

WPLYW WIROWANIA JAJ *FASCIOLA HEPATICA* L.  
NA ROZWÓJ I WYLĄG MIRACIDIÓW

STANISŁAW BEDNARZ i TERESA ŁUCKA

Zakład Systematyki Zwierząt i Zoogeografii  
Instytutu Zoologicznego Uniwersytetu Wrocławskiego, Wrocław

Działanie siły odśrodkowej na komórkę jajową w najprostszym przypadku może zmienić postać jaja w wyniku jego ściskania, co nie wpływa zbyt ujemnie na bruzdkowanie, a może jedynie zmniejszyć rozmiary określonych stref jaja. Ponadto może spowodować przemieszczenie części składowych komórki jajowej, a łączne oddziaływanie sił odśrodkowej i ciężkości może obniżyć gęstość ooplazmy. Na przykład gęstość cytoplazmy w jajach *Amphibia* jest tak mała, że cięższe substancje mogą się przemieszczać już pod działaniem siły ciężkości (Born, 1884, cyt. według Schleipa, 1929). Pod wpływem siły odśrodkowej przemieszczeniu ulegają substancje deutoplazmatyczne, a z nimi również zarodek. Po przerwaniu wirowania zmieniony kształt jaja i zaburzona organizacja wewnętrzna ooplazmy mogą niekiedy powrócić do pierwotnego stanu.

Wskutek wirowania może też dojść do zlania się dwóch lub więcej jaj w jeden większy twór, jednak przypadki takie, jak wynika z dostępnej nam literatury, są bardzo rzadkie.

Badania nad przemieszczeniem części składowych jaja czy też formującego się zarodka w czasie wirowania były prowadzone przez Pfügera (1884) i Hertwiga (1897) u płazów, przez Driescha (1892) u jeżowców, Chuna (1896) i Fischera (1897) u *Ctenophora*, przez Villego (1906) u *Polychaeta* i Hogue (1910) u *Nematoda* (cyt. według Schleipa).

Zywe komórki, np. jaja jeżowców, ameby i in., można poddać wirowaniu w roztworze sacharozy (0,95 M), powodując rozdzielanie elementów składowych według ich gęstości. Wirowanie przy 10 000 g ( $g$  — przyspieszenie siły ciężkości) w czasie kilku minut prowadzi do rozdzielania organoidów komórki i ostatecznie do jej rozerwania. W przy-

padku jaj jeżowców, od centrum działania siły odśrodkowej w kolejności układają się: tłuszcz, jądro, warstwa cytoplazmy, mitochondria, a potem żółtko i pigment. Stosując ultra- i mikrochemiczne metody, a także specjalne utrwalanie i barwniki histochemiczne, można śledzić w komórce skład chemiczny tych poszczególnych frakcji (Żinkin i Rumiancew, 1965).

Zagadnieniem rozwoju *Fasciola hepatica* L. zajmowali się m.in. Rowan (1956, 1957), Skworcow et al. (1936), Siergiejew (1964), Gold i Goldberg (1976) i in., a jedyną pracę na temat wpływu wirowania jaj na wyleganie się przywry *Schistosoma mansoni* ogłosili Holliman et al. (1972).

### Material i metody

Jaja *F. hepatica* L. pobieraliśmy od zarażonego bydła w Rzeźni Miejskiej we Wrocławiu. W sumie wyosobniliśmy z woreczków żółciowych metodą dekantacji około 60 tys. jaj. Hodowlę prowadziliśmy w szalkach Petriego o promieniu 35 mm. Podczas hodowli temperatura otoczenia ulegała minimalnym wahaniom, co jednak mogło mieć wpływ na tempo różnicowania zarodka. Jeżeli rozwój przebiegał szybciej, obserwacji dokonywaliśmy częściej, co 2 lub 4 dni. Najdłuższa przerwa (6-7 dni) dzieliła pierwszą obserwację od momentu założenia hodowli. Początkowo śledzenie komórek zarodka jest łatwiejsze, ponieważ są one jaśniejsze od żółtka (Liévre, 1932). Utrudnienie w obserwowaniu rozwoju zarodkowego stwarzają komórki żółtkowe otaczające ze wszystkich stron formujący się zarodek (miracidium) i wypełnione ziarnistościami. Komórki te, w miarę wzrostu embrionu i zużytkowania substancji odżywczych, stopniowo tracą ziarnistości, rozjaśniają się, embrion staje się wyraźnie widoczny i śledzenie dalszego różnicowania jest znacznie prostsze.

