sondern die Nährstoffart und der Nährstoffvorrat für die Gametophytenentstehung bestimmend ist.