Równoległe z obserwacjami mikroskopowymi dokonywaliśmy pomiarów temperatury oraz pH. Temperatura otoczenia ulegała nieznacznym wahaniom, a jej średnia wynosiła 22°C. W hodowli I, założonej 6 II 1973 r., wahała się ona w zakresie 21-24°C, w hodowli II, założonej 22 III 1973 r. — w zakresie 19-24°C. Do hodowli używaliśmy wody wodociągowej, której pH, w obu seriach doświadczenia, zmieniało się w granicach 6,8-7,6.

Wyzolowane jaja motylicy wątrobowej rozdzieliliśmy do 7 szalek (prób). Zawartości te poddaliśmy jednorazowemu wirowaniu. Szalki (próby) znaczyliśmy według ilości obrotów wirówki i czasu wirowania, np. 1300<sub>5</sub> — cyfra 5 oznacza czas wirowania w minutach, a 1300 —

ilość obrotów na minutę. Szalki dopełnialiśmy wodą wodociągową do objętości około 50 ml o  $\text{pH} = 7,0$ . Dla zapobieżenia wyparowywania wody, przykrywaliśmy je płytką szklaną. Próby kontrolną i eksperymentalne umieszczaliśmy w laboratorium w możliwie identycznych warunkach. Doświadczenie przeprowadzono w dwu etapach: w pierwszym — czas wirowania prób eksperymentalnych wynosił 5 min przy 1300, 2100 i 2500 obr./min. w drugim zaś 15 min przy tych samych obrotach.

Ze wzoru na siłę odśrodkową (Żinkin, Rumiancew)

$$G = \frac{4\pi^2 n^2 r}{g}$$

( $G$  — siła odśrodkowa,  $n$  — ilość obrotów na sekundę,  $r$  — promień obrotu,  $g$  — przyspieszenie siły ciężkości) obliczyliśmy zastosowane w doświadczeniu siły odśrodkowe. Wynosiły one kolejno przy ilości obr./min: 1300 — 22399  $G$ , 2100 — 58653  $G$ , 2500 — 82734  $G$ .

Do badań mikroskopowych pobieraliśmy pipetą porcje jaj z poszczególnych prób i obliczaliśmy udział procentowy wytypowanych grup jaj (tab. 1 i 2). W każdej porcji znajdowało się około 200 jaj.

#### WYNIKI

Wpływ siły odśrodkowej działającej w czasie 5 min na rozwój jaj znajdujących się w spoczynku i wyląg miracidów *F. hepatica* przedstawia tabela 1. W chwili założenia hodowli I jaja znajdowały się w stadium spoczynkowym. W miarę upływu czasu, ilość jaj spoczynkowych malała na konto jaj rozwijających się. Początkowo w jajach wirowanych zarodki rozwijały się wolniej aniżeli w jajach kontrolnych. Szóstego dnia liczba jaj spoczynkowych w próbie kontrolnej była najmniejsza (17,3%), a w próbach wirowanych — znacznie wyższa (tab. 1). Stąd też najszybciej rozpoczynały swój rozwój jaja niewirowane i 6 dnia było ich w próbie kontrolnej 82,7%, a w próbach 1300<sub>5</sub> — 59,7%, 2100<sub>5</sub> — 74,3% i w 2500<sub>5</sub> — 66,9%. W ósmym dniu hodowli różnice w rozwoju jaj wirowanych i nie wirowanych zacierały się (próba kontrolna zawierała 90,8% jaj rozwijających się, 1300<sub>5</sub> — 70,3%, 2100<sub>5</sub> — 91,3%, 2500<sub>5</sub> — 93,5%). Pojawienie się plamki ocznej, świadczące o kształtowaniu się miracidium, zaobserwowaliśmy 10 dnia w jajach wirowanych i dopiero 14 dnia w próbie kontrolnej (próba 1300<sub>5</sub> wykazała 4% miracidów z plamką oczną, 2100<sub>5</sub> — 3,2%, a najliczniej wystąpiły one w próbie 2500<sub>5</sub> — 23,4%). Największą liczbę miracidów z plamkami ocznymi można było zauważyć we wszystkich próbach wirowanych i kontrolnej już 14 dnia (tab. 1) i w tym też dniu nastąpiło we wszystkich próbach

TABELA 1

Wyniki obserwacji rozwoju jaj *Fasciola hepatica* poddanych jednorazowemu 5-minutowemu wirowaniu w pierwszym dniu hodowli laboratoryjnej. Hodowla I (od 7 II do 9 III 1973)

TABLE 1

Results of observation of *Fasciola hepatica* eggs development after single centrifugation per 5-minutes in first day of laboratory cultivation. Experiment I (from 7 II to 9 III 1973)

Dzień obserwacji (od założenia hodowli laboratoryjnej) 1-31	Rodzaj próby* Kind of sample*	Liczba (%) jaj lub zarodków — Eggs viz. embryos' number (%)						łączna liczba jaj (+ zarodków) w próbie eggs (+ embryos) number (100%) in sample (total)
		spoczynkowych actually non developing	we wczesnych stadiach rozwoju in early develop- ment stage	z wykształco- nym zarodkiem with developed embryo	miracidia	puste skorupki jajowe empty eggs shell		
6	K	40 (17,3)	191 (82,7)	—	—	—	—	231
	a	94 (40,3)	139 (59,7)	—	—	—	—	233
	b	54 (25,7)	156 (74,3)	—	—	—	—	210
	c	73 (33,1)	147 (66,9)	—	—	—	—	220
8	K	21 (9,2)	205 (90,8)	—	—	—	—	226
	a	70 (29,7)	165 (70,3)	—	—	—	—	235
	b	19 (8,7)	197 (91,3)	—	—	—	—	216
	c	13 (6,5)	187 (93,5)	—	—	—	—	200
10	K	17 (7,3)	115 (50,0)	98 (42,7)	—	—	—	230
	a	16 (7,2)	132 (60,0)	63 (28,8)	9 (4,0)	—	—	220
	b	4 (1,8)	21 (9,6)	186 (85,4)	7 (3,2)	—	—	218
	c	18 (7,8)	12 (5,2)	146 (63,6)	54 (23,4)	—	—	230
14	K	6 (2,6)	18 (8,0)	25 (11,1)	175 (77,9)	1 (0,4)	—	225
	a	3 (1,4)	27 (12,6)	26 (12,3)	148 (70,4)	7 (3,3)	—	211
	b	2 (0,8)	21 (8,4)	43 (17,2)	144 (73,2)	1 (0,4)	—	211
	c	8 (3,2)	6 (2,4)	3 (1,2)	198 (91,2)	5 (2,0)	—	220

16	K	—	11 (4,8)	8 (3,5)	146 (64,9)	61 (26,8)	226
	a	3 (1,3)	12 (5,2)	22 (9,5)	161 (69,2)	33 (14,2)	231
	b	—	8 (3,9)	14 (6,9)	158 (77,4)	24 (11,8)	204
	c	—	11 (5,4)	—	142 (69,2)	52 (25,4)	205
20	K	—	4 (1,8)	2 (0,9)	43 (19,3)	181 (78,0)	230
	a	2 (0,8)	13 (5,5)	14 (6,4)	109 (46,6)	95 (40,7)	233
	b	—	6 (2,9)	5 (2,4)	109 (52,4)	88 (42,3)	208
	c	—	4 (2,0)	1 (0,5)	27 (13,5)	169 (84,0)	201
25	K	—	5 (2,2)	—	8 (3,7)	210 (94,1)	223
	a	—	4 (1,9)	2 (1,0)	59 (28,9)	145 (68,2)	210
	b	—	7 (3,6)	1 (0,6)	37 (18,6)	154 (77,2)	199
	c	—	2 (1,1)	—	19 (9,6)	178 (89,3)	199
28	K	—	2 (0,9)	—	6 (2,7)	219 (96,4)	227
	a	—	—	5 (2,3)	26 (12,0)	186 (85,7)	217
	b	—	—	4 (1,9)	42 (20,0)	164 (78,1)	210
	c	—	—	2 (1,0)	23 (11,2)	182 (87,8)	207
31	K	—	—	—	1 (0,4)	223 (99,6)	224
	a	—	—	—	—	199 (100,0)	199
	b	—	—	—	2 (0,9)	209 (99,1)	211
	c	—	—	—	2 (0,9)	217 (99,1)	219

\* K — jaja kontrolne — nie wirowane — control eggs — non centrifugated;

a — jaja wirowane — eggs centrifugated: a — 1300 obr./min — r.p.m.

b — 2100 obr./min — r.p.m.

c — 2500 obr./min — r.p.m.

wylęganie miracidiów. W dniu tym najwięcej, bo 3,3% miracidiów, wykluło się w próbie 1300<sub>5</sub>, natomiast w 2500<sub>5</sub> — 2%, a w próbie kontrolnej i 2100<sub>5</sub> po 0,4%. Rozwój i wylęganie miracidiów obserwowaliśmy w próbach jeszcze przez 18 dni od pojawienia się pierwszych pustych skorupiek jajowych.

Wpływ siły odśrodkowej działającej w czasie 15 min na rozwój jaj i wylęganie miracidiów *F. hepatica* przedstawia tabela 2. Z danych w tej tabeli wynika, że wyraźnie szybciej kształtowały się zarodki w jajach wirowanych. W próbie kontrolnej ilość zarodków bez plamki ocznej osiągnęła maksimum 10 dnia, tj. 42,7%, gdy w pozostałych próbach 1300<sub>15</sub> — 75,7%, 2500<sub>15</sub> — 71,3%, a najniższy w próbie 2100<sub>15</sub> — 43,2%.

W jajach wirowanych plamki oczne pojawiły się tu również 10 dnia, w próbie kontrolnej o jeden dzień później, a więc podobnie jak w poprzednim doświadczeniu przy 5-min wirowaniu. Wyląg miracidiów miał miejsce tylko 14 dnia w próbach kontrolnej i 1300<sub>15</sub>, zaś w 2100<sub>15</sub> i 2500<sub>15</sub> wyklucie rozpoczęło się w 16 dniu. Od 25 do 28 dnia w próbie 2500<sub>15</sub> z nieznanymi przyczyn wszystkie nie wylęgnięte miracidia obumarły. W pozostałych próbach nieznaczna tylko część miracidiów była normalnie rozwinięta, ale ułożenie ich ciała w skorupce było nieprawidłowe — jedno leżało poziomo (ryc. 1), inne ukośnie (ryc. 2) lub ciało ich było zgięte pod kątem 90°, jeszcze inne odwrócone były w skorupce o 180° (tylną częścią ciała na biegunie operkularnym) (ryc. 3). Przypadki takiego odwrócenia miracidium w skorupce jajowej obserwował Bednarz (1969). Interesujące jest też, że wylęganie tych miracidiów przebiegało nieprawidłowo i tylko niektóre z nich się nie wylęły.

W przebiegu hodowli I przy 5-min działaniu siły odśrodkowej wyróżniliśmy kilka grup jaj *F. hepatica*:

1. jaja nie wykazujące rozwoju embrionalnego — spoczynkowe. Do grupy tej zaliczyliśmy też jaja o skorupce ciemniejszej niż normalnie obserwowana w jajach, z których też rozwijały się miracidia;
2. jaja z zaznaczonym tylko rozwojem embrionalnym;
3. jaja z wyraźnie kształtującym się zarodkiem;
4. jaja z kompletnie ukształtowanym miracidium;
  - (a) jaja z miracidium niezdolnym do wyklucia (bez czopa hyalinowego pod operculum),
  - (b) jaja z miracidium zdolnym do wyklucia (z czopem hyalinowym pod operculum);
5. puste skorupki jajowe po wylętych miracidiach.

W przebiegu hodowli I, przy działaniu siły odśrodkowej przez 15 min na jaja spoczynkowe (tab. 2), najliczniej wystąpiły jaja z zaznaczonym rozwojem embrionalnym 8 dnia; w próbie kontrolnej — 90,8%, w próbach wirowanych 1300<sub>15</sub> — 88,2%; 2100<sub>15</sub> — 58,5%; 2500<sub>15</sub> — 85%.

TABELA 2

Wyniki obserwacji rozwoju jaj *Fasciola hepatica* poddanych jednorazowemu 15-minutowemu wirowaniu w pierwszym dniu hodowli laboratoryjnej. Hodowla I (od 7 II do 9 III 1973)

TABLE 2

Results of observation of *Fasciola hepatica* eggs development after single centrifugation per 15-minutes in first day of laboratory cultivation. Experiment I (from 7 II to 9 III 1973)

Dzień obserwacji (od założenia hodowli laboratoryjnej) 1-31 Day of observation (laboratory cultivation) 1-31	Rodzaj prób* Kind of sample*	Liczba (%) jaj lub zarodków — Eggs viz. embryos' number (%)						łącna liczba (100%) jaj (+za- rodków) jaj (+ za- rodków) (+ embryos) eggs (+ embryos) number (100%) in sample (total)
		spoczynkowych actually non developing	we wczesnych stadiach rozwoju in early develop- ment stage	z wykształconym zarodkiem with developed embryo	miracidia	puszte skorupki jajowe empty eggs shell		
6	K	40 (17,3)	191 (82,7)	—	—	—	—	231
	a	59 (28,7)	146 (71,3)	—	—	—	—	205
	b	116 (50,4)	114 (49,6)	—	—	—	—	230
8	c	103 (47,8)	112 (52,2)	—	—	—	—	215
	K	21 (9,2)	205 (90,8)	—	—	—	—	226
	a	25 (11,8)	186 (88,2)	—	—	—	—	211
10	b	83 (41,5)	108 (58,5)	—	—	—	—	191
	c	36 (15,0)	203 (85,0)	—	—	—	—	239
	K	17 (7,3)	115 (50,0)	98 (42,7)	—	—	—	230
14	a	7 (3,4)	36 (17,5)	155 (75,7)	7 (3,4)	—	—	205
	b	17 (8,4)	96 (47,9)	87 (43,2)	1 (0,5)	—	—	201
	c	7 (3,3)	53 (25,2)	149 (71,3)	1 (0,2)	—	—	210
14	K	6 (2,6)	18 (8,0)	25 (11,1)	175 (77,9)	1 (0,4)	—	225
	a	2 (1,0)	11 (5,5)	3 (1,5)	183 (91,5)	1 (0,5)	—	200
	b	9 (4,0)	36 (16,0)	61 (27,0)	119 (53,0)	—	—	225
c	9 (4,1)	18 (8,3)	17 (8,0)	171 (79,6)	—	—	215	

16	K	—	11 (4,8)	8 (3,5)	146 (64,9)	61 (26,8)	226
	a	2 (0,9)	10 (4,5)	1 (0,5)	176 (80,1)	30 (14,0)	219
	b	6 (3,0)	15 (7,1)	49 (22,9)	138 (64,2)	6 (2,8)	214
	c	2 (0,9)	14 (6,9)	—	178 (87,2)	10 (5,0)	204
20	K	—	4 (1,8)	2 (0,9)	43 (19,3)	181 (78,0)	230
	a	—	5 (2,0)	—	91 (38,0)	143 (60,0)	239
	b	—	6 (2,7)	31 (13,8)	149 (66,2)	39 (17,3)	225
	c	1 (0,5)	12 (6,1)	3 (1,5)	146 (74,5)	34 (17,4)	196
25	K	—	5 (2,2)	—	8 (3,6)	210 (94,2)	223
	a	—	3 (1,5)	1 (0,5)	27 (13,5)	169 (84,5)	200
	b	—	6 (2,8)	13 (6,0)	143 (66,5)	53 (24,7)	215
	c	—	—	8 (3,8)	127 (60,2)	76 (36,0)	211
28	K	—	2 (0,9)	—	6 (2,7)	219 (96,4)	227
	a	—	—	2 (0,9)	19 (8,9)	194 (90,2)	215
	b	—	—	4 (1,8)	97 (43,7)	121 (54,5)	222
	c	—	—	—	—	—	—
31	K	—	—	—	1 (0,4)	223 (99,6)	224
	a	—	—	—	—	226 (100,0)	226
	b	—	—	—	5 (2,4)	207 (97,6)	212
	c	—	—	—	—	—	—
32	K	—	—	—	1 (0,4)	210 (99,6)	211
	a	—	—	—	—	216 (100,0)	216
	b	—	—	—	—	202 (100,0)	202
	c	—	—	—	—	—	—

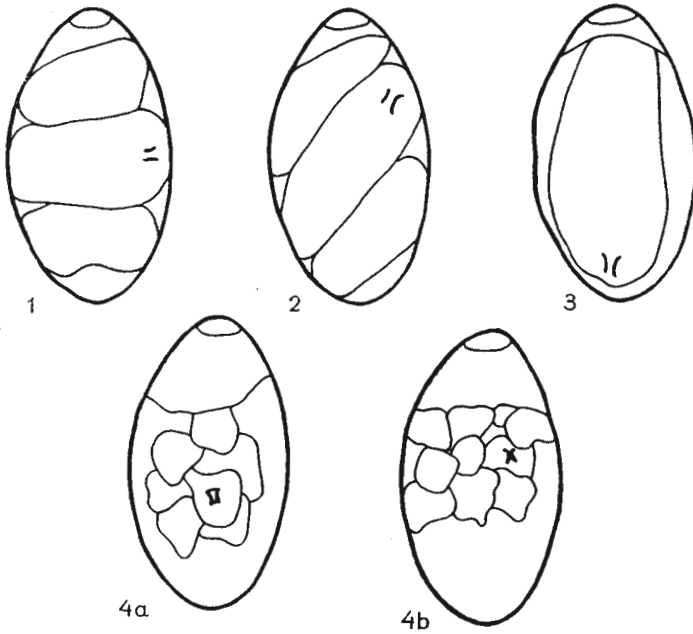
\* K — jaja kontrolne — nie wirowane — control eggs — non centrifugated;

jaja wirowane — eggs centrifugated: a — 1300 obr./min — r.p.m.

b — 2100 obr./min — r.p.m.

c — 2500 obr./min — r.p.m.





Ryc. 1. Miracidium *F. hepatica* ułożone poziomo w skorupce jajowej

Fig. 1. Miracidium *F. hepatica* placed horizontally in egg shell

Ryc. 2. Miracidium *F. hepatica* ułożone skośnie w skorupce jajowej

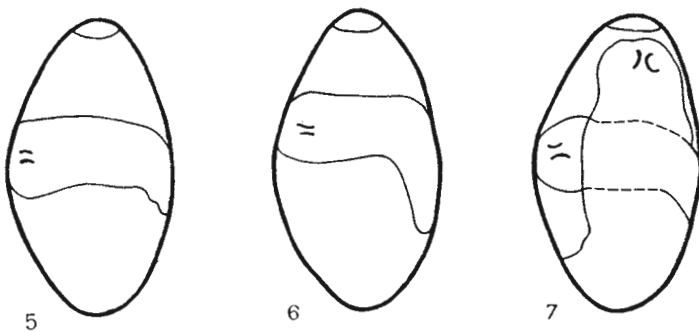
Fig. 2. Miracidium *F. hepatica* placed slantingly in egg shell

Ryc. 3. Miracidium *F. hepatica* odwrócone o 180° w skorupce jajowej

Fig. 3. Miracidium *F. hepatica* turned in egg shell in 180°

Ryc. 4a, b. Bezkształtne zarodki miracidium *F. hepatica* z utworzoną już plamką oczną

Fig. 4a, b. Shapeless embryos of miracidium *F. hepatica* with eye spot already formed



Ryc. 5. Miracidium *F. hepatica* ułożone poziomo w skorupce jajowej

Fig. 5. Miracidium *F. hepatica* placed horizontally in egg shell

Ryc. 6. Miracidium *F. hepatica* ułożone częściowo poziomo w skorupce jajowej

Fig. 6. Miracidium *F. hepatica* placed partially horizontal in egg shell

Ryc. 7. Bliźniacze zarodki *F. hepatica*

Fig. 7. Twin embryos of *F. hepatica*

Natomiast wyraźnie szybciej kształtowały się zarodki w jajach wirowanych w 10 dniu; w próbach 1300<sub>15</sub> — 75,7<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, 2500<sub>15</sub> — 71,3<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, zaś w próbie 2100<sub>15</sub> — 43,2<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, gdy w próbie kontrolnej ilość zarodków bez plamki ocznej osiągnęła maksymalnie 42,7<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

W przebiegu hodowli II, założonej 22 III 1973 r., przy działaniu siły odśrodkowej w czasie 5 min na jaja znajdujące się na różnych etapach rozwoju embrionalnego, uzyskaliśmy interesujące wyniki (tab. 3). Do eksperymentu wzięliśmy około 100 tys. jaj *F. hepatica*, które rozdzieliliśmy do 16 szalek Petriego napełnionych wodą wodociągową. W czasie hodowli temperatura otoczenia wahała się w granicach 19-24°C (średnia 21,5°C), a stężenie jonów wodorowych wody zmieniało się w zakresie 6,8-7,6. Próby oznakowaliśmy, w odróżnieniu od hodowli I, od I do XVI, przy czym I stanowiła próbę kontrolną.

W pierwszym dniu hodowli poddaliśmy wirowaniu próby II/1300<sub>5</sub>, III/2100<sub>5</sub> i IV/2500<sub>5</sub>, w drugim dniu po założeniu hodowli — V/1300<sub>5</sub>, VI/2100<sub>5</sub> i VII/2500<sub>5</sub>, w trzecim — VIII/1300<sub>5</sub>, IX/2100<sub>5</sub> i X/2500<sub>5</sub>, w czwartym — XI/1300<sub>5</sub>, XII/2100<sub>5</sub> i XIII/2500<sub>5</sub>, w piątym dniu — XIV/1300<sub>5</sub>, XV/2100<sub>5</sub> i XVI/2500<sub>5</sub> (wszystkie w dniach od 22 do 27 III 1973 r.).

Wirowanie spowodowało wystąpienie 4 rodzajów anomalii dotyczących rozwoju i położenia zarodków miracidium w skorupkach jajowych (tab. 3):

TABELA 3

Nieprawidłowość w budowie i ułożeniu zarodków *F. hepatica* wynikiem na skutek wirowania

TABLE 3

Abnormalities in embryos structure and place of *F. hepatica* as the result of centrifugation

Dzień hodowli Day culture	Próba Sample	Liczba zrodków odwróconych o 180° Number of embryos inverted 180°	Liczba zarodków odwróconych o 90° Number of embryos inverted 90°	Liczba zarodków bezkształtnych z plamką oczną Number of shapeless embryos with eye spot	Dwa zarodki bliźniacze Two twin embryos
12	XV	1			
14	XIV			1	
	XV			1	
	XIII	2			
19	X	2	2		
	II		1		
21	XIV		3		
	III		4	1	1
28	III	1		2	
	VI		5		
	II			2	

1. miracidia bezkształtne z aparatem rzęskowym lub bez niego, ale z widoczną plamką oczną (ryc. 4a, b);

2. miracidia odwrócone w skorupce o  $180^\circ$  (ryc. 3) (pod operculum czop hyalinowy) wykonujące przez kilka godzin intensywne ruchy (skurcze i rozkurcze), które ułatwiały im wyląg;

3. miracidia ułożone dokładnie poprzecznie (ryc. 5) lub w  $3/4$  długości ciała (ryc. 6); miracidia te mimo nieprawidłowego ułożenia (kurcząc się i rozkurczając) przyjmowały pozycję normalną i wylęgały się;

4. miracidia bliźniacze w jednej skorupce (ryc. 7); dwa normalnie rozwinięte miracidia z plamkami ocznymi były ułożone w stosunku do siebie prostopadle, przy czym osobnik położony prawidłowo, przytykający przednią częścią ciała do operculum, wykonywał intensywne skurcze i po otwarciu wieczka opuścił skorupkę, natomiast poprzecznie ułożony nie wykonywał żadnych ruchów i nie wylęgał się.

#### WNIOSKI

1. Nieprawidłowości w rozwoju miracidium ujawniają się stosunkowo późno, bo dopiero 12 dnia (najliczniej między 14 a 19 dniem) od założenia hodowli.

2. Najwięcej przypadków anomalii u rozwijających się miracidów wywołuje wirowanie jaj po 1, 2, 4 i 5 dniu od założenia hodowli, a więc w początkowym okresie rozwoju embrionalnego.

3. Nie obserwowano nieprawidłowości rozwojowych w jajach poddanych wirowaniu 3 dnia od założenia hodowli z szybkością 1300 obr./min (próba VIII) i 2100 obr./min (próba IX).

Otrzymano: 15 I 1979

Adres autorów:

50-335 Wrocław, Sienkiewicza 21

#### LITERATURA

1. Bednarz, S.: Z rozwoju i wylęgania miracidium *Fasciola hepatica* L. — *Opol. Tow. Przyj. Nauk, Zesz. Przyr.*, 9, 57-65, 1969.
2. Gold, D., Goldberg, M.: Effect light and temperature on hatching in *Fasciola hepatica* (Trematoda: Fasciolidae). — *Israel J. Zool.*, 25, 178-185, 1976.
3. Holliman, R. B., Wasserman, B. M., Davis, W. R.: Studies on cen-

- trifugation and hatching of *Schistosoma mansoni* eggs. — *Am. Midl. Nat. Univ. Notre Dam, Indiana*, 87, 251-253, 1972.
4. Lièvre H.: Quelques considération sur l'Embryogénèse de *Fasciola hepatica*. — *Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord*, 9, 288-301, 1932.
  5. Rowan, W. B.: The made of hatching of the egg of *Fasciola hepatica*. — *Expl Parasit.*, 5, 118-137, 1956.
  6. Rowan, W. B.: The made of hatching of the egg of *Fasciola hepatica*. — *Expl Parasit.*, 6, 131-142, 1957.
  7. Schleip, W.: Die determination der primitiventwicklung. — Akad. Verlagsgesellschaft M.B.H. Leipzig 1929.
  8. Siergiejew, P. G.: Nabliudienija za wylupliwanijem miracidiew iz jajc schistosomy. — *Med. parazitol. i parazitarnyje bolezni*. Izdat. „Medycyna”, 6, Moskwa 1964.
  9. Skworcow, A. A., Smirnowa, V. D., Sizjakowa, E. N.: Isliedowanija po morfologii i biologii jajca i po ciklu razwitija *Fasciola hepatica*. — *Med. parazitol. i parazitarnyje bolezni*. Gosudar. Izdat. Biol. Lit. Moskwa, 5, 257-274, 1936.
  10. Zinkin, L. N., Rumiancew, P. P.: Rukowodstwo po citologii. I. — Izdat. „Nauka”, Moskwa - Leningrad 1965.

THE EFFECT OF CENTRIFUGATION OF *FASCIOLA HEPATICA* L. EGGS ON  
THE DEVELOPMENT AND INCUBATION OF MIRACIDIA

by

S. BEDNARZ and T. ŁUCKA

In the experiments the authors applied centrifugation with 1300, 2100 and 2500 r.p.m. during 5 and 15 minutes to eggs in state of repose (undeveloping) and to those at different stages of their embryonal development.

The tests proved the centrifugal force to bring about following perturbations in the embryonal development: 1. underdevelopment of embryos, 2. various abnormal positions of embryos in egg shell, 3. polyembryony (one case), 4. frequent hatching inability of miracidia.

Most cases of anomaly in developing miracidia were observed in eggs put to centrifugation one, two, four and five days after starting the culture, i.e. in the initial period of their embryonal development. In the eggs put to centrifugation with 1300 and 2100 r.p.m. three days after starting the culture (specimens VIII and IX) no anomalies were observed in the development of miracidia.